

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291796 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.11.25

(22) Дата подачи заявки
2020.12.11

(51) Int. Cl. A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА К MerTK И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/947,855; 63/016,821; 63/121,773

(32) 2019.12.13; 2020.04.28; 2020.12.04

(33) US

(86) PCT/US2020/064640

(87) WO 2021/119508 2021.06.17

(71) Заявитель:
АЛЕКТОР ЭЛЭЛСИ (US)

(72) Изобретатель:

Ли Сеунг-Джоо, Лианг Спенсер, Йе
Энджи, Роелл Марина, Розенталь
Арнон (US)

(74) Представитель:

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

(57) Изобретение в целом относится к композициям, которые включают антитела, например моноклональные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связываются с полипептидом MerTK, например MerTK млекопитающего или MerTK человека, и применению таких композиций для лечения нуждающегося в этом индивида.

A1

202291796

202291796

A1

АНТИТЕЛА К MERTK И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/947855, поданной 13 декабря 2019 г., предварительной заявке США № 63/016821, поданной 28 апреля 2020 г., и предварительной заявке США № 63/121773, поданной 4 декабря 2020 г., каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки.

ПОДАЧА ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

[0002] Содержание поданного в текстовом файле ASCII полностью включено в данный документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (имя файла: 4503_010PC03_SeqListing_ST25.TXT, дата записи: 11 декабря 2020 г., размер: 477412 байт).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Настоящее изобретение относится к антителам к MerTK и применениям (например, применениям в терапевтических целях) таких антител.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Тирозинкиназа Mer (MerTK) принадлежит к семейству рецепторных тирозинкиназ TAM (Tуго3, Axl, и MerTK). MerTK представляет собой однопроходный трансмембранный белок типа I с внеклеточным доменом, имеющим два иммуноглобулин (Ig) подобных мотива и два мотива фибронектина (FN) типа III (Graham et al, 2014, Nat Rev Cancer, 14:769-785; Rothlin et al, 2015, Annu Rev Immunol, 33:355-391).

[0005] Было идентифицировано несколько лигандов MerTK, включая белок S (ProS или ProS1), ген остановки роста-6 (Gas6), Tubby, Tubby-подобный белок 1 (TULP-1) и галектин-3. MerTK трансдуцирует сигналы из внеклеточного пространства путем активации после связывания лиганда, что приводит к аутофосфорилированию тирозина MerTK (Cummings et al, 2013, Clin Cancer Res, 19:5275-5280; Verma et al, 2011, Mol Cancer Ther, 10:1763-1773) и последующую ассоциированную с ERK и АКТ сигнальную трансдукцию.

[0006] MerTK регулирует различные физиологические процессы, включая выживаемость, миграцию и дифференцировку клеток. Лиганды MerTK ProS и Gas6 вносят вклад в несколько онкогенных процессов, таких как выживаемость клеток, инвазия, миграция, химиорезистентность и метастазирование, при которых их экспрессия часто коррелирует с плохими клиническими исходами. Кроме того, MerTK связан с многочисленными злокачественными новообразованиями, а дефицит MerTK или ProS связан с противоопухолевыми эффектами (Cook et al, 2013, J Clin Invest, 123:3231-3242; Ubil et al, 2018, J Clin Invest, 128:2356-2369; Huey et al, 2016, Cancers, 8:101). Однако MerTK также экспрессируется на клетках пигментного эпителия сетчатки и играет критическую роль в очистке внешнего сегмента фоторецептора в глазу; мутации с потерей функции в MerTK приводят к пигментному ретиниту и другим дистрофиям сетчатки (см., например, Al-kharsan et al, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2017, 255:1613-1619; Lorach et al, Nature Scientific Reports, 2018, 8:11312; Audo et al, Human Mutation, Wiley, 2018, 39:997-913; LaVail et al, Adv Exp Med Biol, 2016, 854:487-493).

[0007] MerTK играет важную роль в фагоцитозе апоптотических клеток (эффероцитозе) фагоцитами, что приводит к M2-подобной поляризации макрофагов, выработке противовоспалительных цитокинов и созданию иммуносупрессивного микроокружения опухоли. Уменьшение эффероцитоза фагоцитами увеличивает M1-подобную поляризацию макрофагов, что приводит к выработке провоспалительных цитокинов и иммуноактивной среды. Модулирование эффероцитоза может обеспечить эффективное

средство достижения противоопухолевой активности.

[0008] Антитела к MerTK ранее были описаны, например, в публикациях международных патентных заявок №№: WO2020/214995, WO2020/076799, WO2020/106461, WO2020/176497, WO2019/084307, WO2019/005756, WO2016/106221, WO2016/001830, WO2009/062112, и WO2006/058202; и, например, в Dayoub and Brekken, 2020, Cell Communications and Signaling, 18:29; Zhou et al, 2020, Immunity, 52:1-17; Kedage et al, 2020, MABS, 12:e1685832; Cummings et al, 2014, Oncotarget, 5:10434-10445.

[0009] Существует потребность в новых терапевтических антителах к MerTK, которые эффективны при лечении таких патологических состояний, как злокачественное новообразование. Настоящее изобретение удовлетворяет эту потребность, обеспечивая антитела к MerTK, эффективные в опосредовании противоопухолевого иммунитета, снижении эффероцитоза и стимулировании M1-подобной поляризации макрофагов.

[0010] Все ссылки, приведенные в данном документе, включая заявки на патенты и публикации, полностью включены в данный документ посредством ссылки.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0011] Настоящее изобретение, как правило, относится к антителам к тирозинкиназе Mer (MerTK) и способам применения таких антител. Предлагаемые в данном документе способы находят применение при лечении индивида, имеющего злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает способ лечения индивида, имеющего злокачественное новообразование, включающий введение индивиду, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела к MerTK.

[0012] В одном аспекте, настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 329, 330, 331, 332 и 333; и c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 138, 334, 335, 336, 337, 338 и 339; и при этом переменная область легкой цепи содержит: d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 340, 341, 342, 343 и 344; e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210.

[0013] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит: (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (b) HVR-H2,

[illegible]

последовательность SEQ ID NO:251; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:245, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; и VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254.

[0015] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99 и 329; и c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139; и при этом переменная область легкой цепи содержит: d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 169 и 345; e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

[0016] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, при этом антитело содержит (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219; или (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:345; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

[0017] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит переменный домен тяжелой цепи (VH) и переменный домен легкой цепи (VL), при этом VH и VL выбраны из группы, состоящей из: VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:257; и VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:256, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:258.

[0018] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 95, 346 и 347; b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 119, 348, 349, 350, 351, 352, 353 и 354; и c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 355 и 356; и при этом переменная область легкой цепи содержит: d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 181, 341, 357 и 358; e) HVR-L2,

последовательность SEQ ID NO:275; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:261, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:276; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:262, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:263, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:265, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:266, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:267, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:278; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:268, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:279; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:269, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:279; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:280; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:270, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:281; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:265, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:282; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:283; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:271, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:284; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:272, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:285; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:271, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:286; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:287; VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:288; и VH, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273 и VL, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:289.

[0021] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит: а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; б) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 122, 364, 365, 366, 367 и 368; и с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 155, 373, 374 и 375; и при этом переменная область легкой цепи содержит: d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 184, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386 и 387; е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 203, 388, 389, 390 и 391; и ф) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231, 392, 393 и 394.

[0022] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое

103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, и 124; и HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, и 157; и вариабельная область легкой цепи содержит: HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, и 186; HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, и 205; и HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, и 233.

[0025] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к МерТК, которое связывается с белком МерТК, причем антитело содержит HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, включающие аминокислотные последовательности (i) SEQ ID NO: 75, 99, 125, 158, 187 и 207, соответственно; (ii) SEQ ID NO: 76, 100, 126, 159, 187, и 208, соответственно; (iii) SEQ ID NO: 77, 101, 127, 160, 188, и 209, соответственно; (iv) SEQ ID NO: 75, 99, 128, 158, 187, и 210, соответственно; (v) SEQ ID NO: 78, 102, 129, 161, 189, и 211, соответственно; (vi) SEQ ID NO: 75, 103, 130, 158, 187, и 212, соответственно; (vii) SEQ ID NO: 77, 101, 127, 162, 188, и 209, соответственно; (viii) SEQ ID NO: 75, 99, 131, 163, 187, и 213, соответственно; (ix) SEQ ID NO: 79, 104, 132, 164, 190, и 214, соответственно; (x) SEQ ID NO: 80, 105, 133, 165, 191, и 215, соответственно; (xi) SEQ ID NO: 81, 106, 134, 166, 192, и 216, соответственно; (xii) SEQ ID NO: 82, 107, 135, 167, 193, и 217, соответственно; (xiii) SEQ ID NO: 77, 108, 136, 167, 194, и 209, соответственно; (xiv) SEQ ID NO: 75, 109, 137, 168, 187, и 218, соответственно; (xv) SEQ ID NO: 83, 99, 138, 158, 187, и 210, соответственно; (xvi) SEQ ID NO: 84, 99, 139, 169, 195, и 219, соответственно; (xvii) SEQ ID NO: 85, 99, 140, 170, 196, и 220, соответственно; (xviii) SEQ ID NO: 86, 99, 141, 171, 191, и 221, соответственно; (xix) SEQ ID NO:87, 110, 142, 172, 197, и 222, соответственно; (xx) SEQ ID NO: 88, 99, 143, 173, 191, и 223, соответственно; (xxi) SEQ ID NO: 89, 111, 143, 173, 198, и 221, соответственно; (xxii) SEQ ID NO: 90, 112, 144, 174, 199, и 224, соответственно; (xxiii) SEQ ID NO: 91, 113, 145, 175, 200, и 225, соответственно; (xxiv) SEQ ID NO: 90, 114, 146, 176, 201, и 226, соответственно; (xxv) SEQ ID NO: 92, 115, 147, 177, 195, и 227, соответственно; (xxvi) SEQ ID NO: 93, 116, 148, 178, 188, и 209, соответственно; (xxvii) SEQ ID NO: 94, 117, 149, 179, 195, и 228, соответственно; (xxviii) SEQ ID NO: 95, 118, 150, 180, 187, и 229, соответственно; (xxix) SEQ ID NO: 95, 119, 151, 181, 187, и 208, соответственно; (xxx) SEQ ID NO: 90, 120, 152, 182, 202, и 230, соответственно; (xxxi) SEQ ID NO: 96, 118, 153, 183, 202, и 230, соответственно; (xxxii) SEQ ID NO: 96, 121, 154, 181, 187, и 210, соответственно; (xxxiii) SEQ ID NO: 90, 122, 155, 184, 203, и 231, соответственно; (xxxiv) SEQ ID NO: 90, 122, 155, 184, 203, и 231, соответственно; (xxxv) SEQ ID NO:97, 123, 156, 185, 204, и 232, соответственно; или (xxxvi) SEQ ID NO: 98, 124, 157, 186, 205, и 233, соответственно.

[0026] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МерТК по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком МерТК, при этом антитело содержит последовательности HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 из антитела МТК-01, МТК-02, МТК-03, МТК-04, МТК-05, МТК-06, МТК-07, МТК-08, МТК-09, МТК-10, МТК-11, МТК-12, МТК-13, МТК-14, МТК-15, МТК-16, МТК-17, МТК-18, МТК-19, МТК-20, МТК-21, МТК-22, МТК-23, МТК-24, МТК-25, МТК-26, МТК-27, МТК-28, МТК-29, МТК-30, МТК-31, МТК-32, МТК-33, МТК-34,

МТК-35, или МТК-36. В некоторых вариантах осуществления HVR представляют собой HVR, определенные по Kabat, HVR, определенные по Chothia, или HVR, определенные по AbM.

[0027] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком МегТК, при этом указанное антитело содержит последовательности HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 из антитела МТК-15.1, МТК-15.2, МТК-15.3, МТК-15.4, МТК-15.5, МТК-15.6, МТК-15.7, МТК-15.8, МТК-15.9, МТК-15.10, МТК-15.11, МТК-15.12, МТК-15.13, МТК-15.14, и МТК-15.15, МТК-16.1 и МТК-16.2, МТК-29.1, МТК-29.2, МТК-29.3, МТК-29.4, МТК-29.5, МТК-29.6, МТК-29.7, МТК-29.8, МТК-29.9, МТК-29.10, МТК-29.11, МТК-29.12, МТК-29.13, МТК-29.14, МТК-29.15, МТК-29.16, МТК-29.17, МТК-29.18, МТК-29.19, МТК-29.20, и МТК-29.21, МТК-33.1, МТК-33.2, МТК-33.3, МТК-33.4, МТК-33.5, МТК-33.6, МТК-33.7, МТК-33.8, МТК-33.9, МТК-33.10, МТК-33.11, МТК-33.12, МТК-33.13, МТК-33.14, МТК-33.15, МТК-33.16, МТК-33.17, МТК-33.18, МТК-33.19, МТК-33.20, МТК-33.21, МТК-33.22, МТК-33.23, или МТК-33.24. В некоторых вариантах осуществления HVR представляют собой HVR, определенные по Kabat, HVR, определенные по Chothia, или HVR, определенные по AbM.

[0028] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком МегТК, при этом указанное антитело содержит переменную область тяжелой цепи, причем переменная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, и 39.

[0029] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком МегТК, при этом указанное антитело включает переменную область тяжелой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи область включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 234-246, 255, 256, 259-379 и 290-308.

[0030] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком МегТК, причем антитело содержит переменную область легкой цепи, при этом переменная область легкой цепи область включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, и 74.

[0031] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело против МегТК по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком МегТК, причем указанное антитело включает переменную область легкой цепи, при этом переменная область легкой цепи область включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 247-254, 257, 258, 274-289 и 309-328.

[0032] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению

представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком MerTK, при этом антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, и 39, а переменная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, и 74.

[0033] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в настоящем документе, антитело против MerTK по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем переменная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из 234-246, 255, 256, 259-379 и 290-308, а переменная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 247-254, 257, 258, 274-289 и 309-328.

[0034] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к MerTK по настоящему изобретению представляет собой выделенное антитело, которое связывается с белком MerTK, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5 и 40 соответственно; SEQ ID NO: 6 и 41, соответственно; SEQ ID NO: 7 и 42, соответственно; SEQ ID NO: 8 и 43, соответственно; SEQ ID NO: 9 и 44, соответственно; SEQ ID NO: 10 и 45, соответственно; SEQ ID NO: 11 и 46, соответственно; SEQ ID NO: 12 и 47, соответственно; SEQ ID NO: 13 и 48, соответственно; SEQ ID NO: 14 и 49, соответственно; SEQ ID NO: 15 и 50, соответственно; SEQ ID NO: 16 и 51, соответственно; SEQ ID NO: 17 и 52, соответственно; SEQ ID NO: 18 и 53, соответственно; SEQ ID NO: 19 и 54, соответственно; SEQ ID NO: 20 и 55, соответственно; SEQ ID NO: 21 и 56, соответственно; SEQ ID NO: 22 и 57, соответственно; SEQ ID NO: 23 и 58, соответственно; SEQ ID NO: 24 и 59, соответственно; SEQ ID NO: 25 и 60, соответственно; SEQ ID NO: 26 и 61, соответственно; SEQ ID NO: 27 и 62, соответственно; SEQ ID NO: 28 и 63, соответственно; SEQ ID NO: 29 и 64, соответственно; SEQ ID NO: 30 и 65, соответственно; SEQ ID NO: 31 и 66, соответственно; SEQ ID NO: 32 и 67, соответственно; SEQ ID NO: 33 и 68, соответственно; SEQ ID NO: 34 и 69, соответственно; SEQ ID NO: 35 и 70, соответственно; SEQ ID NO: 36 и 71, соответственно; SEQ ID NO: 37 и 72, соответственно; SEQ ID NO: 38 и 73, соответственно; и SEQ ID NO: 39 и 74, соответственно.

[0035] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу, которое связывается с белком MerTK, причем указанное антитело конкурентно ингибирует связывание с одним или более антителами по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения в отношении связывания с MerTK.

[0036] В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу, которое связывается с белком MerTK, причем антитело связывается по существу с тем же или перекрывающимся эпитопом на MerTK, что и антитело по любому из вариантов осуществления настоящего изобретения.

[0037] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, белок MerTK представляет собой белок млекопитающего или белок человека. В определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, белок MerTK представляет собой белок дикого типа. В

определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, белок MerTK представляет собой встречающийся в природе вариант. В определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело к MerTK связывается с MerTK человека и с MerTK яванского макака и/или MerTK мыши. В определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело к MerTK связывается с MerTK человека и MerTK мыши, связывается с MerTK человека и MerTK яванского макака или связывается с MerTK человека, MerTK мыши и MerTK яванского макака.

[0038] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание одного или более лигандов с MerTK. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 25,9 нМ. %. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 2,5 нМ, от 2,5 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 25 нМ.

[0039] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29 нМ до 32 нМ. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ, от 10 нМ до 25 нМ или от 25 нМ до 32 нМ.

[0040] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK и ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления

настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK и ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, и при этом антитело снижает или ингибирует связывание Gas6 с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK и ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 25,9 нМ, и при этом антитело снижает или ингибирует связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29 нМ до 32 нМ.

[0041] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK и не ингибирует или не снижает связывание Gas6 с MerTK.

[0042] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению не ингибирует и не снижает связывание ProS с MerTK и не ингибирует связывание Gas6 с MerTK.

[0043] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ со значением IC₅₀ от 0,019 нМ до 7,74 нМ. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ со значением IC₅₀ от 0,019 нМ до 0,25 нМ, от 0,25 нМ до 0,5 нМ, от 0,5 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 2,5 нМ, от 2,5 нМ до 5 нМ или от 5 нМ до 7,74 нМ.

[0044] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с MerTK человека с аффинностью связывания от 1,4 нМ до 81 нМ. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с MerTK человека с аффинностью связывания от 1,6 нМ до 107 нМ. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с MerTK человека с аффинностью связывания от 30 нМ до 186 нМ.

[0045] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления настоящего изобретения, антитело к MerTK по настоящему изобретению в по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 7,7 раза или в по меньшей мере 8,5 раз более эффективно в снижении или ингибировании связывания ProS с MerTK, чем в снижении или ингибировании связывания Gas6 с MerTK.

[0046] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к MerTK по настоящему изобретению

снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитами (например, по меньшей мере на 50%). В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитирующими клетками на по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%). В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитами со значением IC₅₀ от 0,13 нМ до 30 нМ. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитами со значением IC₅₀ от 0,13 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 30 нМ. В некоторых вариантах осуществления фагоциты представляют собой макрофаги. В некоторых вариантах осуществления фагоциты представляют собой ассоциированные с опухолью макрофаги. В некоторых вариантах осуществления фагоциты представляют собой дендритные клетки.

[0047] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению увеличивает или индуцирует М1-подобную поляризацию макрофагов. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению увеличивает выработку, экспрессию и/или секрецию провоспалительных цитокинов. В определенных вариантах осуществления провоспалительные цитокины представляют собой фактор некроза опухоли (TNF), интерферон (IFN) или интерлейкин-12 (IL-12). В определенных вариантах осуществления провоспалительные цитокины представляют собой лиганд 1 хемокина (мотив C-X-C)(CXCL-1, KC), моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP1, CCL2), макрофагальный воспалительный белок-1-альфа (MIP-1 α , CCL3), макрофагальный воспалительный белок-1-бета (MIP-1 β , CCL4) или интерлейкин-6 (IL-6). В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению увеличивает выработку, экспрессию и/или секрецию провоспалительных цитокинов *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления, представленных в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению увеличивает выработку, экспрессию и/или секрецию провоспалительных цитокинов *in vivo*.

[0048] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело к МегТК по настоящему изобретению представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело представляет собой биспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело представляет собой поливалентное антитело. В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело

представляет собой химерное антитело.

[0049] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу к MerTK, которое связывается с белком MerTK, причем антитело представляет собой гуманизованную форму антитела к MerTK, предложенного в данном документе.

[0050] В некоторых вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело к MerTK по настоящему изобретению относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA. В некоторых вариантах осуществления антитело относится к классу IgG и имеет изотип IgG1, IgG2 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1 с аминокислотной последовательностью Fc, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 396, 397, 398, 399, 400 и 401.

[0051] В определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело представляет собой полноразмерное антитело. В определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело представляет собой фрагмент антитела. В определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, антитело представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом на белке MerTK человека или на белке MerTK млекопитающего. В определенных вариантах осуществления, которые могут быть объединены с любым из вариантов осуществления в данном документе, фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv.

[0052] В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенной нуклеиновой кислоте, включающей последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело к MerTK по любому из предыдущих вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к вектору, включающему нуклеиновую кислоту по любому из предыдущих вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенной клетке-хозяину, включающей нуклеиновую кислоту в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления или вектор в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к выделенной клетке-хозяину, содержащей (i) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую VH антитела к MerTK в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, и (ii) нуклеиновую кислоту, содержащую нуклеиновую кислоту, кодирующую VL антитела к MerTK.

[0053] В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу получения антитела, которое связывается с антителом к MerTK человека, включая культивирование клетки-хозяина в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления с получением антитела к MerTK. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выделение антитела к MerTK, продуцируемого клеткой.

[0054] В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело к MerTK по любому из предыдущих вариантов осуществления и фармацевтически приемлемый носитель.

[0055] В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения индивида, имеющего злокачественное новообразование, причем указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивиду терапевтически эффективного количества антитела к MerTK в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак толстой кишки, рак яичников, рак печени или рак эндометрия. В

некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из саркомы, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака эндометрия, рака почки, рака почки, лейкемии, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, меланомы, лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичников, рака желудка, рака щитовидной железы, рака матки, рака печени, рака шейки матки, рака яичка, плоскоклеточного рака, глиомы, глиобластомы, аденомы и нейробластомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из мультиформной глиобластомы, карциномы мочевого пузыря и карциномы пищевода. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой трижды негативную карциному молочной железы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может быть первичной опухолью. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может представлять собой метастатическую опухоль во втором месте, происходящую от любого из вышеуказанных типов злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению применимо для лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом субъекта, при этом злокачественное новообразование экспрессирует MerTK. В некоторых вариантах осуществления введение антитела к MerTK по настоящему изобретению, которое снижает эффероцитоз, не приводит к патологии сетчатки у индивида. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивиду антитела к PD-L1, антитела к PD-L2 или антитела к PD (например, одновременно или последовательно).

[0056] В одном аспекте настоящее изобретение относится к способу обнаружения MerTK в образце, включающему приведение указанного образца в контакт с антителом к MerTK в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, при этом способ дополнительно включает обнаружение связывания антитела с MerTK в образце.

[0057] Следует понимать, что одно, некоторые или все свойства различных вариантов осуществления, описанных в данном документе, могут быть объединены для формирования других вариантов осуществления настоящего изобретения. Эти и другие аспекты изобретения станут очевидны специалисту в данной области техники. Эти и другие аспекты осуществления изобретения дополнительно описаны в подробном описании, которое следует ниже.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0058] На Фиг. 1 представлены данные анализа экспрессии MerTK человека на дендритных клетках (ДК) и макрофагах от двух доноров-людей методом FACS.

[0059] На Фиг. 2 представлены данные анализа экспрессии человеческого MerTK на различных линиях клеток, включая клетки A375, THP-1, U937, SK-MEL-5 и CHO-huMerTK OE, методом FACS.

[0060] На Фиг. 3 представлены данные анализа экспрессии MerTK человека в моноцитах, макрофагах и дендритных клетках, полученных от здоровых людей или полученных из опухолей яичников, печени или эндометрия, полученных от субъектов-людей, методом FACS.

[0061] На Фиг. 4 представлены данные, демонстрирующие влияние антител к MerTK по настоящему изобретению на снижение эффероцитоза макрофагов человека.

[0062] На Фиг. 5 представлены данные, демонстрирующие влияние антител к MerTK по настоящему изобретению на снижение эффероцитоза мышиных макрофагов костномозгового происхождения.

[0063] На Фиг. 6 представлены данные, демонстрирующие, что антитела к MerTK по настоящему изобретению связываются с клетками SK-MEL-5.

[0064] На Фиг. 7 представлены данные, демонстрирующие, что антитела к MerTK по настоящему

изобретению блокируют связывание лиганда Gas6 с MerTK человека дозозависимым образом.

[0065] На Фиг. 8 представлены данные, демонстрирующие, что антитела к MerTK по настоящему изобретению блокируют связывание лиганда ProS с MerTK человека дозозависимым образом.

[0066] На Фиг. 9 представлены данные, демонстрирующие результаты эпитоп-специфической сортировки антител к MerTK по настоящему изобретению.

[0067] На Фиг. 10A и 10B представлены данные, демонстрирующие, что лечение антителом к MerTK отдельно или в сочетании с лечением антителом к PD-L1 снижает рост опухоли *in vivo*.

[0068] На Фиг. 11A, 11B, 11C и 11D представлены данные, демонстрирующие изменения уровня MCP1, MIP-1 α , MIP-1 β , и TNF в макрофагах человека после обработки в течение ночи антителами к MerTK по настоящему изобретению.

[0069] На Фиг. 12A и 12B представлены данные, демонстрирующие снижение роста опухоли у мышей, которым вводили антитело к PDL1 в комбинации с антителами к MerTK по настоящему изобретению.

[0070] На Фиг. 13 представлены данные, демонстрирующие снижение роста опухоли у мышей, которым вводили антитело к PDL1 в комбинации с антителами к MerTK по настоящему изобретению.

[0071] На Фиг. 14A, 14B, 14C и 14D представлены данные, демонстрирующие различия в скорости роста опухоли у мышей, которым вводили антитело к PDL1 в комбинации с антителами к MerTK по настоящему изобретению, нанесенные с использованием линейной шкалы по оси ординат.

[0072] На Фиг. 15A, 15B, 15C и 15D представлены данные, демонстрирующие различия в скорости роста опухоли у мышей, которым вводили антитело к PDL1 в комбинации с антителами к MerTK по настоящему изобретению, нанесенные с использованием log2 шкалы по оси ординат.

[0073] На Фиг. 16 представлены данные, демонстрирующие кривые выживаемости мышей с опухолями, которым вводили антитело к PDL1 в комбинации с антителами к MerTK по настоящему изобретению.

[0074] На Фиг. 17A, 17B, 17C, 17D и 17E представлены данные, демонстрирующие изменения уровней лиганда 1 хемокина (мотива C-X-C) (CXCL-1, KC), моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP1, CCL2), макрофагального воспалительного белка-1-альфа (MIP-1 α , CCL3), макрофагального воспалительного белка-1-бета (MIP-1 β , CCL4) и интерлейкина-6 (IL-6) в плазме мышей после введения антител к MerTK по настоящему изобретению.

[0075] На Фиг. 18A, 18B, 18C и 18D представлены данные, демонстрирующие изменения уровней MCP1, MIP-1 β , фактора некроза опухоли (TNF) и интерферона (IFN) в плазме яванских макаков, которым вводили антитела к MerTK по настоящему изобретению.

[0076] На Фиг. 19A и 19B представлены данные, демонстрирующие изменения отношения фосфо-АКТ (pAKT) к общему количеству АКТ (tAKT) в клетках, обработанных различными антителами к MerTK по настоящему изобретению.

[0077] На Фиг. 20A, 20B, 20C, 20D и 20E представлены данные, демонстрирующие изменения объема опухоли в мышинной модели опухоли MC38 *in vivo* у животных, которым вводили антитело к PDL-1 в комбинации с различными антителами к MerTK по настоящему изобретению.

[0078] На Фиг. 21 представлены данные, демонстрирующие равновесные константы диссоциации (K_D) связывания антител к MerTK по настоящему изобретению с белком MerTK человека (hu), мыши (mu) и яванского макака (cy).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0079] Настоящее изобретение относится к антителам к MerTK (например, моноклональным антителам); способам получения и применению таких антител; фармацевтических композиций, содержащих такие

антитела; нуклеиновым кислотам, кодирующим такие антитела; и клеткам-хозяевам, содержащим нуклеиновые кислоты, кодирующие такие антитела.

[0080] Методики и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, в целом хорошо понятны и обычно используются специалистами в данной области техники с использованием традиционных методологий, таких как, например, широко используемые методологии, описанные в Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000).

I. Определения

[0081] Термины «MerTK», или «полипептид MerTK», или «белок MerTK» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к любому нативному MerTK из любого источника позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например, люди и яванские макаки (супо)) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано иное. MerTK также упоминается как c-mer, MER, протоонкоген c-Mer, рецепторная тирозинкиназа MerTK, тирозинпротеинкиназа Mer, киназа STK, RP38 и MGC133349. В некоторых вариантах осуществления термин охватывает как последовательности дикого типа, так и последовательности встречающихся в природе вариантов, например, сплайсированные варианты или аллельные варианты. В некоторых вариантах осуществления термин охватывает «полноразмерный» непротессированный MerTK, а также любую форму MerTK, возникающую в результате процессинга в клетке. В некоторых вариантах осуществления MerTK представляет собой MerTK человека. Используемый в данном документе термин «MerTK человека» относится к полипептиду с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1.

[0082] Термины «антитело к MerTK», «антитело, которое связывается с MerTK», и «антитело, которое специфически связывает MerTK» относятся к антителу, которое способно связывать MerTK с достаточной аффинностью, так что антитело можно использовать в качестве диагностического и/или терапевтического агента для нацеливания на MerTK. В одном варианте осуществления степень связывания антитела к MerTK с неродственным полипептидом, не являющимся MerTK, составляет менее около 10% связывания антитела с MerTK, как измерено, например, с помощью радиоиммуноанализа (РИА). В определенных вариантах осуществления антитело, которое связывается с MerTK, имеет константу диссоциации (KD) < 1 мкМ, < 100 нМ, < 10 нМ, < 1 нМ, < 0,1 нМ, < 0,01 нМ, или < 0,001 нМ (например, 10^{-8} М или менее, например, от 10^{-8} М до 10^{-13} М, например, от 10^{-9} М до 10^{-13} М). В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK связывается с эпитопом MerTK, который является консервативным среди MerTK разных видов.

[0083] Применительно к связыванию антитела с молекулой-мишенью, термин «специфическое связывание» или «специфически связываться с» или является «специфическим к» конкретному полипептиду или эпитопу на конкретной полипептидной мишени означает связывание, которое измеряемо отличается от неспецифического взаимодействия. Специфическое связывание может быть измерено, например, при помощи определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы. Например, специфическое связывание может определяться конкуренцией с контрольной молекулой, которая сходна с мишенью, к примеру, при избытке немеченой мишени. В этом случае связывание считается специфическим, если связывание меченой мишени с зондом конкурентно ингибируется избытком немеченой мишени. Термин «специфическое связывание» или «специфически связывается с» или «специфичен для» конкретного полипептида или эпитопа на конкретной полипептидной мишени, используемый в данном документе, может проявляться, например, молекулой, имеющей KD для

мишени примерно любой из 10^{-4} М или ниже, 10^{-5} М или ниже, 10^{-6} М или ниже, 10^{-7} М или ниже, 10^{-8} М или ниже, 10^{-9} М или ниже, 10^{-10} М или ниже, 10^{-11} М или ниже, 10^{-12} М или ниже, или KD в диапазоне от 10^{-4} М до 10^{-6} М или от 10^{-6} М до 10^{-10} М или от 10^{-7} М до 10^{-9} М. Как будет понятно специалисту в данной области техники, значения аффинности и KD связаны обратной зависимостью. Высокая аффинность для антигена измеряется низким значением KD. В одном варианте осуществления термин «специфическое связывание» относится к связыванию, при котором молекула связывается с конкретным полипептидом или эпитопом на конкретном полипептиде без значительного связывания с любым другим полипептидом или полипептидным эпитопом.

[0084] Термин «иммуноглобулин» (Ig) используется в данном документе взаимозаменяемо с термином «антитело». Термин «антитело» в данном документе используется в самом широком смысле и, в частности, охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), включая образованные по меньшей мере из двух интактных антител, и антигенсвязывающие фрагменты антител, если они проявляют желаемую биологическую активность.

[0085] «Нативные антитела», как правило, представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины около 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью одной ковалентной дисульфидной связью, в то время как количество дисульфидных связей варьируется среди тяжелых цепей разных изотипов иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепь также содержит расположенные на равном расстоянии друг от друга внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая тяжелая цепь имеет на одном конце переменный домен (V_H), за которым следует ряд константных доменов. Каждая легкая цепь имеет переменный домен на одном конце (V_L) и константный домен на другом конце; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а переменный домен легкой цепи выровнен с переменным доменом тяжелой цепи. Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют область контакта между переменными доменами легкой цепи и тяжелой цепи.

[0086] Для получения информации о структуре и свойствах различных классов антител, см, например, Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, страница 71 и глава 6.

[0087] Легкая цепь любого вида позвоночных может быть отнесена к одному из двух четко различных типов, называемых каппа («κ») и лямбда («λ»), на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (CH) иммуноглобулины можно отнести к разным классам или изотипам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, тяжелые цепи которых обозначены альфа («α»), дельта («δ»), эпсилон («ε»), гамма («γ») и мю («μ»), соответственно. Классы γ и α дополнительно делятся на подклассы (изотипы) на основе относительно незначительных различий в последовательности и функции CH, например, у человека экспрессируются следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов хорошо известны и в целом описаны, например, в Abbas *et al.*, Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders Co., 2000).

[0088] «Переменная область» или «переменный домен» антитела, такого как антитело к MerTK по настоящему изобретению, относится к аминоконцевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи можно обозначать как « V_H » и « V_L », соответственно. Эти домены в целом являются наиболее переменными частями антитела (по сравнению с другими

антителами того же класса) и содержат сайты связывания антигена.

[0089] Термин «*вариабельный*» относится к тому факту, что определенные сегменты переменных доменов сильно различаются по последовательности среди антител, таких как антитело к MerTK по данному изобретению. Переменный домен опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела в отношении его конкретного антигена. В то же время, переменность неравномерно распределена на протяжении переменных доменов. Вместо этого она сосредоточена в трех сегментах, называемых гиперпеременными областями (HVR), как в переменных доменах легкой цепи, так и в переменных доменах тяжелой цепи. Более консервативные фрагменты переменных доменов называются каркасными областями (FR). Каждый из переменных доменов нативных тяжелой и легкой цепей состоит из четырех областей FR, в значительной степени принимающих конфигурацию бета-листа, соединенных тремя HVR, которые образуют петли, соединяющие и в некоторых случаях образующие часть структуры бета-листа. HVR в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости с помощью областей FR и вместе с HVR из другой цепи, участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, но проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной токсичности.

[0090] Используемый в данном документе термин «*моноклональное антитело*» относится к антителу, такому как моноклональное антитело к MerTK по настоящему изобретению, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования и т.д.), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими и направлены против одного антигенного сайта. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене. В дополнение к своей специфичности, моноклональные антитела выгодны тем, что они синтезируются гибридомной культурой, поэтому не загрязнены другими иммуноглобулинами. Определение «моноклональное» указывает на характер антитела, полученного из, по существу, однородной популяции антител, и не должно быть истолковано как требующее получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, которые будут использоваться в соответствии с настоящим изобретением, могут быть получены различными методиками, включая, но не ограничиваясь одним или более из следующих методов, методов иммунизации животных, включая, но не ограничиваясь ими, крыс, мышей, кроликов, морских свинок, хомяков и/или кур с помощью одной или более из ДНК, вирусоподобных частиц, полипептида(-ов) и/или клетки(-ок), гибридных методов, методов клонирования В-клеток, методов рекомбинантной ДНК и технологии получения человеческих или человекоподобных антител у животных, которые имеют части или все локусы или гены иммуноглобулина человека, кодирующие последовательности иммуноглобулина человека.

[0091] Термины «*полноразмерное антитело*», «*интактное антитело*» или «*целое антитело*» используются взаимозаменяемо для обозначения антитела, такого как антитело к MerTK по настоящему изобретению, в его по существу интактной форме, в отличие от фрагмента антитела. В частности, полные антитела включают антитела с тяжелыми и легкими цепями, включая Fc-область. Константные домены

могут представлять собой константные домены с нативной последовательностью (например, константные домены человеческой с нативной последовательностью) или их варианты аминокислотной последовательности. В некоторых случаях интактное антитело может выполнять одну или более эффекторных функций.

[0092] «Фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая включает часть интактного антитела, которая связывает антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела; линейные антитела (см. патент США 5641870, пример 2; Zapata et al., *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 (1995)); молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[0093] Расщепление папаином антител, таких как антитела к MerTK по данному изобретению, дает два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых фрагментами «Fab», и остаточный фрагмент «Fc», имеющий название, отражающее способность легко кристаллизоваться. Фрагмент Fab состоит из целой легкой цепи вместе с доменом вариабельной области тяжелой цепи (V_H) и первым константным доменом одной тяжелой цепи (C_{H1}). Каждый фрагмент Fab является моновалентным по отношению к связыванию антигена, то есть он имеет единственный антигенсвязывающий сайт. Обработка антитела пепсином позволяет выделить одиночный большой фрагмент F(ab')₂, который приблизительно соответствует двум фрагментам Fab, и все еще способным к сшиванию антигена. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab тем, что имеют несколько дополнительных остатков на карбокси-конце домена C_{H1}, включая один или более цистеинов из шарнирной области антитела. В настоящем документе Fab'-SH является обозначением для фрагмента Fab', в котором цистеиновые остатки(-ок) константных доменов несут свободную тиольную группу. Фрагменты F(ab')₂ антитела первоначально получали в виде пар фрагментов Fab', которые имеют шарнирные цистеины между ними. Известны также и другие способы химического связывания фрагментов антител.

[0094] Фрагмент Fc содержит C-концевые части обеих тяжелых цепей, удерживаемые вместе дисульфидами. Эффекторные функции антител определяются последовательностями в области Fc, области, которая также распознается Fc-рецепторами (FcR), обнаруженными на определенных типах клеток.

[0095] «Функциональные фрагменты» антител, таких как антитела к MerTK по данному изобретению, содержат часть интактного антитела, обычно содержащую антигенсвязывающую или вариабельную область интактного антитела или область Fc антитела, которая сохраняет или модифицировал способность связывания FcR. Примеры фрагментов антител включают линейные антитела, молекулы одноцепочечных антител и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[0096] Термин «диатела» относится к небольшим фрагментам антител, полученным путем конструирования фрагментов sFv (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (около 5-10) остатков между доменами V_H и V_L, так что достигаются межцепочечное, но не внутрицепочечное спаривание вариабельных доменов, в результате чего получается двухвалентный фрагмент, то есть фрагмент, имеющий два антигенсвязывающих сайта. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры двух «криссоверных» фрагментов sFv, в которых домены V_H и V_L двух антител присутствуют на разных полипептидных цепях.

[0097] Используемый в данном документе термин «химерное антитело» относится к антителу (иммуноглобулину), такому как антитело к MerTK по настоящему изобретению, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от определенного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, в

то время как остальная часть цепи(-ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител, при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность. Представляющие интерес химерные антитела включают антитела PRIMATIZED®, в которых антигенсвязывающая область антитела происходит из антитела, получаемого, например, при помощи иммунизации макака представляющим интерес антигеном. Используемый в данном документе термин «гуманизированное антитело» означает подмножество «химерных антител».

[0098] «Гуманизированные» формы нечеловеческих (например, мышиных) антител, такие как гуманизированные формы антител к MerTK по настоящему изобретению, представляют собой химерные антитела, содержащие аминокислотные остатки из нечеловеческих HVR и аминокислотные остатки из человеческих FR. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело будет содержать все из по меньшей мере одного, а обычно двух переменных доменов, в которых все или практически все HVR (например, CDR) соответствуют таковым из нечеловеческого антитела, и все или практически все FR соответствуют антителам человека. Гуманизированное антитело необязательно может содержать по меньшей мере часть константной области антитела, полученной из антитела человека. «Гуманизированная форма» антитела, например, нечеловеческого антитела, относится к антителу, которое подверглось гуманизации.

[0099] «Антитело человека» представляет собой антитело, которое имеет аминокислотную последовательность, соответствующую таковой у антитела, такого как антитело к MerTK по настоящему изобретению, продуцируемого человеком и/или полученного с использованием любой из методик для получения антител человека, как описано в данном документе. Из этого определения антитела человека, в частности, исключено гуманизированное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки нечеловеческого происхождения. Человеческие антитела можно получить с использованием различных методик, известных в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея и библиотеки дрожжевого дисплея. Антитела человека могут быть получены путем введения антигена трансгенному животному, которое было модифицировано для выработки таких антител в ответ на антигенную стимуляцию, но чьи эндогенные локусы были инактивированы, например, у иммунизированных ксеномышей, а также полученные с помощью технологии человеческой В-клеточной гибридомы.

[0100] Термин «гипервариабельная область», «HVR» или «HV» в контексте данного документа относится к областям переменного домена антитела, таким как область антитела к MerTK по настоящему изобретению, которые являются гипервариабельными в последовательность и/или образуют структурно определенные петли. Как правило, антитела содержат шесть HVR; три в V_H (H1, H2, H3) и три в V_L (L1, L2, L3). В нативных антителах H3 и L3 демонстрируют наибольшее разнообразие из шести HVR, и, как полагают, в частности, H3 играет уникальную роль в придании высокой специфичности антителам. Встречающиеся в природе антитела верблюдовых, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными без легкой цепи.

[0101] Применяют большое число вариантов разграничения HVR, которые включены в данный документ. В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой определяющие комплементарность области (CDR) по Kabat, в основе которых лежит переменность последовательностей и которые являются наиболее часто используемыми (Kabat et al., *выше*). В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой CDR по Chothia. Нумерация Chothia вместо этого указывает на расположение структурных петель (Chothia and Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). В некоторых вариантах осуществления

HVR могут представлять собой HVR по AbM. HVR по AbM представляют собой компромиссный вариант между CDR по Kabat, и структурными петлями по Chothia, и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. В некоторых вариантах осуществления HVR могут представлять собой HVR по «Contact». HVR по «Contact» определяют в анализе доступных кристаллических структур комплексов. Остатки из каждой из этих HVR приведены ниже.

Петля	Kabat	AbM	Chothia	Contact
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B (нумерация по Kabat)
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35 (нумерация по Chothia)
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

[0102] HVR могут включать «расширенные HVR» следующим образом: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2), и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 (H1), 50-65 или 49-65 (предпочтительный вариант) (H2) и 93-102, 94-102 или 95-102 (H3) в VH. Остатки варибельного домена пронумерованы согласно Kabat et al., выше, для каждого из этих определений расширенного HVR.

[0103] Остатки «каркасной области» или «FR» представляют собой остатки варибельного домена, отличные от остатков HVR, как определено в данном документе.

[0104] «Акцепторная каркасная область человека», как используется в данном документе, представляет собой каркасную область, содержащую аминокислотную последовательность каркасной области VL или VH, полученную из каркасной области иммуноглобулина человека или консенсусной каркасной области человека. Акцепторная каркасная область человека, «полученная из» каркасной области иммуноглобулина человека или консенсусной каркасной области человека, может содержать такую же аминокислотную последовательность, или она может содержать ранее существовавшие изменения аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления количество ранее существовавших аминокислотных замен составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее, или 2 или менее. Если в VH присутствуют ранее существовавшие аминокислотные изменения, предпочтительно, эти изменения осуществляют только в трех, двух или одном из положений 71H, 73H и 78H; например, аминокислотные остатки в этих положениях могут представлять собой 71A, 73T и/или 78A. В одном варианте осуществления последовательность акцепторной человеческой каркасной области VL идентична последовательности каркасной области VL иммуноглобулина человека или последовательности консенсусной каркасной области человека.

[0105] «Консенсусная каркасная область человека» представляет собой каркасную область, которая содержит наиболее часто встречающиеся аминокислотные остатки при выборе последовательностей каркасной области VL или VH иммуноглобулина человека. Как правило, последовательности VL или VH иммуноглобулина человека выбраны из подгруппы последовательностей варибельных доменов. Как правило, подгруппа последовательностей является подгруппой, как в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Примеры включают для VL, подгруппа может быть подгруппой каппа I, каппа II, каппа III или каппа IV, как в Kabat et al., выше. Кроме того, для VH подгруппа может быть подгруппой I, подгруппой II или подгруппой III, как в Kabat et al., выше.

[0106] «Аминокислотная модификация» в определенном положении, например, антитела к MeгТК по настоящему изобретению, относится к замене или делеции указанного остатка или вставке по крайней мере одного аминокислотного остатка, примыкающего к указанному остатку. Вставка «рядом» с указанным остатком означает вставку в пределах одного-двух его остатков. Вставка может быть N-концевой или С-концевой по отношению к указанному остатку. В данном документе предпочтительной модификацией аминокислоты является замена.

[0107] «Fv» представляет собой минимальный фрагмент антитела, который содержит полный сайт распознавания и связывания антигена. Этот фрагмент состоит из димера одного домена вариабельного области тяжелой цепи и одного домена вариабельной области легкой цепи, жестко связанных посредством нековалентных связей. При фолдинге этих двух доменов наружу выступают шесть гипервариабельных петель (по 3 петли на каждой Н- и L-цепи), аминокислотные остатки которых участвуют в связывании антигена и придают антителу специфичность по отношению к связыванию антигена. В то же время даже один вариабельный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичные к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя с более низкой аффинностью, чем целый сайт связывания.

[0108] «Одноцепочечные Fv», также имеющие аббревиатуру «sFv» или «scFv», представляют собой фрагменты антител, которые содержат домены антител V_H и V_L, связанные в одну полипептидную цепь. Предпочтительно, полипептид sFv также содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, позволяющий sFv образовывать структуру, необходимую для связывания с антигеном.

[0109] «Эффекторные функции» антитела относятся к той биологической активности, которая относится к Fc-области (например, нативной последовательности Fc-области или варианту аминокислотной последовательности Fc-области) антитела, и варьируются в зависимости от изотипа антитела.

[0110] Термин «Fc-область» в данном документе используется для определения С-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-областей. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулинов могут варьироваться, Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяют как участок от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до его карбокси-конца. С-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU) области Fc может быть удален, например, во время получения или очистки антитела, или путем рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител, в которых удалены все остатки K447, популяции антител, в которых не удалены остатки K447, и популяции антител, содержащие смесь из антител с остатком K447 и без него. Подходящие Fc-области с нативной последовательностью для применения в антителах по настоящему описанию включают области из человеческих IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[0111] «Fc-область с нативной последовательностью» содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности Fc-области, встречающейся в природе. Нативная последовательность Fc-областей человека включают нативную последовательность Fc-области IgG1 человека (аллотипы не А и А); нативную последовательность Fc-области IgG2 человека; нативную последовательность Fc-области IgG3 человека; и нативную последовательность Fc-области IgG4 человека, а также существующие в природе варианты указанных последовательностей.

[0112] «Вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от последовательности Fc-области с нативной последовательностью на основании по меньшей мере одной

модификации аминокислоты, предпочтительно одной или более аминокислотных замен(-ы). Предпочтительно вариантная Fc-область имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с Fc-областью с нативной последовательностью или с Fc-областью исходного полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен, и предпочтительно от около одной до около пяти аминокислотных замен в Fc-области с нативной последовательностью или в Fc-области исходного полипептида. В данном документе вариант области Fc предпочтительно будут иметь по меньшей мере 80 % гомологии с нативной последовательности области Fc и/или с областью Fc исходного полипептида, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 90 % гомологии с ними, наиболее предпочтительно, по меньшей мере 95 % гомологии с ними.

[0113] Термины «*Fc-рецептор*» или «*FcR*» описывают рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. Предпочтительный FcR представляет собой нативную последовательность человеческого FcR. Более того, предпочтительным FcR является тот, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII, and FcγRIII, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы этих рецепторов, рецепторы FcγRII включают FcγRIIA («активирующий рецептор») и FcγRIIB («ингибирующий рецептор»), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, отличающиеся преимущественно их цитоплазматическими доменами. Активирующий рецептор FcγRIIA содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM) в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM) в своем цитоплазматическом домене. Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, включены в термин «FcR» в данном документе. FcR также могут увеличивать время полужизни антител в сыворотке.

[0114] Используемые в данном документе термины «*процент (%) идентичности аминокислотных последовательностей*» и «*гомология*» в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела относятся к проценту аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в конкретной пептидной или полипептидной последовательности после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для достижения наибольшего процента идентичности последовательности и не считая любые консервативные замены частью идентичности последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотных последовательностей может быть выполнено различными способами, известными специалисту в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить нужные параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, известные в данной области техники, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей - длине сравниваемых последовательностей.

[0115] Термин «*конкурировать*», когда он используется в контексте антител, которые конкурируют за один и тот же эпитоп или перекрывающиеся эпитопы, означает конкуренцию между антителами, определяемую при помощи анализа, в котором тестируемое антитело предотвращает или ингибирует (например, снижает) специфическое связывание эталонной молекулы (например, лиганда или эталонного антитела) с общим антигеном (например, MeTK или его фрагментом). Могут применяться различные типы анализов конкурентного связывания для определения того, конкурирует ли антитело с другим, можно использовать многочисленные типы анализов конкурентного связывания, например: твердофазный прямой или непрямой радиоиммуноанализ (РИА), твердофазный прямой или непрямой иммуоферментный анализ (ИФА),

конкурентный сэндвич-анализ (см., например, Stahl et al., 1983, Methods in Enzymology 9:242-253); прямой биотин-авидиновый ИФА твердой фазы (см., например, Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137:3614-3619) твердофазный прямой анализ с мечением, твердофазный прямой сэндвич-анализ с мечением (см., например, Harlow and Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); твердофазный прямой РИА с мечением с применением метки I-125 (см., например, Morel et al., 1988, Molec. Immunol. 25:7-15); прямой биотин-авидиновый ИФА твердой фазы (см., например, Cheung, et al., 1990, Virology 176:546-552); и прямой РИА с меткой (Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82). Как правило, такой анализ включает использование очищенного антигена, связанного с твердой поверхностью, или клеток, несущих любой из них, немеченого тестируемого антитела и меченого эталонного антитела. Конкурентное ингибирование измеряется путем определения количества метки, связанной с твердой поверхностью или клетками в присутствии тестируемого антитела. Как правило, тестируемое антитело присутствует в избытке. Антитела, идентифицируемые в конкурентном анализе (конкурирующие антитела), включают антитела, связывающиеся с тем же эпитопом, что и эталонное антитело, и антитела, связывающиеся со смежным эпитопом, расположенным достаточно близко к эпитопу, связываемому эталонному антителу, для появления стерического затруднения для антител. Как правило, когда конкурирующее антитело присутствует в избытке, оно будет ингибировать (например, уменьшать) специфическое связывание эталонного антитела с общим антигеном по меньшей мере на 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97,5% и/или около 100%.

[0116] В контексте данного документа термин «взаимодействие» между полипептидом MeгТК и вторым полипептидом включает, без ограничения, белок-белковое взаимодействие, физическое взаимодействие, химическое взаимодействие, связывание, ковалентное связывание и ионное связывание. В данном контексте антитело «ингибирует взаимодействие» между двумя полипептидами, если антитело нарушает, уменьшает или полностью устраняет взаимодействие между полипептидами. Антитело по настоящему изобретению «ингибирует взаимодействие» между двумя полипептидами, когда их антитело связывается с одним из двух полипептидов. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие может быть ингибировано на по меньшей мере 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97,5% и/или около 100%.

[0117] Термин «эпитоп» включает любую детерминанту, способную связываться с антителом. Эпитоп представляет собой область антигена, которая связана с антителом, нацеленным на этот антиген, и, когда антиген представляет собой полипептид, включает специфические аминокислоты, которые непосредственно контактируют с антителом. Чаще всего эпитопы располагаются на полипептидах, но в некоторых случаях могут располагаться на других типах молекул, таких как нуклеиновые кислоты. Детерминанты эпитопа могут включать химически активные поверхностные группы молекул, такие как аминокислоты, боковые цепи сахаров, фосфорильные или сульфонильные группы, и могут иметь специфические характеристики трехмерной структуры и/или специфические характеристики заряда. Как правило, антитела, специфичные к конкретному антигену-мишени, предпочтительно распознают эпитоп на антигене-мишени в сложной смеси полипептидов и/или макромолекул.

[0118] «Выделенное» антитело, такое как выделенное антитело к MeгТК по настоящему изобретению, представляет собой антитело, которое было идентифицировано, выделено и/или отделено от компонента его производственной среды (например, естественным или рекомбинантным путем). Предпочтительно выделенное антитело не связано со всеми другими загрязняющими компонентами из его производственной среды. Загрязняющие компоненты из среды их продукции, например, полученные из рекомбинантно трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые, как правило, мешают исследованиям, диагностике или терапевтическому применению антитела, и могут включать ферменты, гормоны и другие

белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах осуществления антитела будет очищен: (1) до более 95% по массе антитела, как определено, например, методом Лоури, и в некоторых вариантах осуществления до более 99% по массе; (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, используя секвенатор с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза в невосстанавливающих или восстанавливающих условиях с использованием Кумасси синего или, предпочтительно, красителя на основе серебра. Выделенное антитело включает антитело *in situ* в рекомбинантных Т-клетках, поскольку по меньшей мере один компонент естественной среды антитела будет отсутствовать. В то же время, выделенный полипептид или антитело как правило, получают с помощью по меньшей мере одной стадии очистки.

[0119] «Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, такое как антитело к MerTK по настоящему изобретению, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицируется и отделяется от по меньшей мере одной загрязняющей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно связана в среде, в которой она была продуцирована. Предпочтительно, выделенная нуклеиновая кислота не имеет связей со всеми компонентами, связанными со средой, в которой она культивируется. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие полипептиды и антитела, по настоящему описанию находятся в форме, отличной от той формы или условий, в которых они встречаются в природе. Поэтому выделенные молекулы нуклеиновой кислоты отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и антитела по настоящему описанию, присутствующие в природе в клетках.

[0120] Используемый в данном документе термин «вектор» предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной переносить другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Одним тип вектора представляет собой «плазмиду», которая относится к кольцевой двухцепочечной ДНК, с которой могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другой тип вектора представляет собой фаговый вектор. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, отличающееся тем, что дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Некоторые векторы способны к независимой репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную природу репликации и эпизомные векторы млекопитающего). Другие векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) могут интегрироваться в геном клетки-хозяина после внесения в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом хозяина. Более того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в данном документе «рекомбинантными векторами экспрессии» или просто «векторами экспрессии». В целом, векторы экспрессии, используемые в технологиях рекомбинантных ДНК, часто имеют форму плазмид. В данном описании «плазида» и «вектор» могут использоваться взаимозаменяемо, поскольку плазида является наиболее часто используемой формой вектора.

[0121] Взаимозаменяемо употребляемые в данном документе термины «*полинуклеотид*» или «*нуклеиновая кислота*» относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть включен в полимер ДНК- или РНК-полимеразой или с помощью синтетической реакции.

[0122] «Клетка-хозяин» включает отдельную клетку или культуру клеток, которые могут быть или были реципиентом вектора(-ов) для включения полинуклеотидных вставок. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и потомство необязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или

по комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(-ами) по настоящему изобретению.

[0123] Используемый в данном документе термин «носители» включает фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, которое подвергается их воздействию, в применяемых дозировках и концентрациях.

[0124] Используемый в данном документе термин «лечение» относится к клиническому вмешательству, предназначенному для изменения естественного течения заболевания у индивидуума, подвергаемого лечению, в процессе клинического проявления патологии. Желательные эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования, улучшение или смягчение патологического состояния, а также ремиссию или улучшение прогноза конкретного заболевания, расстройства или патологического состояния. Индивидуума успешно «лечат», например, если ослаблены или устранены один или более симптомов, связанных с конкретным заболеванием, расстройством или патологическим состоянием.

[0125] «Эффективное количество» относится к по меньшей мере количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Эффективное количество можно вводить за одно или более введений. Эффективным считается также такое количество, при котором любые токсические или вредные эффекты лечения перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. Для терапевтического применения полезные или желаемые результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение одного или более симптомов, возникающих в результате заболевания, повышение качества жизни тех, страдающих от этого заболевания, снижение дозы других лекарственных препаратов, необходимых для лечения заболевания, усиление эффекта другого лекарственного препарата, такое как нацеливание, замедление прогрессирования заболевания и/или увеличение продолжительности жизни. Эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для осуществления терапевтического лечения прямо или косвенно. Как понятно в клиническом контексте, эффективное количество лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции может быть достигнуто или не достигнуто в комбинации с другим лекарственным средством, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, «эффективное количество» можно рассматривать в контексте введения одного или более терапевтических агентов, и можно считать, что один агент вводят в эффективном количестве, если в сочетании с одним или более другими агентами может быть получен или достигнут желаемый результат.

[0126] «Индивид» в целях лечения относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных из зоопарка, спортивных или домашних животных, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и т. д. В некоторых вариантах осуществления индивидум представляет собой человека.

[0127] Как используется в данном документе, введение «в комбинации» с другим соединением или композицией включает одновременное введение и/или введение в разное время. Совместное введение также включает введение в виде совместного состава или введение в виде отдельных композиций, в том числе с разными частотами или интервалами введения доз и с использованием одного и того же пути введения или разных путей введения. В некоторых вариантах осуществления совместное введение представляет собой введение в виде части той же схемы лечения.

[0128] Термин «около», используемый в данном документе, относится к обычному диапазону погрешностей

для соответствующего значения и хорошо известный специалисту в данной области техники. В данном документе применение «около» по отношению к величине или параметру включает (и описывает) варианты осуществления, которые относятся непосредственно к этой величине или параметру по существу.

[0129] Использование в данном описании и в прилагаемой формуле изобретения форм единственного числа включает ссылку на множественное число, если в контексте явно не указано иное. Например, ссылка на «антитело» означает одно или более антител, например, молярные количества, и включает их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее.

[0130] Понятно, что аспект и варианты осуществления настоящего описания, описанные в данном документе, включают в себя аспекты и варианты «содержащий», «состоящий» и «состоящий по существу из».

I. Антитела к MerTK

[0131] В данном документе представлены антитела к MerTK. Представленные в данном документе антитела можно использовать, например, для диагностики или лечения ассоциированных с MerTK нарушений.

[0132] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенным (например, моноклональным) антителам, которые связываются с эпитопом в белке или полипептиде MerTK по настоящему изобретению. Белки или полипептиды MerTK по настоящему изобретению включают, но не ограничиваются этим, белок или полипептид MerTK млекопитающих, белок или полипептид MerTK человека, белок или полипептид MerTK мыши (мышиный) и белок или полипептид MerTK яванского макака. Белки и полипептиды MerTK по настоящему изобретению включают встречающиеся в природе варианты MerTK. В некоторых вариантах осуществления белки и полипептиды MerTK по настоящему изобретению связаны с мембраной. В некоторых вариантах осуществления белки и полипептиды MerTK по настоящему изобретению представляют собой растворимый внеклеточный домен MerTK.

[0133] В некоторых вариантах осуществления MerTK экспрессируется в клетке. В некоторых вариантах осуществления MerTK экспрессируется в фагоцитирующих клетках, включая, без ограничения, макрофаги и дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления MerTK экспрессируется в моноцитах, натуральных клетках-киллерах, натуральных Т-клетках-киллерах, микроглии, эндотелиальных клетках, мегакариоцитах и тромбоцитах. В некоторых вариантах осуществления высокие уровни экспрессии MerTK также обнаруживаются в яичниках, предстательной железе, яичках, легких, сетчатке и почках. Кроме того, MerTK демонстрирует эктопическую экспрессию или сверхэкспрессию при многих злокачественных новообразованиях (Linger et al, 2008, Adv Cancer Res, 100:35-83).

Активность антител

[0134] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека, но не связывается с MerTK яванского макака. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека, но не связывается с MerTK мыши. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека, но не связывается с MerTK яванского макака и не связывается с MerTK мыши. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека и связывается с MerTK яванского макака. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека и связывается с MerTK яванского макака, но не связывается с MerTK мыши. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека и связывается с MerTK мыши. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека и связывается с MerTK мыши, но не связывается с MerTK яванского макака. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к MerTK, которое связывается с MerTK человека,

MerTK яванского макака и MerTK мыши. Антитело к MerTk, которое связывается с MerTK человека, яванского макака и мыши, полезно для проведения исследований *in vivo* на моделях заболеваний млекопитающих (например, злокачественных новообразований), а также исследований на отличных от человека приматах.

Партнеры по связыванию MerTK

[0135] Белки MerTK по настоящему изобретению взаимодействуют (например, связываются) с одним или более лигандами или партнерами по связыванию, включая, помимо прочего, белок S (ProS или ProS1), ген остановки роста-6 (Gas6), Tubby, Tubby-подобный белок 1 (TULP-1), и галектин-3. Антитела против MerTK по настоящему изобретению могут влиять на взаимодействие MerTK с одним или более его различными лигандами и партнерами по связыванию.

[0136] Были идентифицированы антитела к MerTK по настоящему изобретению, которые блокировали как связывание ProS, так и связывание Gas6 с MerTK, которые блокировали только связывание ProS с MerTK или которые не блокировали связывание ни ProS, ни Gas6 с MerTK. Антитела к MerTK, блокирующие только ProS, не связывались с антителами к MerTK, блокирующими двойной ProS/Gas6 (как показано в приведенных ниже примерах), что предполагает наличие неперекрывающихся эпитопов для этих двух классов антител к MerTK, идентифицированных в данном документе.

[0137] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует (т.е. блокирует) или снижает связывание между MerTK и одним или более лигандами MerTK. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK, но не ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK, но не ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK. В других вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание ProS с MerTK и ингибирует или снижает связывание Gas6 с MerTK. В других вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению не ингибирует и не снижает связывание ProS с MerTK и не ингибирует и не снижает связывание Gas6 с MerTK.

[0138] Значение IC₅₀ для ингибирования или блокирования связывания лиганда Gas6 с MerTK или для ингибирования или блокирования связывания лиганда ProS с MerTK можно определить с использованием методов, известных специалистам в данной области техники, таких как описанные в данном документе в приведенном ниже примере (например, пример 13). В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание лиганда Gas6 или ингибирует или снижает связывание лиганда ProS с MerTK *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание лиганда Gas6 с MerTK человека со значением IC₅₀ в диапазоне от 0,29 нМ до 32 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание лиганда Gas6 с MerTK человека со значением IC₅₀ в диапазоне от 0,29 нМ до 1,0 нМ, в диапазоне от 1,0 нМ до 5 нМ, в диапазоне от 5 нМ до 10 нМ, в диапазоне от 10 нМ до 25 нМ или в диапазоне от 25 нМ до 32 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание лиганда ProS с MerTK человека со значением IC₅₀ в диапазоне от 0,58 нМ до 25,9 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание лиганда ProS с MerTK

человека со значением IC50 в диапазоне от 0,58 нМ до 1 нМ, в диапазоне от 1 нМ до 2,5 нМ, в диапазоне от 2,5 нМ до 5 нМ, в диапазоне от 5 нМ до 10 нМ, в диапазоне от 10 нМ до 25 нМ.

[0139] Относительную эффективность антитела в снижении или ингибировании связывания ProS и Gas6 с MerTK можно определить, используя такие значения IC50. Например, антитело, которое ингибирует связывание Gas6 с MerTK при значении IC50, которое в 1,7 раза превышает его значение IC50 для ингибирования связывания ProS с MerTK, в 1,7 раза более эффективно в снижении или ингибировании связывания ProS с MerTK, чем в снижении или ингибировании связывания Gas6 с MerTK. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK в по меньшей мере 1,7 раза, по меньшей мере 2,3 раза, по меньшей мере 2,4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 7,7 раза или в по меньшей мере 8,5 раза более эффективно в снижении или ингибировании связывания ProS с MerTK, чем в снижении или ингибировании связывания Gas6 с MerTK.

[0140] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание лиганда Gas6 с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере на 25, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95% по сравнению со связыванием лиганда Gas6 с MerTK в отсутствие антитела к MerTK по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает связывание лиганда ProS с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95% по сравнению со связыванием лиганда ProS с MerTK в отсутствие антитела к MerTK по настоящему изобретению. Процентное ингибирование или уменьшение связывания лиганда Gas6 с MerTK или связывания лиганда ProS с MerTK можно определить путем измерения значений IC50 с использованием стандартных методов, известных специалистам в данной области техники, таких как описанные в данном документе в Примере 13.

[0141] Кроме того, в данном документе предложены способы скрининга антител к MerTK, которые связывают MerTK и которые блокируют или уменьшают взаимодействие между MerTK и одним или более лигандами MerTK или партнерами по связыванию.

pAKT

[0142] Активность АКТ является последующей мишенью связывания Gas6 с рецепторами MerTK, Axl или Tyro-3. Например, связывание лиганда MerTK Gas6 с MerTK индуцирует фосфорилирование АКТ (pAKT) (см., например, Angelillo-Scherrer et al, 2008, J Clin Invest, 118:583-596; Moody et al, 2016, Int J Cancer, 139:1340-1349). Антитела к MerTK по настоящему изобретению были эффективны в дозозависимом ингибировании опосредованной Gas6 активности фосфо-АКТ (pAKT) в макрофагах человека (например, макрофагах M2c). Соответственно, антитела к MerTK по настоящему изобретению были эффективны в ингибировании опосредованного Gas6 сигналинга MerTK, о чем свидетельствует ингибирование уровней pAKT. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует или снижает опосредованную Gas6 активность pAKT *in vitro*.

[0143] Относительную эффективность антитела к MerTK в снижении или ингибировании активности pAKT в клетке можно определить путем измерения значений IC50. Значения IC50 для ингибирования опосредованной Gas6 активности pAKT могут быть определены с использованием методов, известных специалисту в данной области техники, таких как описанные ниже в примере 22. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует опосредованную Gas6 активность

рАКТ в макрофагах (например, макрофагах M2c) со значением IC50 в диапазоне от 0,019 нМ до 7,74 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению ингибирует опосредованную Gas6 активность рАКТ в макрофагах (например, макрофагах M2c) со значением IC50 от 0,019 нМ до 0,25 нМ, от 0,25 нМ до 0,50 нМ, от 0,50 нМ до 1,0 нМ, от 1,0 нМ до 2,5 нМ, от 2,5 нМ до 5,0 нМ или от 5,0 нМ до 10 нМ.

Эффероцитоз

[0144] Эффероцитоз относится к фагоцитарному клиренсу умирающих или апоптотических клеток. Эффероцитоз может осуществляться профессиональными фагоцитами (например, макрофагами, дендритными клетками, микроглией), непрофессиональными фагоцитами (например, эпителиальными клетками, фибробластами, клетками пигментного эпителия сетчатки) или специализированными фагоцитами. (Elliott et al, 2017, J Immunol, 198:1387-1394). Эффероцитоз приводит к удалению мертвых или умирающих клеток до того, как нарушается целостность их мембраны и их клеточное содержимое просачивается в окружающие ткани, тем самым предотвращая воздействие на ткани токсичных ферментов, окислителей и других внутриклеточных компонентов.

[0145] Апоптотические клетки экспонируют на своей клеточной поверхности множество молекул (сигналы «съешь меня»), которые распознаются рецепторами фагоцитов. Одной из таких сигнальных молекул «съешь меня» является фосфатидилсерин (PtdSer), который, как правило, ограничен внутренним листком клеточной мембраны. Во время апоптоза PtdSer подвергается воздействию внешнего листка клеточной мембраны. Лиганды MerTK ProS и Gas6 содержат гамма-карбоксилированные остатки глутаминовой кислоты вблизи своих N-концевых доменов; гамма-карбоксилирование домена глутаминовой кислоты делает возможным связывание с фосфатидилсерином. Gas6 или ProS связываются с PtdSer на апоптотических клетках и одновременно связываются с MerTK на фагоцитах. Такое взаимодействие лиганда с MerTK активирует эффероцитоз.

[0146] Как показано в приведенных ниже примерах, антитела к MerTK по настоящему изобретению были эффективны в снижении или уменьшении эффероцитоза различных фагоцитов. Антитела к MerTK, которые блокируют связывание только ProS с MerTK, показали сильное ингибирование эффероцитоза, имея IC50, сравнимую с таковой у антител к MerTK, которые блокируют связывание ProS и Gas6 с MerTK. Учитывая, что генетический дефицит как ProS, так и Gas6 необходим для развития потери зрения в результате дегенерации сетчатки (одиночные генетические нокауты ProS или Gas6 не приводили к патологиям сетчатки), антитела к MerTK, которые являются блокаторами ProS, могут обеспечить улучшенный терапевтический индекс для применения в противоопухолевых ответах, не вызывая проблем с токсичностью глаз.

[0147] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитами. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз макрофагами. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз дендритными клетками. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз макрофагами костномозгового происхождения. В некоторых вариантах реализации антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитами на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70 %, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95 % по сравнению с уровнем эффероцитоза фагоцитов в отсутствие антитела к MerTK. Процент снижения эффероцитоза можно

определить с использованием стандартных способов, известных специалистам в данной области техники, таких как описанные в данном документе в Примере 11.

[0148] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитом (например, макрофагом человека) со значением IC₅₀ в диапазоне от около 0,13 нМ до около 30 нМ по оценке с помощью способов, описанных в данном документе в примере ниже (например, примере 11). В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению снижает или уменьшает эффероцитоз фагоцитом со значением IC₅₀ в диапазоне от 0,13 нМ до 1,0 нМ, в диапазоне от 1 нМ до 5 нМ, в диапазоне 5 нМ до 10 нМ или в диапазоне от 10 нМ до 30 нМ.

[0149] Блокирование эффероцитоза вызывает M1-подобную поляризацию макрофагов, что приводит к увеличению продукции провоспалительных цитокинов (например, TNF, IFN, IL-12) и рекрутированию цитотоксических клеток, таких как CD8⁺ Т-клетки и натуральные клетки-киллеры, которые опосредуют противоопухолевый иммунитет. Снижая эффероцитоз фагоцитами, антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны в повышении M1-подобной поляризации макрофагов и в повышении продукции, экспрессии и/или секреции провоспалительных цитокинов/хемокинов, включая TNF, IFN, IL-6, IL-1, IL-12, лиганд 1 хемокина (мотив C-X-C) (CXCL-1, KC), хемоаттрактантный белок-1 моноцитов (MCP1, CCL2), макрофагальный воспалительный белок-1-альфа (MIP-1 α , CCL3) и/или макрофагальный воспалительный белок-1-бета (MIP-1 β , CCL4). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению увеличивает M1-подобную поляризацию макрофагов. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению увеличивает продукцию, экспрессию или секрецию макрофагами одного или более провоспалительных цитокинов. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению увеличивает продукцию, экспрессию или секрецию макрофагами TNF, IFN, IL-6, IL-1, IL-12, CXCL-1, MCP1, MIP-1 α , и/или MIP-1 β .

[0150] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ увеличения продукции, экспрессии и/или секреции провоспалительных цитокинов у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту антитела к MerTK по настоящему изобретению таким образом, что продукция, экспрессия и/или секреция одного или более провоспалительных цитокинов у субъекта повышается. В некоторых вариантах осуществления повышается продукция, экспрессия и/или секреция TNF. В некоторых вариантах осуществления повышается продукция, экспрессия и/или секреция IFN. В некоторых вариантах осуществления повышается продукция, экспрессия и/или секреция IL-12. В некоторых вариантах осуществления повышается продукция, экспрессия и/или секреция CXCL-1. В некоторых вариантах осуществления повышается продукция, экспрессия и/или секреция MCP1. В некоторых вариантах осуществления повышается продукция, экспрессия и/или секреция MIP-1 α . В некоторых вариантах осуществления повышается продукция, экспрессия и/или секреция MIP-1 β .

[0151] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложен способ увеличения M1-подобной поляризации макрофагов у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту антитела к MerTK по настоящему изобретению таким образом, что M1-подобная поляризация макрофагов у субъекта увеличивается. Повышенную M1-подобную поляризацию макрофагов измеряют различными способами, известными специалистам в данной области техники, такими как повышенная продукция, экспрессия или секреция одного или более провоспалительных цитокинов, включая TNF, IFN, IL-12, CXCL1, MCP1, MIP-1 α , и/или MIP-1 β .

[0152] Описана связь между эффероцитозом и прогрессированием злокачественного новообразования. Например, блокада эффероцитоза с помощью аннексина V, который блокирует взаимодействие PtdSer с

элементами цепи эффероцитоза фагоцитов, в достаточной степени снижает прогрессирование опухоли и метастазирование (Stach et al, 2000, Cell Death Diff, 7:911; Bondanza et al, 2004, J Exp Med, 200:1157; Werfel and Cook, 2018, Sem Immunopathology, 40:545-554). Кроме того, MerTK коррелирует с плохим прогнозом и выживаемостью при многочисленных злокачественных новообразованиях человека, как и его мостиковый лиганд Gas6 PtdSer (Graham et al, 2014, Nat Rev Cancer, 14:769; Linger et al, 2010, Expert Opin Ther Targets, 14:1073-1090; Wang et al, 2013, Oncogene, 32:872; Jansen et al, 2011, J Proteome Res, 11:728-735; Tworokski et al, 2011, Mol Cancer Res, p.molcanres-0512; Graham et al, 2006, Clin Cancer Res, 12:2662-2669; Keating et al, 2006, Oncogene, 25:6092). Соответственно, антитела к MerTK по настоящему изобретению, которые уменьшают эффероцитоз фагоцитами, таким образом, эффективны в снижении прогрессирования опухоли и метастазирования.

[0153] Исследования на яванских макаках показали, что в некоторых случаях антитела к MerTK, которые блокируют связывание как с Gas6, так и с ProS (например, антитело к MerTK MTK-16), проявляли меньшую токсичность *in vivo* (например, потерю массы) по сравнению с тем, что наблюдалось у яванских макаков, которым вводили антитело к MerTK, которое блокирует связывание ProS с MerTK, но не блокирует связывание Gas6 с MerTK (например, антитело к MerTK MTK-15 или MTK-29). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению, которое блокирует связывание как Gas6, так и ProS с MerTK, может проявлять меньшую системную токсичность *in vivo* по сравнению с антителом к MerTK по настоящему изобретению, которое блокирует связывание ProS с MerTK, но не блокирует связывание Gas6 с MerTK. Антитело к MerTK MTK-16 (которое блокирует связывание как Gas6, так и ProS с MerTK) связывается с доменом Ig1 белка MerTK, в то время как антитела к MerTK MTK-15 и MTK-29 (которые блокируют связывание ProS с MerTK, но которые не блокируют связывание Gas6 с MerTK) связываются как с доменом Ig2, так и с доменом FN1 белка MerTK. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK, которое связывается с доменом Ig1 MerTK, может проявлять меньшую системную токсичность *in vivo*, чем антитело к MerTK, которое связывается как с доменом Ig2, так и с доменом FN1 MerTK.

A. Иллюстративные антитела и некоторые другие варианты осуществления антител

[0154] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, и 98; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, и 124; (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, и 157; (d) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, и 186; (e) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, и 205; и (f) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, и 233.

[0155] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK,

содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H , выбранные из (а) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, и 98; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, и 124; и (с) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, и 157.

[0156] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела против MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L , выбранные из (а) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, и 186; (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, и 205; и (с) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, и 233.

[0157] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие (а) домен V_H , содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H , выбранные из (i) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, и 98, (ii) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, и 124, и (iii) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, и 157, и (b) домен V_L , содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L , выбранные из (i) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, и 186, (ii) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, и 205, и (iii) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, и 233.

[0158] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие: (а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:75; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:125; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:207; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:100; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную

включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:95; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:119; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:151; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:208; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:120; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:182; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:202; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:230; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:96; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:118; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:183; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:202; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:230; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:96; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:121; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:154; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:122; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:184; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:97; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:123; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:185; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:204; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:232; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:98; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:124; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:186; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:205; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233.

[0159] В еще одном аспекте антитело к MerTK содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (V_H), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, и 39. В некоторых вариантах осуществления последовательность V_H , которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной

последовательностью, выбранной из группы состоящий из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, и 39, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В определенных вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, или 39. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, или 39. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_H SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, или 39, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_H содержит одну, две или три HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 75-98, (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99-124, и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 125-157.

[0160] В другом аспекте предложено антитело к MerTK, причем антитело содержит вариабельный домен легкой цепи (V_L), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, и 74. В некоторых вариантах осуществления последовательность V_L, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы состоящий из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, и 74, и содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, или 74. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, или 74. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_L SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, или 74, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_L содержит одну, две или три HVR, выбранных из (a) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158-186, (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 187-205, и (c) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 207-233.

[0161] В некоторых вариантах осуществления представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит

V_H, как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L, как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, причем антитело содержит V_H, как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L, как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В одном варианте осуществления антитело содержит последовательности V_H и V_L в SEQ ID NO:5-39 и SEQ ID NO:40-74, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

[illegible]

последовательность SEQ ID NO:30, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:31, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:32, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:34, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:71; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:37, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:72; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73; и V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:39, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:74.

[0163] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 329, 330, 331, 332 и 333; (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 138, 334, 335, 336, 337, 338 и 339; (d) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 340, 341, 342, 343 и 344; (e) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210.

[0164] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности V_H HVR, выбранные из (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 329, 330, 331, 332 и 333; и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 138, 334, 335, 336, 337, 338 и 339.

[0165] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности V_L HVR, выбранные из (a) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:158, 340, 341, 342, 343 и 344; (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (c) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210.

[0166] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие (a) домен V_H, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H, выбранные из (i) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, (ii) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 329, 330, 331, 332 и 333, и (iii) HVR-H3, включающей выбранную аминокислотную последовательность из группы, состоящей из SEQ ID NO: 138, 334, 335, 336, 337, 338 и 339, и (b) домен V_L, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L, выбранные из (i) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из

группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 340, 341, 342, 343 и 344, (ii) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187, и (iii) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 210.

консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В определенных вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены, и/или удалены в SEQ ID NO: 19, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, или 246. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 19, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, или 246. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_H SEQ ID NO: 19, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, или 246, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_H содержит один, две или три HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 83, (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 329, 330, 331, 332, и 333, и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 138, 334, 335, 336, 337, 338, и 339.

[0169] В еще одном аспекте предложено антитело к MerTK, причем антитело содержит вариабельный домен легкой цепи (V_L), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 54, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253 и 254. В определенных вариантах осуществления последовательность V_L , имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 54, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, и 254, и, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 54, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, или 254. В определенных вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 54, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, или 254. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_L SEQ ID NO: 54, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, или 254, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_L содержит одну, две или три HVR, выбранные из (a) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 340, 341, 342, 343 и 344, (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187, и (c) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 210.

[0170] В некоторых вариантах осуществления представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В одном варианте осуществления антитело содержит последовательности V_H и V_L в SEQ ID NO: 19, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245 и 246 и SEQ ID NO: 54, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253 и 258, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

[0171] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK,

содержащие вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L), причем V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:54; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:248; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:239, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:241, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:244, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:245, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; и V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254.

[0172] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99 и 329; (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:169 и 345; (e) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

[0173] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H , выбранные из (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99 и 329; и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139.

[0174] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L , выбранные из (a) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы,

состоящей из SEQ ID NO:169 и 345; (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (c) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

[0175] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие (a) домен V_H , содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H , выбранные из (i) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84, (ii) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 329, и (iii) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 139, и (b) домен V_L , содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L , выбранные из: (i) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 169 и 345, (ii) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 195, и (iii) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 219.

В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие: (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219; и (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:345; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

[0176] В еще одном аспекте антитело к MerTK содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (V_H), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:20, 255, и 256. В определенных вариантах осуществления последовательность V_H , которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20, 255, и 256, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В определенных вариантах осуществления в SEQ ID NO: 20, 255, или 256 было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот. В определенных вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 20, 255, или 256. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_H

SEQ ID NO: 20, 255, или 256, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_H содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84, (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:99 и 329, и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139.

[0177] В еще одном аспекте представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи (V_L), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 55, 257, и 258. В определенных вариантах осуществления последовательность V_L , которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 55, 257, и 258, и содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 55, 257, или 258. В определенных вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 55, 257, или 258. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_L SEQ ID NO: 55, 257, или 258, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_L содержит одну, две или три HVR, выбранных из (a) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 169 и 345, (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 195, и (c) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 219.

[0178] В некоторых вариантах осуществления представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В одном варианте осуществления антитело содержит последовательности V_H и V_L в SEQ ID NO:20, 255 и 256 и SEQ ID NO:55, 257 и 258, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

[0179] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), при этом V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:257; и V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:256, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:258.

[0180] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 346 и 347; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 119, 348, 349, 350, 351, 352, 353 и 354; (c) HVR-H3, включающей аминокислотную

последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:151, 355 и 356; (d) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 181, 341, 357 и 358; (e) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:187 и 359; и (f) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 208, 360, 361 и 362.

[0181] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H , выбранные из (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 346 и 347; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 119, 348, 349, 350, 351, 352, 353 и 354; и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 355 и 356.

[0182] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L , выбранные из (a) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:181, 341, 357 и 358; (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:187 и 359; и (c) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:208, 360, 361 и 362.

[0183] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие (a) домен V_H , содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H , выбранные из (i) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 95, 346, и 347, (ii) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 119, 348, 349, 350, 351, 352, 353 и 354, и (iii) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 355, и 356, и (b) домен V_L , содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L , выбранные: (i) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 181, 341, 357, и 358, (ii) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 187 и 359, и (iii) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 208, 360, 361, и 362.

[0184] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:95; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:119; (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:151; (d) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181; (e) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:208; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:346; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:348; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:355; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:341; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:360; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:95; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную

[illegible]

включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:346; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:354; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:356; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:341; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:359; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:363; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:346; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:348; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:356; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:357; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:359; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:362; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:346; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:354; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:356; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:358; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:362; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:95; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:348; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:151; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:208.

[0185] В еще одном аспекте антитело к MerTK содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи (V_H), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:33, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, и 273. В определенных вариантах осуществления последовательность V_H , которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 33, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, и 273, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В определенных вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены, и/или удалены в SEQ ID NO: 33, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, или 273. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 33, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, или 273. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_H SEQ ID NO: 33, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, или 273, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_H содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 346 и 347, (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:119, 348, 349, 350, 351, 352, 353 и 354, и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 355 и 356.

[0186] В еще одном аспекте представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит вариабельный домен легкой цепи (V_L), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 68, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, и 289. В определенных вариантах осуществления последовательность V_L , которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 68, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, и 289, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 68, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, или 289. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 68, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, или 289. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Антитело к MerTK необязательно содержит последовательность V_L SEQ ID NO: 68, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, или 289, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_L содержит одну, две или три HVR, выбранных из (а) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 181, 341, 357, и 358, (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 187 и 359, и (с) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 208, 360, 361, и 362.

[0187] В некоторых вариантах осуществления представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В одном варианте осуществления антитело содержит последовательности V_H и V_L в SEQ ID NO: 33, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272 и 273 и SEQ ID NO: 68, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288 и 289, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

[0188] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие вариабельный домен тяжелой цепи (V_H) и вариабельный домен легкой цепи (V_L), причем V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 259, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 274; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 260, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 275; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 261, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 276; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 262, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 277; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 263, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID

NO:277; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:265, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:266, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:267, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:278; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:268, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:279; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:269, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:279; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:280; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:270, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:281; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:265, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:282; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:283; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:271, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:284; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:272, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:285; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:271, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:286; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:287; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:288; и V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:289.

[0189] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 122, 364, 365, 366, 367 и 368; (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:155, 373, 374 и 375; (d) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 184, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386 и 387; (e) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 203, 388, 389, 390 и 391; и (f) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231, 392, 393 и 394.

[0190] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H, выбранные из (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 122, 364, 365, 366, 367, и 368; и (c) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 155, 373, 374, и 375.

[0191] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK,

содержащие по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L, выбранные из: (a) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 184, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386 и 387; (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 203, 388, 389, 390 и 391 и (c) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 203, 388, 389, 390, и 391

[0192] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие (a) домен V_H, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_H, выбранные из (i) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90, (ii) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 122, 364, 365, 366, 367, и 368, и (iii) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 155, 373, 374, и 375, и (b) домен V_L, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности HVR V_L, выбранные из (i) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 184, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386 и 387, (ii) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 203, 388, 389, 390 и 391, и (iii) HVR-L3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231, 392, 393, и 394.

[0193] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие: (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:122; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:184; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:364; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:373; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:376; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:388; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:364; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:377; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:364; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:374; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:378; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:95; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:119; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:356; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:341; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:372; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:378; (е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:391; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:394; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:368; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:375; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:386; (е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:394; (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:368; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:387; (е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:394.

[0194] В еще одном аспекте антитело к MerTK содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (V_H), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:37, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, и 308. В некоторых вариантах осуществления последовательность V_H , которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы состоящий из SEQ ID NO: 37, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307 и 308, содержит замены (например, консервативные замены), вставки, или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В определенных вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 37, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, или 308. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 37, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, или 308. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_H SEQ ID NO: 37, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, или 308, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_H содержит одну, две или три HVR, выбранные из: (a) HVR-H1, включающей аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:122, 364, 365, 366, 367, и 368, и (с) HVR-H3, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 155, 373, 374 и 375.

[0195] В еще одном аспекте представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи (V_L), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:72, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 316, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, и 328. В определенных вариантах осуществления последовательность V_L , которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной

последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 72, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 316, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, и 328, и содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к MerTK, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с MerTK. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 10 аминокислот были заменены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 72, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 316, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, или 328. В некоторых вариантах осуществления в общей сложности от 1 до 5 аминокислот были замещены, вставлены и/или удалены в SEQ ID NO: 72, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 316, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, или 328. В определенных вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами HVR (т.е. в FR). Необязательно, антитело к MerTK содержит последовательность V_L SEQ ID NO: 72, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 316, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, или 328, включая посттрансляционные модификации этой последовательности. В конкретном варианте осуществления V_L содержит одну, две или три HVR, выбранные из (а) HVR-L1, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 184, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, и 387, (b) HVR-L2, включающей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 203, 388, 389, 390 и 391, и (с) HVR-L3, содержащая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231, 392, 393, и 394.

[0196] В некоторых вариантах осуществления представлено антитело к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, причем антитело содержит V_H , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше, и V_L , как в любом из вариантов осуществления, представленных выше. В одном варианте осуществления антитело содержит последовательности V_H и V_L в SEQ ID NO: 37, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, и 308, и SEQ ID NO: 72, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 316, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, и 328, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

[0197] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлены антитела к MerTK, содержащие переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 72; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 309; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 310; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 292, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 311; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 293, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 312; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 294, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 313; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 295, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 314; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 315; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 290, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 316; V_H , включающего аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:297, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:317; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:298, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:318; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:292, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:319; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:299, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:320; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:300, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:311; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:301, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:321; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:302, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:322; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:303, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:311; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:304, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:322; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:305, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:322; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:301, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:323; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:301, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:324; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:301, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:325; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:306, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:326; V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:307, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:327; и V_H, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:308, и V_L, включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:328.

[0198] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению конкурентно ингибирует связывание по меньшей мере одного эталонного антитела, выбранного из MTK-01, MTK-02, MTK-03, MTK-04, MTK-05, MTK-06, MTK-07, MTK-08, MTK-09, MTK-10, MTK-11, MTK-12, MTK-13, MTK-14, MTK-15 (включая MTK-15.1, MTK-15.2, MTK-15.3, MTK-15.4, MTK-15.5, MTK-15.6, MTK-15.7, MTK-15.8, MTK-15.9, MTK-15.10, MTK-15.11, MTK-15.12, MTK-15.13, MTK-15.14, и MTK-15.15), MTK-16 (включая MTK-16.1 и MTK-16.2), MTK-17, MTK-18, MTK-19, MTK-20, MTK-21, MTK-22, MTK-23, MTK-24, MTK-25, MTK-26, MTK-27, MTK-28, MTK-29 (включая MTK-29.1, MTK-29.2, MTK-29.3, MTK-29.4, MTK-29.5, MTK-29.6, MTK-29.7, MTK-29.8, MTK-29.9, MTK-29.10, MTK-29.11, MTK-29.12, MTK-29.13, MTK-29.14, MTK-29.15, MTK-29.16, MTK-29.17, MTK-29.18, MTK-29.19, MTK-29.20, и MTK-29.21), MTK-30, MTK-31, MTK-32, MTK-33 (включая MTK-33.1, MTK-33.2, MTK-33.3, MTK-33.4, MTK-33.5, MTK-33.6, MTK-33.7, MTK-33.8, MTK-33.9, MTK-33.10, MTK-33.11, MTK-33.12, MTK-33.13, MTK-33.14, MTK-33.15, MTK-33.16, MTK-33.17, MTK-33.18, MTK-33.19, MTK-33.20, MTK-33.21, MTK-33.22, MTK-33.23, и MTK-33.24), MTK-34, MTK-35, и MTK-36, и любой их комбинации, в отношении связывания с MerTK.

[0199] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с эпитопом MerTK человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом MerTK, связанным по меньшей мере с одним эталонным антителом, выбранным из MTK-01, MTK-02, MTK-03, MTK-04, MTK-05, MTK-06, MTK-07, MTK-08, MTK-09, MTK-10, MTK-11, MTK-12, MTK-13, MTK-14, MTK-15 (включая MTK-15.1, MTK-15.2, MTK-15.3, MTK-15.4, MTK-15.5, MTK-15.6, MTK-15.7, MTK-15.8, MTK-15.9, MTK-

15.10, МТК-15.11, МТК-15.12, МТК-15.13, МТК-15.14, и МТК-15.15), МТК-16 (включая МТК-16.1 и МТК-16.2), МТК-17, МТК-18, МТК-19, МТК-20, МТК-21, МТК-22, МТК-23, МТК-24, МТК-25, МТК-26, МТК-27, МТК-28, МТК-29 (включая МТК-29.1, МТК-29.2, МТК-29.3, МТК-29.4, МТК-29.5, МТК-29.6, МТК-29.7, МТК-29.8, МТК-29.9, МТК-29.10, МТК-29.11, МТК-29.12, МТК-29.13, МТК-29.14, МТК-29.15, МТК-29.16, МТК-29.17, МТК-29.18, МТК-29.19, МТК-29.20, и МТК-29.21), МТК-30, МТК-31, МТК-32, МТК-33 (включая МТК-33.1, МТК-33.2, МТК-33.3, МТК-33.4, МТК-33.5, МТК-33.6, МТК-33.7, МТК-33.8, МТК-33.9, МТК-33.10, МТК-33.11, МТК-33.12, МТК-33.13, МТК-33.14, МТК-33.15, МТК-33.16, МТК-33.17, МТК-33.18, МТК-33.19, МТК-33.20, МТК-33.21, МТК-33.22, МТК-33.23, и МТК-33.24), МТК-34, МТК-35, и МТК-36. Подробное описание иллюстративных способов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлено в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

[0200] В некоторых вариантах осуществления антитело к МерТК по настоящему изобретению конкурентно ингибирует связывание по меньшей мере одного эталонного антитела или связывается с эпитопом МерТК человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом МерТК, связанным по меньшей мере одним эталонным антителом, причем эталонное антитело представляет собой антитело к МерТК, содержащее переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), при этом V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:7, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:8, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:43; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:44; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:45; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:47; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:48; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:49; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:15, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:50; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:51; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:53; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:54; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:56; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58; V_H , включающего аминокислотную

[illegible]

NO:415 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:421; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:416 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:421; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:417 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:421; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:418 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:421; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:419 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:421; или аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:420 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:421.

[0204] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит полноразмерную аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428 или 429 и полноразмерную аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: 430. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:422 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:423 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:424 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:425 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:426 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:427 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:428 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430; или аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:429 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:430.

[0205] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит полноразмерную аминокислотную последовательность тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO:259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, или 273, и Fc тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 396-411; и содержит полноразмерную аминокислотную последовательность легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, или 289, и Fc легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 412.

[0206] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит полноразмерную аминокислотную последовательность тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность вариабельной области тяжелой цепи SEQ ID NO: 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, или 308, и Fc тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 396-411; и содержит полноразмерную аминокислотную последовательность легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность вариабельной области легкой цепи SEQ ID NO:309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, или 328, и Fc легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:412.

[0207] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит полноразмерную аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, или 438 и полноразмерную аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: SEQ ID

NO:439. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:431 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:432 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:433 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:434 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:435 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:436 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:437 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439; или аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:438 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:439.

[0209] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит полноразмерную аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, или 447 и полноразмерную аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO: SEQ ID NO:448. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:440 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:441 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:442 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:443 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:444 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:445 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448; аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:446 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448; или аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:447 и аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:448.

[0210] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению конкурентно ингибирует связывание по меньшей мере одного эталонного антитела или связывается с эпитопом MerTK человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом MerTK, связанным по меньшей мере одним эталонным антителом, причем эталонное антитело представляет собой антитело к MerTK, содержащее переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), при этом V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:54; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:248; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:239, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:241, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:244, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:245, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; и V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254.

[0211] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению конкурентно ингибирует связывание по меньшей мере одного эталонного антитела или связывается с эпитопом MerTK человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом MerTK, связанным по меньшей мере с одним эталонным антителом, при этом эталонное антитело представляет собой антитело к MerTK, содержащее переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20 и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:257; и V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:256, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:258.

[0212] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению конкурентно ингибирует связывание по меньшей мере одного эталонного антитела или связывается с эпитопом MerTK

человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом MerTK, связанным по меньшей мере одним эталонным антителом, причем эталонное антитело представляет собой антитело к MerTK, содержащее переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), при этом V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:259, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:274; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:260, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:275; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:261, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:276; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:262, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:263, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:265, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:266, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:277; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:267, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:278; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:268, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:279; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:269, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:279; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:280; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:270, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:281; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:265, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:282; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:264, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:283; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:271, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:284; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:272, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:285; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:271, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:286; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:287; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:288; и V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:273, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:289.

[0213] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению конкурентно ингибирует связывание по меньшей мере одного эталонного антитела или связывается с эпитопом MerTK человека, который является таким же или перекрывается с эпитопом MerTK, связанным по меньшей мере одним эталонным антителом, причем эталонное антитело представляет собой антитело к MerTK, содержащее переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), при этом V_H и V_L выбраны

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 425, а легкая цепь включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO:430. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь и легкую цепь, при этом тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 426, а легкая цепь включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO:430. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь и легкую цепь, при этом тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 427, а легкая цепь включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO:430.

[0217] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит: (a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H) и

с одним или более доменами внутри внеклеточного домена MerTK человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с иммуноглобулиноподобным доменом 1 (Ig1) и доменом 1 фибронектина III типа (FN1) MerTK человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с иммуноглобулиноподобным доменом 2 (Ig2) и доменом 1 фибронектина III типа (FN1) MerTK человека.

[0220] В определенных вариантах осуществления антитело к MerTK в соответствии с любым из вышеуказанных вариантов осуществления представляет собой моноклональное антитело, включая гуманизированное антитело и/или антитело человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK представляет собой фрагмент антитела, например, фрагмент Fv, Fab, Fab', scFv, диатело или фрагмент F(ab')₂. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK представляет собой по существу полноразмерное антитело, например, антитело IgG1, антитело IgG2a или антитело другого класса или изотипа, как определено в данном документе.

[0221] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK в соответствии с любым из вышеперечисленных вариантов осуществления может включать любой из признаков, по отдельности или в комбинации, как описано в разделах 1-7 ниже:

(1) *Аффинность связывания антител к MerTK*

[0222] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител, антитело имеет константу диссоциации (K_D), равную $< 1 \text{ мкМ}$, $< 100 \text{ нМ}$, $< 10 \text{ нМ}$, $< 1 \text{ нМ}$, $< 0,1 \text{ нМ}$, $< 0,01 \text{ нМ}$, или $< 0,001 \text{ нМ}$ (например, 10^{-8} М или менее, например, от 10^{-8} М до 10^{-13} М , например, от 10^{-9} М до 10^{-13} М). Константы диссоциации могут быть определены с помощью любого аналитического метода, включая любой биохимический или биофизический метод, такой как ИФА, поверхностный плазмонный резонанс (ППР), биослойную интерферометрию (см., например, Octet System от ForteBio), изотермическую титрационную калориметрию (ИКТ), дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК), круговой дихроизм (КД), анализ с остановленным потоком и колориметрические или флуоресцентные анализы плавления белков. В одном варианте осуществления K_D измеряют с помощью анализа связывания антигена, меченного радиоактивным изотопом (РИА). В некоторых вариантах осуществления РИА выполняется с Fab-версией представляющего интерес антитела и его антигена, например, как описано в Chen et al. *J. Mol. Biol.* 293:865-881(1999)). В некоторых вариантах осуществления K_D измеряют с использованием анализа поверхностного плазмонного резонанса BIACORE, например, анализа с использованием BIACORE -2000 или BIACORE -3000 (BIAcore, Inc., Пискатауэй, штат Нью-Джерси) проводят при 25°C с чипом иммобилизованных антигенов CM5 на ~ 10 единиц ответа (RU). В некоторых вариантах осуществления K_D определяют с использованием моновалентного антитела (например, Fab) или полноразмерного антитела. В некоторых вариантах осуществления K_D определяют с использованием полноразмерного антитела в моновалентной форме.

[0223] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с MerTK человека, где K_D связывания с MerTK человека составляет от около $1,4 \text{ нМ}$ до около 81 нМ . В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK связывается с MerTK яванского макака, где K_D связывания с MerTK яванского макака составляет от около $1,6 \text{ нМ}$ до около 107 нМ . В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению связывается с мышинным MerTK, где K_D связывания с мышинным MerTK составляет от около 30 нМ до около 186 нМ .

(2) *Фрагменты антител*

[0224] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе,

антитело представляет собой фрагмент антитела. Фрагменты антител включают фрагменты Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, и scFv, и другие фрагменты, описанные ниже. Для обзора некоторых фрагментов антител см. Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Для обзора фрагментов scFv см., например, WO 93/16185; и патенты США №№ 5571894 и 5587458. Обсуждения фрагментов Fab и F(ab')₂, содержащих остатки эпитопа, связывающего рецептор реутилизации, и имеющих увеличенный период полужизни *in vivo*, приведены в патенте США № 5869046.

[0225] Диатела представляют собой фрагменты антител с двумя антигенсвязывающими сайтами, которые могут быть двухвалентными или биспецифическими. См., например, EP404097; WO 1993/01161; Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Триатела и тетраатела также описаны в Hudson et al. *Nat. Med.* 9:129-134 (2003). Однодоменные антитела представляют собой фрагменты антител, которые содержат весь или часть переменного домена тяжелой цепи, или весь или часть переменного домена легкой цепи антитела. В определенных вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой однодоменное антитело человека (см., например, патент США № 6248516).

[0226] Фрагменты антител могут быть получены различными способами, включая, без ограничений, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также получение при помощи рекомбинантных клеток-хозяев (например, *E. coli* или фага), как описано в данном документе.

(3) *Химерные и гуманизированные антитела*

[0227] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, антитело представляет собой химерное антитело. Некоторые химерные антитела описаны, например, в патенте США № 4816567. В одном примере химерное антитело содержит нечеловеческую переменную область (например, переменную область, полученную от мыши, крысы, хомяка, кролика или отличного от человека примата, такого как обезьяна) и константную область человека. В дополнительном примере, химерное антитело представляет собой антитело с «переключенным классом», в котором класс или подкласс был изменен по сравнению с исходным антителом. Химерные антитела включают их антигенсвязывающие фрагменты.

[0228] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, антитело представляет собой гуманизированное антитело. Как правило, антитело нечеловеческого происхождения гуманизируют с целью снижения иммуногенности для человека, сохраняя при этом специфичность и аффинность исходного антитела нечеловеческого происхождения. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело является по существу неиммуногенным для человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело имеет по существу такую же аффинность к мишени, что и антитело другого вида, из которого получено гуманизированное антитело. См., например, патенты США №№ 5530101, 5693761; 5693762; и 5585089. В определенных вариантах осуществления идентифицированы аминокислоты переменного домена антитела, которые можно модифицировать без уменьшения естественной аффинности антигенсвязывающего домена при одновременном снижении его иммуногенности. См., например, патенты США №№ 5766886 и 5869619. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более переменных доменов, в которых HVR (или их части) получают из нечеловеческого антитела, а FR (или их части) получают из последовательностей человеческих антител. Гуманизированное антитело необязательно также будет содержать по меньшей мере часть человеческой константной области. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR в гуманизированном антителе замещены соответствующими остатками нечеловеческого антитела (например, антитела, из которого получены остатки HVR), например, для восстановления или улучшения специфичности или

аффинности антитела.

[0229] Гуманизированные антитела и способы их получения рассмотрены, например, в Almagro et al. *Front. Biosci.* 13:161 9-1633 (2008), и дополнительно описаны, например, в патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321 и 7087409. Человеческие каркасные области, которые можно использовать для гуманизации, включают, но не ограничиваются ими: каркасные области, выбранные с использованием метода «наилучшего соответствия» (см., например, Sims et al. *J. Immunol.* 151:2296 (1993)); каркасные области, полученные из консенсусной последовательности человеческих антител определенной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепи (см., например, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285 (1992); и Presta et al., *J. Immunol.* 151 :2623 (1993)); зрелые каркасные области человека (соматически мутированные) или каркасные области зародышевой линии человека (см., например, Almagro and Fransson *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)); и каркасные области, полученные из скрининговых библиотек FR (см., например, Vaca et al. *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) и Rosok et al. *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)).

(4) Антитела человека

[0230] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, антитело представляет собой антитело человека. Антитела человека можно получить с использованием различных методик, известных в данной области техники. Антитела человека, как правило, описаны в van Dijk et al. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74 (2001) и Lonberg *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008).

[0231] Антитела человека можно получить путем введения иммуногена трансгенному животному, модифицированному с целью продукции интактных антител человека или интактных антител с человеческими вариабельными областями в ответ на антигенную стимуляцию. Можно конструировать линии мышей, дефицитные по выработке мышиных антител, с большими фрагментами локусов человеческого Ig в расчете на то, что такие мыши будут продуцировать антитела человека в отсутствие мышиных антител. Большие фрагменты человеческого Ig могут сохранять большое разнообразие вариабельных генов, а также надлежащую регуляцию продукции и экспрессии антител. С учетом использованного мышинного механизма для диверсификации и селекции антител и отсутствия иммунологической толерантности к белкам человека, репертуар репродуцированных антител человека в этих линиях мышей может давать высокоаффинные полностью человеческие антитела против любого представляющего интерес антигена, включая человеческие антигены. Используя гибридную технологию, можно получать и отбирать антигенспецифичные человеческие мкАТ с желаемой специфичностью. Определенные иллюстративные способы описаны в патентах США №№ 5545807, EP 546073 и EP 546073. Также см., например, патенты США №№ 6075181 и 6150584, в которых описана технология XENOMOUSE™; патент США № 5770429, в котором описана технология HUMAB®; патент США № 7041870, в котором описана технология K-M MOUSE®, и публикацию патентной заявки США № US 2007/0061900, в которой описана технология VELOCIMOUSE®. Человеческие вариабельные области из интактных антител, образованных такими животными, могут дополнительно модифицироваться, например, путем объединения с разными человеческими консервативными областями.

[0232] Антитела человека также можно получать при помощи способов на основе гибридом. Линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мышей и человека также были описаны как пригодные для получения человеческих моноклональных антител. (См., например, Kozbor *J. Immunol.* 133:3001 (1984) и Boerner et al. *J. Immunol.* 147:86 (1991)). Антитела человека, полученные с использованием технологии человеческой В-клеточной гибридомы, описаны в Li et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1 03:3557-3562 (2006). Дополнительные способы включают способы, описанные, например, в патенте США № 7189826 (где описано получение моноклональных антител IgM человека из гибридомных линий клеток). Технология с использованием

человеческих гибридом (технология «Триома») также описана в Vollmers et al. *Histology and Histopathology* 20(3):927-937 (2005) и Vollmers et al. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 27(3):185-91 (2005). Человеческие антитела также можно получать путем выделения последовательностей вариабельного домена клона Fv из библиотек фагового дисплея человеческого происхождения. Такие последовательности вариабельного домена можно затем объединять с требуемым константным доменом человека. Методики отбора человеческих антител из библиотек антител описаны ниже.

[0233] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител, антитело представляет собой антитело человека, выделенное при помощи методов *in vitro* и/или путем скрининга комбинаторных библиотек на антитела с желаемой активностью или активностями. Подходящие примеры включают, но не ограничиваются ими, фаговый дисплей (CAT, Morphosys, Dyax, Biosite/Medarex, Xoma, Symphogen, Alexion (ранее Proliferon), Affimed) рибосомный дисплей (CAT), дрожжевой дисплей (Adimab) и т.п. В некоторых методах фагового дисплея репертуары генов VH и VL отдельно клонируют при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) и повторно комбинируют случайным образом в фаговых библиотеках, которые затем можно подвергнуть скринингу на антигенсвязывающий фаг, как описано в Winter et al. *Ann. Rev. Immunol.* 12: 433-455 (1994). Например, в данной области техники известно множество способов получения библиотек фагового дисплея и скрининга таких библиотек в отношении антител, обладающих необходимыми связывающими характеристиками. См. также Sidhu et al. *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310, 2004; Lee et al. *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093, 2004; Fellouse *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004); и Lee et al. *J. Immunol. Methods* 284(-2):1 19-132 (2004). Фаг, как правило, представляет фрагменты антител, как одноцепочечные фрагменты Fv (scFv), так и фрагменты Fab. Библиотеки из иммунизированных источников позволяют получить антитела с высокой аффинностью к иммуногену без необходимости конструирования гибридом. В качестве альтернативы, можно клонировать наивный репертуар (например, от человека) для получения единого источника антител к широкому спектру чужеродных антигенов и аутоантигенов без иммунизации, как описано в статье Griffiths et al. *EMBO J.* 12: 725-734 (1993). И наконец, наивные библиотеки также можно создавать синтетически, путем клонирования неперестроенных V-генных сегментов из стволовых клеток и применения ПЦР-праймеров, содержащие случайную последовательность, для кодирования гипервариабельных областей HVR3 и для осуществления перестройки *in vitro*, как описано в статье Hoogenboom et al. *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388, 1992. Патентные публикации, в которых описаны фаговые библиотеки антител человека, включают, например: патент США № 5750373 и публикации патентов США №№ 2007/0292936 и 2009/0002360. Антитела, выделенные из библиотек антител человека, считаются в данном документе антителами человека или фрагментами антител человека.

(5) *Константные области, включающие области Fc*

[0234] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, антитело содержит Fc. В некоторых вариантах осуществления Fc относится к изотипу человеческого IgG1, IgG2, IgG3 и/или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA.

[0235] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител, указанное антитело имеет изотип IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG2 человека содержит область Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело индуцирует одну или более активностей MerTK или независимо от связывания с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с ингибирующим Fc-рецептором. В определенных вариантах осуществления

ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий рецептор Fc-гамма IIB (FcγIIB).

[0236] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител, указанное антитело имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область мышиного IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG1 человека содержит область Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с ингибирующим Fc-рецептором. В определенных вариантах осуществления ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий рецептор Fc-гамма IIB (FcγIIB).

[0237] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител, указанное антитело имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область IgG4 человека содержит область Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с ингибирующим Fc-рецептором. В определенных вариантах осуществления ингибирующий Fc-рецептор представляет собой ингибирующий рецептор Fc-гамма IIB (FcγIIB).

[0238] В определенных вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител, указанное антитело имеет гибридный изотип IgG2/4. В некоторых вариантах осуществления антитело включает аминокислотную последовательность, включающую аминокислоты с 118 по 260 в соответствии с нумерацией EU IgG2 человека и аминокислоты 261-447 в соответствии с нумерацией EU IgG4 человека (WO 1997/11971; WO 2007/106585).

[0239] В некоторых вариантах осуществления область Fc увеличивает кластеризацию без активации комплемента по сравнению с соответствующим антителом, содержащим область Fc, которая не содержит аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления антитело индуцирует одну или более активностей мишени, специфически связываемой антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с MerTK.

[0240] Также может быть желательно модифицировать антитело к MerTK по настоящему изобретению для модификации эффекторной функции и/или увеличения периода полужизни антитела в сыворотке. Например, сайт связывания Fc-рецептора в константной области может быть модифицирован или мутирован для удаления или уменьшения аффинности связывания с определенными Fc-рецепторами, такими как FcγRI, FcγRII, и/или FcγRIII для снижения антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности. В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция нарушается путем удаления N-гликозилирования области Fc (например, в домене CH2 IgG) антитела. В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция нарушается путем модификации областей, таких как 233-236, 297 и/или 327-331 IgG человека, как описано в WO 99/58572 и Armour et al. *Molecular Immunology* 40: 585-593 (2003); Reddy et al. *J. Immunology* 164:1925-1933 (2000). В других вариантах осуществления также может быть желательно модифицировать антитело к MerTK по настоящему изобретению, чтобы изменить эффекторную функцию, чтобы повысить селективность обнаружения в отношении ITIM-содержащего FcγRIIb (CD32b) для увеличения кластеризации антител к MerTK на соседних клетках без активации гуморальных ответов, включая антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность и антителозависимый клеточный фагоцитоз.

[0241] Для увеличения времени полужизни антитела в сыворотке можно включить в антитело (особенно во фрагмент антитела) связывающий рецептор реутилизации эпитоп, как описано, например, в патенте США 5739277. Используемый в данном документе термин «эпитоп, связывающий рецептор реутилизации» относится к эпитопу области Fc молекулы IgG (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, или IgG₄), который отвечает за

увеличение *in vivo* времени полужизни в сыворотке молекула IgG. Другие модификации аминокислотной последовательности.

(6) *Варианты антител*

[0242] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител предполагаются варианты аминокислотной последовательности антител. Например, может быть желательно улучшить аффинность связывания и/или другие биологические свойства антитела.

(i) *Варианты замены, вставки и делеции*

[0243] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител предусмотрены варианты антител, имеющие одну или более аминокислотных замен. Варианты аминокислотных последовательностей антитела можно получить путем внесения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции и/или вставки и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела.

Таблица А: Аминокислотные замены

Исходный остаток	Иллюстративные замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Норлейцин	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Норлейцин	Leu

[0244] Существенные модификации биологических свойств антитела осуществляют путем выбора замен, которые существенно отличаются по своему влиянию на сохранение (а) структуры полипептидного остова в области замены, например, в виде складчатой или спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом сайте или (с) объема боковой цепи. Естественным образом встречающиеся в природе остатки возможно разделить на группы, основанные на общих свойствах боковой цепи:

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

[0245] Например, неконсервативные замещения могут предусматривать замену члена одного из данных классов на член другого класса. Такие замещенные остатки могут быть введены, например, в области человеческого антитела, гомологичные с антителами, не являющимися человеческими, или в негомлогичные области молекулы.

[0246] При внесении изменений в полипептид или антитело, описанные в данном документе, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления можно учитывать индекс гидропатичности аминокислот. Каждой аминокислоте был присвоен индекс гидропатичности на основании ее гидрофобности и характеристик изменения. Они представляют собой следующие: изолейцин (+4,5); валин (+4,2); лейцин (+3,8); фенилаланин (+2,8); цистеин/цистин (+2,5); метионин (+1,9); аланин (+1,8); глицин (-0,4); треонин (-0,7); серин (-0,8); триптофан (-0,9); тирозин (-1,3); пролин (-1,6); гистидин (-3,2); глутамат (-3,5); глутамин (-3,5); аспарат (-3,5); аспарагин (-3,5); лизин (-3,9) и аргинин (-4,5).

[0247] Важность индекса гидропатичности аминокислот в придании интерактивной биологической функции белку учитывается в данной области техники. Kyte et al. *J. Mol. Biol.*, 157:105-131 (1982). Известно, что некоторые аминокислоты могут быть замещены другими аминокислотами с подобным индексом гидропатичности или баллом и все еще сохраняют подобную биологическую активность. При внесении изменений, основанных на индексе гидропатичности, в некоторых вариантах осуществления включают замену аминокислот, индексы гидропатичности, которые находятся в пределах ± 2 . В определенных вариантах осуществления включаются те, которые находятся в пределах ± 1 , а в некоторых вариантах осуществления включаются те, которые находятся в пределах $\pm 0,5$.

[0248] Также в данной области следует понимать, что замещение подобных аминокислот может эффективно осуществляться на основании гидрофильности, в частности, если биологически функциональный белок или пептид, созданный таким образом, предназначен для применения в иммунологических вариантах осуществления, как в данном случае. В некоторых вариантах осуществления наибольшая локальная средняя гидрофильность белка, определяемая гидрофильностью соседних аминокислот, коррелирует с его иммуногенностью и антигенностью, т. е. биологическим свойством белка.

[0249] Этим аминокислотным остаткам присвоены следующие значения гидрофильности: аргинин (+3,0); лизин (+3,0 $\pm$ 1); аспарат (+3,0 $\pm$ 1); глутамат (+3,0 $\pm$ 1); серин (+0,3); аспарагин (+0,2); глутамин (+0,2); глицин (0); треонин (-0,4); пролин (-0,5 $\pm$ 1); аланин (-0,5); гистидин (-0,5); цистеин (-1,0); метионин (-1,3); валин (-1,5); лейцин (-1,8); изолейцин (-1,8); тирозин (-2,3); фенилаланин (-2,5) и триптофан (-3,4). При внесении изменений, основанных на сходных значениях гидрофильности, в некоторых вариантах осуществления включают замену аминокислот, значения гидрофильности которых находятся в пределах ± 2 , в некоторых вариантах включают те, которые находятся в пределах ± 1 , а в некоторых вариантах осуществления включают те, которые находятся в пределах $\pm 0,5$. Можно также идентифицировать эпитопы из первичных аминокислотных последовательностей на основе гидрофильности. Эти области также называют «эпитопными коровыми областями».

[0250] В некоторых вариантах осуществления вариантах последовательностей VH и VL, представленных

выше, каждая HVR не изменена.

[0251] Вставки аминокислотной последовательности включают N- и/или C-концевые гибриды, имеющие длину в диапазоне от одного остатка до полипептидов, содержащая сто или более остатков, а также вставки внутри последовательности одного или более аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым остатком метионина. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние N- или C-конца антитела с ферментом (*например*, для терапии ADEPT) или полипептидом, который увеличивает время полужизни в сыворотке крови.

[0252] Любой остаток цистеина за пределами HVR и не участвующий в поддержании надлежащей конформации антитела также может быть заменен, как правило, серином, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения неправильного сшивания. И наоборот, цистеиновая(-ые) связь(-и) может быть добавлена к антителу для улучшения его стабильности (в частности, когда антитело является фрагментом антитела, таким как фрагмент Fv).

(ii) *Варианты гликозирования*

[0253] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных в данном документе антител антитело изменено для увеличения или уменьшения степени гликозирования антитела. Добавление или удаление сайтов гликозирования в антителе легко осуществить путем изменения аминокислотной последовательности, приводящего к созданию или удалению одного или более сайтов гликозирования.

[0254] Гликозирование антител, как правило, является N-связанным или O-связанным. N-связанное относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагинового остатка. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, кроме пролина, являются последовательностями распознавания для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозирования. O-связанное гликозирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксиаминокислоте, чаще всего к серину или треонину, хотя также могут быть применены 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

[0255] Добавление сайтов гликозирования к антителу обычно осуществляют путем изменения аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или более описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанных сайтов гликозирования). Изменение может также быть выполнено путем добавления одного или более остатков серина или треонина в последовательность исходного антитела или замещения ими (для сайтов O-связанного гликозирования).

[0256] Если антитело содержит область Fc можно изменять присоединенный к ней углевод. Нативные антитела, вырабатываемые клетками млекопитающих, как правило, содержат разветвленный, биантеннальный олигосахарид, который в общем случае присоединен посредством N-связи к Asn297 домена CH2 области Fc согласно нумерации Kabat. Олигосахарид может включать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стволе» биантеннарной олигосахаридной структуры. В некоторых вариантах осуществления могут быть сделаны модификации олигосахарида в антителе по изобретению для создания вариантов антител с определенными улучшенными свойствами.

[0257] В одном варианте осуществления предложены варианты антител, в которых углеводная структура, присоединенная (или непосредственно, или опосредованно) к области Fc, имеет сниженное содержание фукозы. См., например, публикации патента США №№ 2003/0157108 и 2004/0093621. Примеры публикаций,

связанных с «дефукозилированными» или «фукозодефицитными» вариантами антитела, включают: US 2003/0157108; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; Okazaki et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004). Примеры линий клеток, способных вырабатывать дефукозилированные антитела, включают клетки CHO клетки Led 3 с дефицитом фукозилирования белка (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); US 2003/0157108), и нокаутные линии клеток, такие как нокаутные клетки CHO по гену альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8, (см., например, Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004) и Kanda et al. *Biotechnol. Bioeng.* 94(4):680-688 (2006)).

(iii) Модифицированные константные области

[0258] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, Fc антитела имеет изотипы и/или модификации Fc антитела. В некоторых вариантах осуществления изотип и/или модификация Fc антитела способны связываться с Fc-гамма-рецептором.

[0259] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, модифицированный Fc антитела представляет собой модифицированный Fc IgG1. В некоторых вариантах осуществления модифицированный IgG1 Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления модифицированный Fc IgG1 содержит одну или более аминокислотных замен (например, по отношению к области Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления одна или более аминокислотных замен выбраны из N297A (Bolt S et al. (1993) *Eur J Immunol* 23:403-411), D265A (Shields et al. (2001) *R. J. Biol. Chem.* 276, 6591-6604), L234A, L235A (Hutchins et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:11980-11984; Alegre et al., (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al., (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), G237A (Alegre et al. (1994) *Transplantation* 57:1537-1543. 31; Xu et al. (2000) *Cell Immunol*, 200:16-26), C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E (McEarchern et al., (2007) *Blood*, 109:1185-1192), P331S (Sazinsky et al., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 2008, 105:20167-20172), S267E, L328F, A330L, M252Y, S254T, и/или T256E, где положение аминокислот соответствует системе нумерации EU.

[0260] В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1, указанная Fc содержит мутацию N297A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации D265A и N297A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации D270A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит мутации L234A и L235A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации L234A и G237A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации L234A, L235A и G237A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит одну или более (включая все) мутаций P238D, L328E, E233, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит одну или более мутаций S267E/L328F в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации P238D, L328E, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации P238D, S267E, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G и A330R в

соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации P238D, S267E, L328E, G237D, H268D, P271G и A330R в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации C226S, C229S, E233P, L234V, и L235A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации L234F, L235E, и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации S267E и L328F в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации N325S и L328F в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит мутации S267E в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, указанная Fc содержит замену константной области тяжелой цепи 1 (CH1) и шарнирной области IgG1 на CH1 и шарнирную область IgG2 (аминокислоты 118-230 IgG2 в соответствии с нумерацией EU) с легкой каппа-цепи.

[0261] В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1, Fc содержит две или более аминокислотных замен, которые увеличивают кластеризацию антител без активации комплемента по сравнению с соответствующим антителом, имеющим область Fc, которая не содержит две или более аминокислотных замен. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, модифицированная Fc IgG1 представляет собой антитело, содержащее область Fc, где антитело содержит аминокислотную замену в положении E430G и одну или более аминокислотных замен в области Fc по остатку положение выбрано из: L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S и любой их комбинации в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотную замену в положениях E430G, L243A, L235A и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотную замену в положениях E430G и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотную замену в положениях E430G, A330S и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, A330S и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и A330S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированная Fc IgG1 содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A и P331S в соответствии с нумерацией EU.

[0262] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных IgG1 Fc, указанная модифицированная Fc IgG1 может дополнительно содержаться в данном документе, может быть объединен с мутацией A330L (Lazar et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103:4005-4010 (2006)), или одним или больше мутаций L234F, L235E и/или P331S (Sazinsky et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:20167-20172 (2008)), в соответствии со схемой нумерации EU, для устранения активации комплемента. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, модифицированная Fc IgG1 может дополнительно содержать один или более из A330L, A330S, L234F, L235E и/или P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1, модифицированная IgG1 Fc может дополнительно содержать одну или более мутаций для увеличения периода полужизни антитела в сыворотке человека

(например, одну или более (включая все) мутаций M252Y, S254T и T256E в соответствии с системой нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления любая из модифицированных Fc IgG1, модифицированная Fc IgG1 может дополнительно содержать одну или более из E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y, и/или S440W в соответствии с нумерацией EU.

[0263] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к антителам, имеющим модифицированные константные области (т.е. области Fc). Антитело, зависимое от связывания с FcγR-рецептором для активации рецепторов-мишеней, может потерять свою агонистическую активность, если оно сконструировано для устранения связывания FcγR (см., например, Wilson et al. *Cancer Cell* 19:101-113 (2011); Armour et al. *Immunology* 40:585-593 (2003); и White et al. *Cancer Cell* 27:138-148 (2015)). Таким образом, считается, что антитело к MerTK по настоящему изобретению с правильной эпитопной специфичностью может активировать антиген-мишень с минимальными побочными эффектами, когда антитело имеет домен Fc изотипа IgG2 человека (CH1 и шарнирная область) или домен Fc другого типа, который способен преимущественно связываться с ингибирующими рецепторами FcγRIIB, или их вариацию.

[0264] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, модифицированный Fc антитела представляет собой модифицированный Fc IgG2. В некоторых вариантах осуществления модифицированный IgG2 Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления модифицированный Fc IgG2 содержит одну или более аминокислотных замен (например, по отношению к области Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2 одна или более аминокислотных замен выбраны из V234A (Alegre et al. *Transplantation* 57:1537-1543 (1994); Xu et al. *Cell Immunol.* 200:16-26 (2000)); G237A (Cole et al. *Transplantation*, 68:563-571 (1999)); H268Q, V309L, A330S, P331S (US 2007/0148167; Armour et al. *Eur J Immunol* 29: 2613-2624 (1999); Armour et al. *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27 (2000); Armour et al. *The Haematology Journal* 1(Suppl.1):27 (2000)), C219S, и/или C220S (White et al. *Cancer Cell* 27, 138-148 (2015)); S267E, L328F (Chu et al. *Mol Immunol.* 45:3926-3933 (2008)); и M252Y, S254T, и/или T256E в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях V234A и G237A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях C219S и C220S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях A330S и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F в соответствии с нумерацией EU.

[0265] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену C127S в соответствии с системой нумерации EU (White et al., (2015) *Cancer Cell* 27, 138-148; Lightle et al. *Protein Sci.* 19:753-762 (2010); и WO 2008/079246). В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, антитело имеет изотип IgG2 с константным доменом легкой каппа-цепи, который содержит аминокислотную замену C214S в соответствии с системой нумерации EU (White et al. *Cancer Cell* 27:138-148 (2015); Lightle et al. *Protein Sci.* 19:753-762 (2010); и WO 2008/079246).

[0266] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену C220S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, антитело имеет изотип IgG2 с константным доменом легкой каппа-цепи, который содержит аминокислотную замену C214S в соответствии с системой нумерации

EU.

[0267] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену C219S в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, антитело имеет изотип IgG2 с константным доменом легкой каппа-цепи, который содержит аминокислотную замену C214S в соответствии с системой нумерации EU.

[0268] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc содержит константный домен 1 тяжелой цепи (CH1) и шарнирную область изотипа IgG2 (White et al. *Cancer Cell* 27:138-148 (2015)). В определенных вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, CH1 и шарнирная область изотипа IgG2 содержат аминокислотную последовательность 118-230 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, область Fc антитела содержит аминокислотную замену S267E, аминокислотную замену L328F или обе, и/или аминокислотную замену N297A или N297Q в соответствии с системой нумерации EU.

[0269] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc дополнительно содержит одну или более аминокислотных замен в положениях E430G, E430S, E430F, E430T, E345K, E345Q, E345R, E345Y, S440Y и S440W в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, Fc может дополнительно содержать одну или более мутаций для увеличения периода полужизни антитела в сыворотке человека (например, одну или более (включая все) мутаций M252Y, S254T и T256E в соответствии с системой нумерации EU). В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG2, указанная Fc может дополнительно содержать A330S и P331S.

[0270] В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG2, указанная Fc представляет собой гибридный Fc IgG2/4. В некоторых вариантах осуществления гибридный Fc IgG2/4 содержит ак 118–260 IgG2 и ак 261–447 IgG4. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG2, указанная Fc содержит одну или более аминокислотных замен в положениях H268Q, V309L, A330S и P331S в соответствии с нумерацией EU.

[0271] В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2 Fc содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из A330L, L234F, L235E или P331S согласно нумерации EU; и любой их комбинации.

[0272] В определенных вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2, Fc содержит одну или более аминокислотных замен в положении остатка, выбранном из C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y и любой их комбинации в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, L243A, L235A и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, A330S и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, A330S и P331S в соответствии с нумерацией EU. В

некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, и A330S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, K322A, и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положении C127S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG1 и/или IgG2 содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y в соответствии с нумерацией EU.

[0273] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, представленных в данном документе, модифицированный Fc антитела представляет собой модифицированный Fc IgG4. В некоторых вариантах осуществления модифицированный IgG4 Fc содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах осуществления модифицированный Fc IgG4 содержит одну или более аминокислотных замен (например, по отношению к области Fc дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG4 одна или более аминокислотных замен выбраны из L235A, G237A, S229P, L236E (Reddy et al. *J Immunol* 164:1925-1933(2000)), S267E, E318A, L328F, M252Y, S254T, и/или T256E в соответствии с системой нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, указанная Fc может дополнительно содержать L235A, G237A и E318A в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, указанная Fc может дополнительно содержать S228P и L235E в соответствии с системой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, модифицированный Fc IgG4 может дополнительно содержать S267E и L328F в соответствии с системой нумерации EU.

[0274] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных IgG4, содержащий модифицированный IgG4 Fc, может быть объединен с мутацией S228P в соответствии с системой нумерации EU (Angal et al. *Mol Immunol.* 30:105-108 (1993)) и/или с одной или более мутациями, описанными в (Peters et al. *J Biol Chem.* 287(29):24525-33 (2012)) для усиления стабилизации антител.

[0275] В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG4, модифицированная IgG4 Fc может дополнительно содержать одну или более мутаций для увеличения периода полужизни антитела в сыворотке человека (например, одну или более (включая все) мутаций M252Y, S254T и T256E в соответствии с системой нумерации EU).

[0276] В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, указанная Fc содержит L235E в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, указанная Fc содержит одну или более аминокислотных замен в положении остатка, выбранном из C127S, F234A, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, E345R, E430G, S440Y и любой их комбинации, согласно нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G, L243A, L235A и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG4, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и P331S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG4, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, указанная Fc содержит аминокислотную замену в

положении E430 в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG4, указанная область Fc содержит аминокислотную замену в положениях E430G и K322A в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой из модифицированных Fc IgG4, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положениях S267E и L328F в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, указанная Fc содержит аминокислотную замену в положении C127S в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления любой модифицированной Fc IgG4, Fc содержит аминокислотную замену в положениях E345R, E430G и S440Y в соответствии с нумерацией EU.

(7) *Другие модификации антител*

[0277] В некоторых вариантах осуществления любого антитела, указанное антитело представляет собой производное. Термин «производное» относится к молекуле, которая включает химическую модификацию, отличную от вставки, делеции или замещения аминокислот (или нуклеиновых кислот). В некоторых вариантах осуществления производные содержат ковалентные модификации, в том числе без ограничения химическое связывание с полимерами, липидами или другими органическими или неорганическими фрагментами. В некоторых вариантах осуществления химически модифицированный антигенсвязывающий белок может иметь больший период полужизни из кровотока, чем антигенсвязывающий белок, который химически не модифицирован. В некоторых вариантах осуществления химически модифицированный антигенсвязывающий белок может обладать улучшенной способностью нацеливания на желаемые клетки, ткани и/или органы. В некоторых вариантах осуществления производный антигенсвязывающий белок ковалентно модифицирован для включения в себя одного или более растворимых в воде полимерных средств прикрепления, в том числе без ограничения полиэтиленгликоль, полиоксипропиленгликоль или полипропиленгликоль. См., например, патенты США №№ 4640835, 4496689, 4301144, 4670417, 4791192 и 4179337. В определенных вариантах осуществления производное антигенсвязывающего белка содержит один или более полимеров, включая, но не ограничиваясь ими, монометоксиполиэтиленгликоль, декстран, целлюлозу, сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, поливинилпирролидон, поли-1, 3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (либо гомополимеры, либо статистические сополимеры), поли-(N-винилпирролидон)-полиэтиленгликоль, гомополимеры пропиленгликоля, сополимер полипропиленоксида/окиси этилена, полиоксипропиленгликольные полиолы (например, глицерин) и поливиниловый спирт, а также смеси таких полимеров.

[0278] В определенных вариантах осуществления производное ковалентно модифицировано субъединицами полиэтиленгликоля (ПЭГ). В определенных вариантах осуществления один или более водорастворимых полимеров связаны в одном или более определенных положениях, например, на аминоконце производного. В определенных вариантах осуществления один или более водорастворимых полимеров случайным образом присоединены к одной или более боковым цепям производного. В определенных вариантах осуществления ПЭГ используется для улучшения терапевтического потенциала антигенсвязывающего белка. В определенных вариантах осуществления ПЭГ используют для улучшения терапевтического потенциала гуманизированного антитела. Некоторые такие способы обсуждаются, например, в патенте США № 6133426, который включен в данный документ посредством ссылки для любых целей.

[0279] Пептидные аналоги широко применяются в фармацевтической промышленности в качестве непептидных лекарственных средств со свойствами, аналогичными лекарственным средствам с пептидом матрицы. Данные типы непептидного соединения называются «пептидные миметики» или

«пептидомиметики». Fauchere, *J. Adv. Drug Res.*, 15:29 (1986); и Evans et al. *J. Med. Chem.*, 30:1229 (1987), которые включены в данный документ посредством ссылки для любых целей. Такие соединения часто разрабатывают с помощью компьютерного молекулярного моделирования. Пептидные миметики, структурно сходные с терапевтически полезными пептидами, могут быть использованы для получения аналогичного терапевтического эффекта. Как правило, пептидомиметики структурно аналогичны эталонному полипептиду (т. е. полипептиду, обладающему биохимическими свойствами или фармакологической активностью), такому как человеческое антитело, но имеют одну или более пептидных связей, необязательно замененных связью, выбранной из: $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (цис и транс), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2\text{SO}-$, при помощи способов, хорошо известных в данной области техники. Систематическую замену одной или более аминокислот консенсусной последовательности D-аминокислотой того же типа (например, D-лизин вместо L-лизина) можно использовать для создания более стабильных пептидов. Кроме того, ограниченные пептиды, содержащие консенсусную последовательность или по существу идентичную вариацию консенсусной последовательности, могут быть получены способами, известными в данной области техники (Rizo and Gierasch *Ann. Rev. Biochem.*, 61:387 (1992), включенный в данный документ посредством ссылки для любых целей); например, путем добавления внутренних остатков цистеина, способных образовывать внутримолекулярные дисульфидные мостики, которые циклизуют пептид.

[0280] Конъюгация лекарственного средства включает связывание биологически активной цитотоксической (противоопухолевой) нагрузки или лекарственного средства с антителом, которое специфически нацелено на определенный опухолевый маркер (например, полипептид, который в идеале должен быть обнаружен только в опухолевых клетках или на них). Антитела отслеживают эти белки в организме и прикрепляются к поверхности раковых клеток. Биохимическая реакция между антителом и белком-мишенью (антигеном) запускает сигнал в опухолевой клетке, которая затем поглощает или интернализует антитело вместе с цитотоксином. После интернализации ADC цитотоксический препарат высвобождается и уничтожает злокачественное новообразование. Благодаря такому нацеливанию, в идеале лекарственное средство имеет меньше побочных эффектов и дает более широкое терапевтическое окно, чем другие химиотерапевтические агенты. Раскрыты способы конъюгации антител, известные в данной области техники (см., например, Jane de Lartigue *OncLive* July 5, 2012; ADC Review on antibody-drug conjugates; и Ducry et al. *Bioconjugate Chemistry* 21 (1):5-13 (2010).

II. Нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева

[0281] Антитела к MerTK по настоящему изобретению могут быть получены с использованием рекомбинантных способов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В некоторых вариантах осуществления представлены выделенные нуклеиновые кислоты, имеющие нуклеотидную последовательность, кодирующую любое из антител к MerTK по настоящему изобретению. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать аминокислотную последовательность, содержащую V_L , и/или аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела к MerTK (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В некоторых вариантах осуществления предложены один или более векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такие нуклеиновые кислоты. В некоторых вариантах осуществления также предложена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансдуцирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и второй вектор,

содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин является эукариотической, например, клеткой яичника китайского хомяка (CHO) или лимфоидной клеткой (например, клеткой Y0, NS0, Sp20). Клетки-хозяева по настоящему изобретению также включают, без ограничения, выделенные клетки, клетки, культивируемые *in vitro*, и клетки, культивируемые *ex vivo*.

[0282] Предложены способы получения антитела к MerTK по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления способ включает культивирование клетки-хозяина согласно настоящему изобретению, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к MerTK, в условиях, подходящих для экспрессии антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело впоследствии выделяют из клетки-хозяина (или культуральной среды клетки-хозяина).

[0283] Для рекомбинантного получения антитела к MerTK по настоящему изобретению нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело к MerTK, выделяют и вставляют в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту легко выделить и секвенировать с помощью общепринятых методик (например, с применением олигонуклеотидных зондов, способных специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела).

[0284] Подходящие векторы, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из антител к MerTK по настоящему изобретению, или их экспрессируемые на клеточной поверхности фрагменты или полипептиды (включая антитела), описанные в данном документе, включают, без ограничения, векторы клонирования и векторы экспрессии. Подходящие векторы для клонирования могут быть сконструированы в соответствии со стандартными методами или могут быть выбраны из большого числа векторов клонирования, доступных в данной области техники. Хотя выбранный вектор клонирования может варьироваться в зависимости от клетки-хозяина, которую предполагается использовать, полезные векторы клонирования, как правило, обладают способностью к саморепликации, могут иметь единственную мишень для конкретной рестрикционной эндонуклеазы и/или могут нести гены для маркера, который может быть использован при отборе клонов, содержащих вектор. Подходящие примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например, pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и его производные, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ДНК фагов и «челночные» векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие векторы клонирования доступны от коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Stratagene и Invitrogen.

[0285] Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, включают прокариотические или эукариотические клетки. Например, антитела к MerTK по настоящему изобретению могут продуцироваться в бактериях, в частности, когда гликозилирование и эффекторная функция Fc не нужны. Для экспрессии фрагментов антител и полипептидов в бактериях (см., например, патенты США № 5648237, 5789199, и 5840523. После экспрессии антитело может быть выделено из пасты бактериальных клеток в растворимой фракции и может быть дополнительно очищено.

[0286] В дополнение к прокариотам, эукариотические микроорганизмы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, также являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии для векторов, кодирующих антитела, включая штаммы грибов и дрожжей, чьи пути гликозилирования были «гуманизированы», что приводит к продукции антител с частичным или полностью человеческим профилем гликозилирования (например, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); и Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)).

[0287] Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированного антитела также могут быть

получены из многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые можно использовать в сочетании с клетками насекомых, особенно для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*. Культуры растительных клеток также можно использовать в качестве хозяев (например, патенты США №№ 5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429, в которых описана технология PLANTIBODIES™ для получения антител в трансгенных растениях).

[0288] В качестве хозяев также можно использовать клетки позвоночных. Например, могут быть подходящими клеточные линии млекопитающих, которые приспособлены для роста в суспензии. Другими примерами полезных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7); линия эмбриональных почечек человека (клетки 293 или 293, как описано, например, в Graham et al., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (BHK); клетки почки новорожденного хомяка (клетки TM4, описанные, например, в Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI, как описано, например, в Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); клетки MRC 5; и клетки FS4. Другие полезные линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомячка (CHO), включая клетки DHFR-CHO (Urlaub et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)); и линии клеток миеломы, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Для обзора некоторых линий клеток-хозяев млекопитающих, подходящих для продукции антител, см., например, Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003).

III. Фармацевтические композиции/составы

[0289] В данном документе предложены фармацевтические композиции и/или фармацевтические составы, содержащие антитела к MerTK по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

[0290] В некоторых вариантах реализации фармацевтически приемлемый носитель предпочтительно нетоксичен для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях. Фармацевтические композиции и/или фармацевтические составы, используемые для введения *in vivo*, могут быть стерильными. Данное условие легко достижимо проведением фильтрации, например, через мембраны для стерильной фильтрации.

[0291] Фармацевтические композиции и/или фармацевтические составы, представленные в данном документе, можно использовать в качестве лекарственного средства, например, для лечения злокачественного новообразования.

IV. Применение в терапевтических целях

[0292] Как описано в данном документе, антитела к MerTK по настоящему изобретению можно использовать для лечения заболеваний и нарушений. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает способы лечения индивида, имеющего злокачественное новообразование, включающие введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела к MerTK по настоящему изобретению.

[0293] Эктопическая экспрессия MerTK наблюдалась в различных опухолях; сверхэкспрессия и активация MerTK связаны с лимфоидным лейкозом, лимфомой, аденомой, меланомой, злокачественными новообразованиями желудка, предстательной железы и молочной железы; а сверхэкспрессия MerTK связана с метастазированием. (Schlegel et al, 2013, *J Clin Invest*, 123:2257-2267; Tworkoski et al, 2013, *Pigment Cell Melanoma*, 26:527-541; Yi et al, 2017, *Oncotarget*, 8:96656-96667; Linger et al, 2013, *Blood*, 122:1599-1609; Lee-

Sherick et al, 2013, Oncogene, 32:5359-5368; Brandao et al, 2013, Blood Cancer, 3:e101; Xie et al, 2015, Oncotarget, 6:9206-9219; Shi et al, 2018, J Hematology & Oncology, 11:43). Соответственно, модулирование активности MerTK с помощью антитела к MerTK по настоящему изобретению является эффективным средством лечения злокачественного новообразования.

[0294] В некоторых аспектах в данном документе представлены способы лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом субъекта, при этом способ, включающий введение субъекту антитела к MerTK по настоящему изобретению или фармацевтической композиции, содержащей антитело к MerTK по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления предложен способ лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту антитела к MerTK по настоящему изобретению, где антитело к MerTK снижает эффероцитоз фагоцитами. В некоторых вариантах осуществления предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту антитела к MerTK по настоящему изобретению, причем антитело к MerTK индуцирует M1-подобную поляризацию макрофагов.

[0295] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из саркомы, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака эндометрия, рака почки, рака почки, лейкемии, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, меланомы, лимфомы, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичников, рака желудка, рака щитовидной железы, рака матки, рака печени, рака шейки матки, рака яичка, плоскоклеточного рака, глиомы, глиобластомы, аденомы и нейробластомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из мультиформной глиобластомы, карциномы мочевого пузыря и карциномы пищевода. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой трижды негативную карциному молочной железы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может быть первичной опухолью. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может представлять собой метастатическую опухоль во втором месте, происходящую от любого из вышеуказанных типов злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению применимо для лечения злокачественного новообразования у нуждающегося в этом субъекта, при этом злокачественное новообразование экспрессирует MerTK.

[0296] В некоторых вариантах осуществления антитело к MerTK по настоящему изобретению можно вводить в сочетании с одним или более терапевтическими агентами, которые действуют как ингибитор контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение индивиду по меньшей мере одного антитела, которое специфически связывается с ингибиторной молекулой иммунной контрольной точки, и/или другой стандартной или экспериментальной противораковой терапии. В некоторых вариантах осуществления ингибиторная молекула иммунной контрольной точки выбрана из PD1, PD-L1 и PD-L2. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибиторной молекулой иммунной контрольной точки, вводят в комбинации с антителом к MerTK по настоящему изобретению.

[0297] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибиторной молекулой контрольной точки, выбрано из антитела к PD-L1, антитела к PD-L2 и антитела к PD-1.

[0298] В некоторых вариантах осуществления субъект или индивидуум представляет собой млекопитающее. Млекопитающие включают, без ограничения, домашних животных (например, коров, овец, кошек, собак и лошадей), приматов (например, людей и отличных от человека приматов, таких как обезьяны), кроликов и

грызунов (например, мышей и крыс). В некоторых вариантах осуществления субъект или индивидуум представляет собой человека.

V. Применение в диагностических целях

[0299] В некоторых вариантах осуществления любого из антител, любое из представленных в данном документе антител к MerTK полезно для обнаружения присутствия MerTK в образце или у индивида. В контексте данного документа термин «обнаружение» включает количественное или качественное обнаружение. В данном документе предложены способы применения антител по настоящему изобретению для диагностических целей, таких как обнаружение MerTK у индивида или в образцах тканей, полученных от индивида. В некоторых вариантах осуществления индивид представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления образец ткани представляет собой фагоциты (например, макрофаги, дендритные клетки), опухолевую ткань, раковые клетки и т. д.

[0300] Способ обнаружения может включать количественную оценку связанного с антигеном антитела. Обнаружение антител в биологических образцах может происходить любым способом, известным в данной области техники, включая иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноцитохимию, иммуногистохимию, ИФА, FACS-анализ, иммунопреципитацию или микропозитронно-эмиссионную томографию. В определенных вариантах осуществления антитело мечено радиоактивным изотопом, например, ^{18}F , а затем обнаружено с использованием анализа микропозитронной эмиссионной томографии. С помощью неинвазивных методов, таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), рентгеновская компьютерная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), компьютерная томография (КТ) и компьютерная аксиальная томография (КАТ), у пациента также может быть количественно определено связывание антител.

VI. Промышленные изделия

[0301] В данном документе представлены промышленные изделия (например, набор), содержащие описанное в данном документе антитело к MerTK. Промышленное изделие может содержать один или более контейнеров, содержащих описанное в данном документе антитело. Контейнеры могут представлять собой любую подходящую упаковку, включая, помимо прочего, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и т.п. Контейнеры могут представлять собой одноразовые дозы, многоразовые дозы (например, мультидозовые упаковки) или субъединичные дозы.

[0302] В некоторых вариантах осуществления наборы могут дополнительно содержать второй агент. В некоторых вариантах осуществления второй агент представляет собой фармацевтически приемлемый буфер или разбавитель, в том числе. В некоторых вариантах осуществления второй агент представляет собой фармацевтически активный агент.

[0303] В некоторых вариантах осуществления любого из промышленных изделий, промышленное изделие дополнительно содержит инструкции по применению в соответствии со способами по данному изобретению. Инструкции, как правило, включают информацию о дозировке, схеме применения препарата и способе введения для предполагаемого лечения. В некоторых вариантах осуществления эти инструкции содержат описание введения выделенного антитела по настоящему изобретению (например, антитела к MerTK, описанного в данном документе) для лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или поражение, такое как, например, злокачественное новообразование, согласно любым способам по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления инструкции включают инструкции по применению антитела к MerTK и второго агента (например, второго фармацевтически активного агента).

[0304] Данное изобретение будет более полно понято со ссылкой на следующие примеры. Однако их не

следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего описания. Все цитаты во всем описании включены в данный документ посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Получение конъюгированных с His и мышинных конъюгированных с Fc полипептидов MerTK

[0305] Полипептиды MerTK человека, яванского макака и мыши, содержащие меченные поли-His или меткой TEVS/тромбин/мышинный Fc IgG2a слитые белки, для применения при получении и определении характеристик антител к MerTK по настоящему изобретению получали следующим образом. Нуклеиновую кислоту, кодирующую внеклеточный домен (БКД) MerTK человека (SEQ ID NO: 2), MerTK яванского макака (SEQ ID NO: 3) и MerTK мыши (SEQ ID NO: 4), клонировали в вектор экспрессии млекопитающего, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую гетерологичный сигнальный пептид, а также содержащий либо метку поли-His Fc, либо метку TEVS/тромбин/мышинный Fc IgG2a.

[0306] Аминокислотные последовательности MerTK человека, внеклеточного домена MerTK человека, внеклеточного домена MerTK яванского макака и внеклеточного домена MerTK мыши приведены ниже.

[0307] Аминокислотная последовательность MerTK человека (SEQ ID NO: 1):

MGPAPLPLLLGLFLPALWRRATEAREEAKPYPLFPGPFGSLQTDHTPLLSLPHASGYQPALMFSPQTQGRP
HTGNVAIPQVTSVESKPLPPLAFKHTVGHIILSEHKGVKFNCISVPNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAITQ
FYPDDEVTAIIASFSTSVQRSNDSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQGLPHFTKQPESMNVTNRNTAFNLTCQA
VGPPEPVNIFWVQNSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLTEMAVFSCEAHNDKGLTVSKGVQINIKAIKSPPTVEVSIR
NSTAHSILISWVPGFDGYSPFRNCISQVKEADPLSNGSVMIFNTSALPHLYQIKQLQALANYSIGVSCMNEIG
WSAVSPWILASTTEGAPSVAPLNVTVFLNESSDNVDIRWMKPPTKQQDGELVGYRISHVWQSAGISKELLE
EVGQNGSRARISVQVHNATCTVRIAAVTRGGVGPFSDPVKIFIPAHGWVDYAPSSTPAPGNADPVLIIIFGCF
CGFILIGLILYISLAIRKRVQETKFGNAFTEEDSELVVNYIAKKSFCRRAIELTLHSLGVSEELQNKLEDVVID
RNLLILGKILGEGEFGSVMENLQKQEDGTSKVAVKTMKLDNSSQREIEEFLSEAACMKDFSHPNVIRLLG
VCIEMSSQGIPKPMVILPFMKYGDLYLTYLLYSRLETGPKHIPLQTLKFMVDIALGMEYLSNRNLFHRDLAA
RNCMLRDDMTVCVADFGLSKKIYSGDYRQGRIAKMPVKWIAIESLADRVYTSKSDVWAFGVTMWEIAT
RGMTYPYGPVQNHMYDYLLHGHRLKQPEDCLDELYEIMYSCWRTDPLDRPTFSVLRQLQEKLLSLPDVR
NQADVIVYVNTQLLESSEGLAQGSTLAPLDLNDPDSIIASCTPRAAISVVTAEVHDSKPHEGRYILNGGSEEW
EDLTSAPSAAVTAEKNSVLPGERLVRNGVSWSHSSMLPLGSSLPDELLFADDSSEGESEVLM

[0308] Аминокислотная последовательность БКД MerTK человека (SEQ ID NO: 2):

MGPAPLPLLLGLFLPALWRRATEAREEAKPYPLFPGPFGSLQTDHTPLLSLPHASGYQPALMFSPQTQGRP
HTGNVAIPQVTSVESKPLPPLAFKHTVGHIILSEHKGVKFNCISVPNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAITQ
FYPDDEVTAIIASFSTSVQRSNDSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQGLPHFTKQPESMNVTNRNTAFNLTCQA
VGPPEPVNIFWVQNSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLTEMAVFSCEAHNDKGLTVSKGVQINIKAIKSPPTVEVSIR
NSTAHSILISWVPGFDGYSPFRNCISQVKEADPLSNGSVMIFNTSALPHLYQIKQLQALANYSIGVSCMNEIG
WSAVSPWILASTTEGAPSVAPLNVTVFLNESSDNVDIRWMKPPTKQQDGELVGYRISHVWQSAGISKELLE
EVGQNGSRARISVQVHNATCTVRIAAVTRGGVGPFSDPVKIFIPAHGWVDYAPSSTPAPGNADPVLII

[0309] Аминокислотная последовательность БКД MerTK яванского макака (SEQ ID NO: 3):

MGLAPLPLPLLLGLFLPALWSRAITEAREEAKPYPLFPGPLPGSLQTDHTSLLSLPHTSGYQPALMFSPQTQPG
RPYTGNAIPRVTSAGSKLLPPLAFKHTVGHIILSEHKDVKFNCISVPNIYQDTTISWWKDGKELLGAHHAI
TQFYPDDEVTAIIASFSTSVQRSNDSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQGLPHFTKQPESMNVTNRNTAFNLTC
QAVGPPEPVNIFWVQNSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLTEMAVFSCEAHNDKGLTVSKGVQINIKAIKSPPTVEV

SIHNSTAHSILISWVPGFDGYSPFRNCSVQVKEVDPLSNGSVMIFNTSASPHMYQIKQLQALANYSIGVSCM
NEIGWSAVSPWILASTTEGAPSVAPLNVTVFLNESRDNVDIRWMKPLTKRQAGELVGYRISHVWQSAGISK
ELLEEVGQNNNSRAQISVQVHNATCTVRIAAVTKGGVGPFSDPVKIFIPAHGWVDHAPSSTPAPGNADPVLII

[0310] Аминокислотная последовательность БКД MerTK мыши (SEQ ID NO: 4):

MVLAPLLLGLLLLPAWSSGGTAEKWEETELDQLFSGPLPGRLPVNHRPFSAPHSSRDQLPPPQTGRSHPAH
TAAPQVTSTASKLLPPVAFNHTIGHIVLSEHKNVKFNCSINIPNTYQETAGISWWKDGKELLGAHHSITQFY
PDEEGVSIIALFSIASVQRSDNGSYFCKMKVNNREIVSDPIYVEVQGLPYFIKQPESVNVTRNTAFNLTCQAV
GPPEPVNIFWVQNSSRVNEKPERSPSVLTVPGLTETA VFSCEAHNDKGLTVSKGVHINIKVIPSPPTVEVHILNS
TAHSILVSWVPGFDGYSPNQCSIQVKEADRLSNGSVMVFNTSASPHLYEIQQLQALANYSIAVSCRNEIGW
SAVSPWILASTTEGAPSVAPLNITVFLNESNNILDIRWTKPPIKRQDGELVGYRISHVWESAGTYKELSEEVS
QNGSWAQIPVQIHNAITKGGIGPFSEPVNIIPEHNSKVDYAPSSTPAPGNTDSM

[0311] Слитые конструкции нуклеиновой кислоты MerTK человека, яванского макака и мыши транзientно трансфицировали в клетки HEK293. Рекомбинантные слитые полипептиды очищали из супернатантов клеток с использованием смолы Mabselect (GE Healthcare, кат. № 17519902) в соответствии с инструкциями производителя. Кроме того, коммерчески доступный меченный DDDDK слитый полипептид MerTK человека (Sino Biological, Уэйн, штат Пенсильвания, кат. № 10298-NCCH) или мышинный слитый белок MerTK, меченный Fc IgG1 человека (R&D Systems, Миннеаполис, штат Массачусетс, кат. № 591-MR-100) также использовали для определения характеристик антител к MerTK, как описано ниже.

Пример 2: Получение линий клеток CHO со сверхэкспрессией MerTK человека и мыши

[0312] Линии клеток CHO, сверхэкспрессирующие MerTK человека и мыши MerTK, получали следующим образом. Клон лентивирусной частицы MerTK с открытой рамкой считывания (OPC) человека (кат. № RC215289L4V) и клон лентивирусной частицы MerTK OPC мыши (кат. № MR225392L4V) (Origene, Роквилл, штат Мэриленд) (обе помечены mGFP) использовали для получения стабильных линий клеток CHO-K1, сверхэкспрессирующей MerTK человека, и CHO-K1, сверхэкспрессирующей MerTK мыши, соответственно.

[0313] Клетки CHO культивировали в среде F12-K (ATCC, кат. № ATCC 30-2004), содержащей 10% FBS (Gibco), до >80% конfluence. Затем клетки диссоциировали с помощью трипсинового буфера (0,25% ЭДТА/трипсин, Gibco, кат. № 25200056) и высевали при 70-80% конfluence в 6-луночные планшеты за 24 часа до трансдукции лентивирусной конструкцией MerTK человека или мыши. На следующий день клетки инкубировали с лентивирусной частицей при 4°C в течение 2 часов, а затем планшеты инкубировали при 37°C в 5% CO₂. Через два дня для селекции добавляли пурамицин (InvivoGen, Сан-Диего, штат Калифорния, кат. № ant-pr-1); отобранные устойчивые к пурамицину клетки замораживали в среде для заморозки клеток Cell Recovery Freezing Medium (Gibco, кат. № 12648010) для последующего применения.

[0314] Для анализа этих линий клеток методом FACS клетки CHO со сверхэкспрессией MerTK человека (клетки CHO-huMerTK OE) и клетки CHO со сверхэкспрессией MerTK мыши (клетки CHO-muMerTK OE), полученные, как описано выше, высевали в количестве 1-2×10⁵ клеток на лунку в 96-луночные планшеты с U-образным дном и инкубировали с коммерчески доступными мышинными моноклональными антителами к MerTK человека (BioLegend, клон: 590H11G1E3, кат. № 367608, Сан-Диего, штат Калифорния) или коммерчески доступными крысиными моноклональными антителами к MerTK мыши (ThermoFisher, клон: DS5MMER, кат. № 12-5751-82) в течение 30 минут на льду. Клетки дважды промывали ледяным буфером для FACS (2% FBS+PBS), а затем инкубировали с APC-конъюгированным козым антимышиным антителом (Jackson ImmunoResearch, Уэст-Гроув, штат Пенсильвания, кат. № 115-606-071) или козым антимышиным антителом (Jackson ImmunoResearch, кат. № 112-606-071) в течение 30 минут на льду. После инкубации со

вторичным антигеном клетки промывали ледяным буфером для FACS, а затем ресуспендировали в конечном объеме 50-200 мкл буфера для FACS, содержащего 0,25 мкл/лунку йодида пропидия (BD, кат. № 556463). Анализ проводили с использованием системы FACS CantoII (BD Biosciences).

[0315] Полученные линии клеток CHO со сверхэкспрессией MerTK человека и мыши использовали для последующих исследований, чтобы охарактеризовать антитела к MerTK, как описано ниже.

Пример 3: Профиль экспрессии MerTK

[0316] Экспрессию MerTK исследовали на различных типах клеток и тканях человека, включая клетки U937 (ATCC CRL-1593.2; линия макрофагов человека), клетки SK-MEL-5 (ATCC HTB-70; линия клеток меланомы человека), клетки A375 (ATCC CRL -1619; клеточная линия меланомы человека), клетки THP-1 (ATCC TIB-202; линия моноцитоподобных клеток человека), клетки CHO-huMerTK OE, моноциты человека, макрофаги, происходящие из моноцитов человека, и дендритные клетки, происходящие из моноцитов человека. Кроме того, экспрессию MerTK исследовали на человеческих моноцитах, макрофагах и дендритных клетках, полученных из образцов опухолей человека, как описано ниже.

[0317] Моноциты выделяли из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) здоровых доноров-людей с использованием коктейля антител для выделения моноцитов RosetteSep (StemCell Technologies). Выделенные моноциты человека либо дифференцировали в макрофаги человека с 50 нг/мл M-CSF (Peprotech), либо в дендритные клетки человека (DC) с 100 нг/мл GM-CSF и 100 нг/мл IL-4 (Peprotech). Макрофаги человека или дендритные клетки человека инкубировали с коммерчески доступным конъюгированным с флуорохромом антителом к MerTK человека, (BioLegend, клон 590H11G1E3), в течение 30 минут на льду в темноте. Клетки дважды промывали буфером для FACS (PBS + 2% FBS, 2 mM ЭДТА) и проводили анализ экспрессии MerTK на поверхности клеток с использованием системы BD FACS CantoII.

[0318] На **Фиг. 1** показаны результаты анализа экспрессии MerTK человека на миелоидных клетках человека (т.е. дендритных клетках, макрофагах) методом FACS. Как показано на **Фиг. 1**, антител к MerTK проявляли реактивность к дендритным клеткам (DC) и макрофагам от двух разных доноров-людей, что указывает на то, что эти клетки экспрессируют MerTK на своей клеточной поверхности. На **Фиг. 2** показаны результаты анализа экспрессии человеческого MerTK методом FACS на различных линиях клеток, включая клетки A375, клетки THP-1, клетки U937, клетки SK-MEL-5 и клетки CHO-huMerTK OE. Как показано на **Фиг. 2**, реактивность антитела к MerTK проявляли к клеткам U937, клеткам SK-MEL-5 и клеткам CHO-huMerTK OE, что указывает на то, что эти линии клеток экспрессируют MerTK на своей клеточной поверхности.

[0319] Для анализа экспрессии MerTK на различных типах миелоидных клеток (например, моноцитах, макрофагах, дендритных клетках), полученных из образцов опухоли, были проведены следующие эксперименты. Образцы различных опухолей (рак яичников, печени и эндометрия), полученные от субъектов-людей, разрезали на мелкие кусочки с помощью скальпеля и переносили в пробирки GentleMACS C (Miltenyi Biotec, Саннивейл, штат Калифорния), содержащие смесь ферментов. Образцы диссоциировали на GentleMACS (Miltenyi Biotec) в соответствии с протоколом производителя. После диссоциации клетки фильтровали через фильтр 100 мкм перед окрашиванием для FACS. Затем образцы окрашивали Aqua Live Dead (Thermo Scientific, кат. № L34957) и смесью антител к CD16 человека (клон 3G8, BioLegend, кат. № 302002), антителом к CD32 человека (клон AT10, Thermo Scientific, кат. № MA1-81191) и антителом к CD64 человека (клон 10.1, BioLegend, кат. № 305002) при 4°C в течение 30 мин.

[0320] После промывки буфером для FACS клетки затем окрашивали следующими антителами для сортировки и анализа методом FACS: конъюгированным с Alexa Fluor 700 антителом к CD45 человека (клон HI30, BioLegend, кат. № 304024), конъюгированным с APC-Cy7 антителом к CD3 человека (клон OKT3,

BioLegend, кат. № 317342), конъюгированным с BV711 антителом к HLA-DR человека (клон L243, BioLegend, кат. № 307644), конъюгированным с BV605 антителом к CD15 человека (клон W6D3, BioLegend, кат. № 323032), конъюгированным с BUV395 антителом к CD14 человека (клон MoP9, BD bioscience, кат. № 563561), конъюгированным с BV650 антителом к CD19 человека (клон HIB19, BioLegend, кат. № 302238), конъюгированным с PE Dazzle 594 антителом к CD56 человека (клон HCD56, BioLegend, кат. № 318348), конъюгированным с PerCPCy5.5 антителом к CD1c человека (клон L161, BioLegend, кат. № 331514), конъюгированным с PECy5 антителом к CD206 человека (клон 15-2, BioLegend, кат. № 321108) и конъюгированным с BV421 антителом к MerTK человека (клон 590H11G1E3, BioLegend, кат. № 367604) при 4°C в течение 30 мин. Клетки промывали буфером для FACS и собирали на BD FACS Fortessa X20. Все данные FACS были проанализированы с использованием программного обеспечения FlowJo. Моноциты (определяли и гейтировали по CD45+CD3-CD14+), макрофаги (определяли и гейтировали по CD45+CD3-CD14+CD206+) и дендритные клетки (определяли и гейтировали по CD45+CD3-CD14-CD56-HLA-DR+CD1c+) были идентифицированы.

[0321] Как показано на **Фиг. 3**, экспрессия MerTK наблюдалась с помощью анализа методом FACS в моноцитах, макрофагах и дендритных клетках, полученных из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) здоровых субъектов-людей. Экспрессия MerTK также наблюдалась в опухолевых моноцитах, макрофагах и дендритных клетках, полученных от субъектов-людей с раком яичников, печени и эндометрия.

[0322] В совокупности эти данные продемонстрировали, что экспрессия MerTK была обнаружена на различных клетках и линиях клеток человека, на моноцитах, макрофагах и дендритных клетках, выделенных от здоровых людей, а также на моноцитах, макрофагах и дендритных клетках, полученных из яичников, печени, и опухолевой ткани рака эндометрия.

Пример 4: Получение гибридных антител к MerTK

[0323] Для получения антител к MerTK были проведены следующие эксперименты для получения гибридом к MerTK. Мышей BALB/c (Charles River Laboratories, Уилмингтон, штат Массачусетс) или мышей с нокаутом MerTK (КО) (Jackson Laboratories, Бар-Харбор, штат Мэн) дважды в неделю иммунизировали подкожными или внутривенными инъекциями очищенных полипептидов внеклеточного домена MerTK человека, яванского макака и мыши (полученный, как описано выше в примере 1) с адьювантом или без него. Всего было выполнено 8 инъекций в течение 4 недель. Через три дня после последней инъекции у мышей собирали селезенки и лимфатические узлы для получения гибридных линий клеток.

[0324] Лимфоциты из селезенки и лимфатических узлов иммунизированных мышей выделяли, а затем сливали с P3X63Ag8.653 (CRL-1580, Американская коллекция типовых культур, Роквилл, штат Мэриленд) или SP2/mIL-6 (CRL-2016, Американская коллекция типовых культур, Роквилл, штат Мэриленд) клетки мышиной миеломы с помощью электрослияния (HybridImmune, BTK, Холлистон, штат Массачусетс) и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение ночи в среде C Clonacell-HY (STEMCELL Technologies, Ванкувер, Британская Колумбия, Канада, кат. № 03803). На следующий день слитые клетки центрифугировали и ресуспендировали в 10 мл среды C Clonacell-HY с конъюгированным с FITC антителом к Fc IgG мыши (Jackson ImmunoResearch, Уэст-Гроув, штат Пенсильвания), а затем осторожно смешивали с 90 мл среды D Clonacell-HY на основе метилцеллюлозы (STEMCELL Technologies, кат. № 03804), содержащей компоненты НАТ. Клетки высевали в Nunc OmniTrays (Thermo Fisher Scientific, Рочестер, штат Нью-Йорк) и оставляли расти при 37°C, 5% CO₂ в течение семи дней. Затем отбирали флуоресцентные колонии и переносили в 96-луночные планшеты, содержащие среду E Clonacell-HY (STEMCELL Technologies, кат. № 03805), используя Clonepix 2 (Molecular Devices, Саннивейл, штат Калифорния). Всего было отобрано 1728 IgG-секретирующих

гибридных клонов. После шести дней культивирования супернатанты тканевых культур гибридом подвергали скринингу с помощью анализа методом FACS на специфичность связывания MerTK человека или мыши, как описано ниже.

Пример 5: Скрининг супернатантов гибридом антител к MerTK с помощью FACS

[0325] Супернатанты гибридных культур от 1728 гибридом, полученных, как описано выше, подвергали скринингу на их способность связывать MerTK на различных типах клеток, включая клетки CHO, стабильно сверхэкспрессирующие MerTK человека (клетки CHO-huMerTK OE) или стабильно сверхэкспрессирующие MerTK мыши (клетки CHO-muMerTK OE) (полученные, как описано выше), и исходные клетки CHO; клетки U937 (ATCC, CRL-1593.2), клетки SK-MEL-5 (ATCC, HTB-70) (которые эндогенно экспрессируют MerTK человека), клетки J774A.1 (ATCC TIB-67) (которые эндогенно экспрессируют MerTK мыши) и клетки A375 (ATCC, CRL-1619). Клетки THP-1 (ATCC TIB-202), которые не имеют или имеют минимальную экспрессию MerTK, служили в этих экспериментах в качестве клеток отрицательного контроля, не экспрессирующих MerTK.

[0326] Для скрининга супернатантов культуры клеток гибридомы использовали схему эксперимента на основе мультиплексной FACS для определения связывания антител к MerTK с этими несколькими линиями клеток. Вкратце, клетки окрашивали различными концентрациями и комбинациями красителей CellTrace для пролиферации клеток CFSE и Violet (ThermoFisher, кат. № C34554 и кат. № 34557, соответственно) для создания клеточных популяций с уникальным баркодом. 70000 клеток каждого типа с баркодом помещали в разделяли на аликвоты и помещали в 96-луночные планшеты с U-образным дном и инкубировали с 50 мкл супернатанта культуры гибридных клеток или 5 мкг/мл коммерчески доступного очищенного мышинного моноклонального антитела к MerTK человека (BioLegend, кат. № 367602; служит в качестве положительного антитела к MerTK) на льду в течение 30 минут. После инкубации супернатанта первичной гибридомы к MerTK с различными типами клеток, экспрессирующими MerTK, супернатанты удаляли центрифугированием, клетки дважды промывали 175 мкл охлажденного льдом буфера для FACS (PBS + 1% FBS + 2 mM ЭДТА) и затем клетки дополнительно инкубировали на льду в течение 20 минут с конъюгированным с аллофикоцианином (APC) антителом к Fc IgG мыши (Jackson Labs, кат. № 115-136-071) (разведение 1:1000). После этой вторичной инкубации с антителами клетки снова дважды промывали ледяным буфером для FACS и ресуспендировали в конечном объеме 30 мкл буфера для FACS, содержащего 0,25 мкл/луночку йодида пропидия (BD Biosciences, кат. № 556463). Интенсивность связывания на клетках анализировали с использованием системы FACS Canto (BD Biosciences) с гейтами сортировки, нарисованными для исключения мертвых (т.е. положительных по йодиду пропидия) клеток. Соотношение средней интенсивности флуоресценции APC (СИФ) для каждой популяции клеток с баркодом определяли для каждого протестированного супернатанта гибридомы к MerTK.

[0327] В ходе этого скрининга супернатантов специфической гибридомы было идентифицировано в общей сложности 308 гибридных клонов анти-MerTK, которые демонстрировали более чем 2-кратное различие в связывании (как определено с помощью СИФ) с клетками, стабильно сверхэкспрессирующими или эндогенно экспрессирующими MerTK человека или мыши, по сравнению с наблюдаемым связыванием для исходных клеток или клеток отрицательного контроля. Антитела к MerTK, идентифицированные с помощью этого скрининга, были дополнительно охарактеризованы, как описано ниже.

Пример 6: Скрининг супернатантов гибридом антител к MerTK с помощью анализа связывания рекомбинантного белка MerTK

[0328] Супернатанты культур гибридом от 1728 гибридом, полученных, как описано выше, подвергали

скринингу на их способность связывать меченные поли-His MerTK человека, яванского макака и мыши (полученные, как описано выше в Примере 1) по сравнению со связыванием с нерелевантным меченым His контрольным белком. Вкратце, 96-луночные полистироловые планшеты покрывали 1 мкг/мл меченого поли-His полипептида MerTK человека, яванского макака или мыши в покрывающем буфере (0,05 М карбонатного буфера, pH 9,6, Sigma, кат. № C3041) в течение ночи при 4°C. Покрытые планшеты затем блокировали разбавителем для ИФА (PBS + 0,5% BSA + 0,05% Tween-20) в течение одного часа и трижды промывали 300 мкл PBST (PBS + 0,05% Tween-20, Thermo 28352). В каждую лунку добавляли супернатанты культуры гибридных клеток или два коммерчески доступных очищенных мышинных моноклональных антитела к MerTK человека (BioLegend, кат. № 367602; R&D, кат. № MAB8912) (50 мкл/лунка). После 30-минутной инкубации (комнатная температура, при встряхивании) планшеты трижды промывали 300 мкл PBST. Вторичное конъюгированное к HRP антитело к Fc IgG мыши (Jackson Immunoresearch, кат. № 115-035-071) разводили 1:5000 в разбавителе для ИФА, добавляли в каждую лунку по 50 мкл/лунка и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре при встряхивании. После последней серии промывок (3x300 мкл в PBST) в лунки добавляли по 50 мкл на лунку субстрата TMB (BioFxx, кат. № TMBW-1000-01). Затем реакцию гасили через 5-10 минут с помощью 50 мкл/лунка стоп-раствора (BioFxx, кат. № BSTP-1000-01). Поглощенные реакционные лунки определяли по оптической плотности при 650 нм с помощью устройства для считывания микропланшетов BioTek Synergy с использованием программного обеспечения GEN5 2.04. При этом скрининге супернатантов гибридомы было идентифицировано в общей сложности 326 гибридных клонов анти-MerTK, которые демонстрировали более чем 10-кратное различие в связывании с рекомбинантным MerTK по сравнению с фоном. Антитела к MerTK, идентифицированные с помощью этого скрининга, были дополнительно охарактеризованы, как описано ниже.

Пример 7: Анализ блокирования лиганда Gas6 MerTK и лиганда ProS с использованием супернатантов гибридомы к MerTK

[0329] Супернатанты гибридом антител к MerTK, идентифицированные, как описано выше, оценивали на их способность блокировать связывание лиганда Gas6 человека и/или блокировать связывание лиганда ProS человека с MerTK человека с помощью ИФА. Вкратце, кроличье антитело к IgG человека (Jackson ImmunoResearch, кат. № 309-005-008) наносили в количестве 2 мкг/мл на планшеты с высоким связыванием белка при 4°C в течение ночи. После трехкратной промывки 0,05% Tween-20 в PBS добавляли 5% BSA в PBS на 1 час. Химерный белок рекомбинантный человеческий MerTK-человеческий Fc (R&D systems, кат. № 391-MR-100) добавляли в количестве 2 мкг/мл на 1 час и планшеты промывали перед добавлением 40 мкл супернатантов гибридомы к MerTK и 40 мкл конъюгированного с His-меткой рекомбинантного Gas6 (R&D systems, кат. № 885-GSB-050) в концентрации 3 мкг/мл или конъюгированного с His-меткой рекомбинантного ProS (R&D systems, кат. № 9489-PS-100) в концентрации 20 мкг/мл. После дополнительной инкубации в течение 1 часа планшеты промывали и инкубировали в течение 1 часа с конъюгированным с HRP антителом к метке 6x His (Abcam, Кембридж, штат Массачусетс, кат. № ab1187). Затем планшеты промывали и добавляли субстрат HRP, TMB, для проявления планшетов. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл 2N H₂SO₄ и измеряли ОП с помощью спектрофотометра (BioTek).

[0330] В общей сложности 308 клонов супернатантов гибридомы к MerTK подвергали скринингу на предмет их способности блокировать связывание Gas6 и/или блокировать связывание лиганда ProS с MerTK. Двадцать девять (29) гибридных клонов к MerTK блокировали связывание как лиганда ProS, так и лиганда Gas6 с рекомбинантным человеческим белком MerTK. Сто сорок пять (145) гибридных клонов к MerTK блокировали связывание лиганда ProS только с человеческим белком MerTK и не блокировали связывание

лиганда Gas6 с рекомбинантным человеческим белком MerTK. Остальные 308 гибридных клонов к MerTK, скринированных с помощью этого анализа, не блокировали связывание ни лиганда ProS, ни лиганда Gas6 с рекомбинантным человеческим белком MerTK в этом анализе. Супернатанты гибридомы дополнительно охарактеризовали в отношении их способности блокировать эффероцитоз фагоцитами, как описано ниже.

Пример 8: Анализ блокирования эффероцитоза с использованием супернатантов гибридом к MerTK

[0331] Супернатанты гибридомы антител к MerTK, идентифицированные выше как положительные в отношении реактивности связывания MerTK, оценивали на их способность блокировать эффероцитоз макрофагами человека следующим образом. Макрофаги человека дифференцировали от моноцитов человека в течение 7 дней в присутствии M-CSF человека. Макрофаги собирали (путем соскабливания), ресуспендировали в PBS и высевали на 96-луночные планшеты в количестве 5×10^4 клеток/лунка. Клетки истощали в течение 1 часа с последующим добавлением супернатантов гибридомы к MerTK в каждую лунку на 30 минут при 37°C. Клетки Jurkat обрабатывали 1 мкМ стауропорином (SigmaAldrich) в течение 3 часов при 37°C (для индукции апоптоза) и метили pHrodo (ThermoFisher) в течение 30 минут при комнатной температуре. После промывки PBS клетки Jurkat, меченные pHrodo, добавляли в каждую лунку в соотношении 1:4 (1 макрофаг на 4 клетки Jurkat) на 1 час. Планшеты промывали PBS, а затем клетки окрашивали антителом к CD14 человека, конъюгированным с APC, в течение 30 минут на льду в темноте. Затем клетки дважды промывали буфером для FACS (PBS + 2% FBS) и проводили проточную цитометрию на BD FACS CantoII. Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo. Макрофаги, которые способны к эффероцитозу, поглощают меченые апоптотические клетки Jurkat, которые затем обнаруживаются, тогда как макрофаги, которые заблокированы от осуществления эффероцитоза, демонстрируют пониженное поглощение меченых апоптотических клеток Jurkat.

[0332] В этих экспериментах позитивные к эффероцитозу макрофаги идентифицировали путем установки дважды положительных по pHrodo CD14 клеток в качестве гейта для анализа и последующего применения точного гейта ко всем образцам. Исходные уровни эффероцитоза определяли с использованием макрофагов, культивируемых только в среде, при этом активность эффероцитоза была установлена на 100%. Относительные уровни эффероцитоза рассчитывали как процент эффероцитоза, наблюдаемый в клетках, обработанных только средой, по сравнению с наблюдаемым в клетках, обработанных супернатантами гибридомы к MerTK. В этих экспериментах использовали следующие дополнительные антитела к MerTK: мышиное антитело к человеческому MerTK H1 (BioLegend, идентификационный номер клона: 590H11G1E3, IgG1 мыши) и человеческое антитело к человеческому MerTK M6 (описано в WO2016/106221).

[0333] В таблице 1 и таблице 2 ниже показаны результаты этих экспериментов по эффероцитозу в виде % эффероцитоза (только среда была установлена на 100% эффероцитоз). В таблице 1 ниже иллюстративные протестированные супернатанты гибридомы указаны слева и помечены как идентификационный номер супернатанта гибридомы; эти супернатанты были получены из клонов гибридом, идентифицированных в результате иммунизации мышей BALB/c дикого типа. В таблице 2 ниже иллюстративные протестированные супернатанты гибридомы указаны слева и помечены как идентификационный номер супернатанта гибридомы; эти супернатанты были получены из клонов гибридом, идентифицированных в результате иммунизации мышей с нокаутом по MerTK. Как в таблице 1, так и в таблице 2, идентификатор антитела относится к антителам к MerTK по настоящему изобретению, которые были отобраны для дополнительного определения характеристик и, таким образом, получили название специфического антитела к MerTK, как указано. В третьей, четвертой и пятой колонках (идентификационные номера «донора») указан процент

эффероцитоза по отношению к обработке только средой. Обратите внимание, что по сравнению с эффероцитозом в макрофагах в отсутствие антитела (обработка только средой) не наблюдалось значительных изменений в эффероцитозе в клетках, обработанных мышинным антителом IgG1 изотипического контроля.

ТАБЛИЦА 1

Идентификатор супернатанта гибридомы	Идентификатор антитела	Донор 689	Донор 692	Донор 806
1		89,4	80,8	94,4
2		126,0	105,3	109,0
3	МТК-01	34,1	34,2	70,1
4	МТК-02	20,8	32,2	62,9
5		68,9	101,6	73,1
6	МТК-03	25,2	16,9	53,6
7	МТК-04	23,8	25,6	58,3
8		107,7	109,0	112,6
9		86,3	109,0	88,3
10	МТК-05	36,1	18,2	43,0
11	МТК-06	16,1	16,0	67,5
12	МТК-07	18,8	17,4	56,8
13		68,9	101,6	73,1
14	МТК-08	30,9	19,0	35,7
15		65,4	н/д	88,8
16	МТК-09	19,9	17,6	50,5
17		68,5	72,2	71,8
18	МТК-10	18,8	12,6	50,0
19	МТК-11	14,3	11,9	30,8
20	МТК-12	14,6	12,4	38,6
21		67,6	74,6	83,0
22	МТК-13	21,8	12,2	45,6
23		88,1	92,9	82,5
24	МТК-14	25,2	17,5	55,3
25		82,4	н/д	н/д
26	МТК-15	27,2	23,7	н/д
27		86,8	61,8	78,9
28		65,8	79,9	н/д
29	МТК-16	25,6	н/д	н/д
30	МТК-17	22,7	н/д	н/д
31		75,9	74,7	89,3
32	МТК-18	24,2	н/д	н/д
33		106,0	76,1	116,5

Идентификатор супернатанта гибридомы	Идентификатор антитела	Донор 689	Донор 692	Донор 806
34	МТК-19	48,0	н/д	н/д
35	МТК-20	21,4	н/д	н/д
36		98,1	86,1	85,7
37		106,0	87,1	93,7
38		74,1	62,8	90,5
39		115,1	106,8	80,6
40		108,1	62,0	100,2
41	МТК-21	22,2	н/д	н/д
42	МТК-22	25,7	н/д	н/д
43		76,7	61,1	87,4
44		97,2	71,8	69,4
45		75,4	73,0	73,3
46	МТК-23	17,0	н/д	н/д
47		100,3	н/д	95,9
48		65,4	н/д	71,6
49		56,7	66,9	69,9
50		63,7	н/д	74,0
	Среда	100,0	100,0	100,0
	mIgG1	104,5	95,6	96,0
	H1	31,2	16,5	57,9
	M6	14,9	н/д	35,1

н.д. значит на то, что данные недоступны

ТАБЛИЦА 2

Идентификатор супернатанта гибридомы	Идентификатор антитела	Донор 914	Донор 915	Донор 916	Донор 783
1	МТК-24	25,42	40,49	43,39	70,57
2		86,61	66,80	72,73	106,69
3		80,65	56,68	55,79	109,36
4	МТК-25	44,05	31,01	25,50	21,37
5	МТК-26	24,67	24,25	37,73	30,80
6		83,04	73,28	68,18	103,01
7		77,98	92,31	114,05	142,47
8		100,30	92,71	102,07	123,08
9	МТК-27	33,63	27,49	34,59	19,26
10		78,87	63,56	73,14	92,31
11	МТК-28	38,10	42,91	51,65	69,23
12		96,73	87,85	102,48	123,08

Идентификатор супернатанта гибридомы	Идентификатор антитела	Донор 914	Донор 915	Донор 916	Донор 783
13	МТК-29	32,14	36,40	28,26	49,83
14		97,92	73,68	80,99	122,07
15		94,64	73,28	88,84	126,76
16		106,55	86,23	97,93	130,43
17		98,81	66,80	87,19	128,76
18		101,79	95,55	100,00	115,72
19	МТК-30	30,65	29,27	34,71	33,78
20	МТК-31	41,37	37,85	32,60	32,78
31		89,58	65,59	72,31	79,60
21		79,17	47,37	68,60	93,98
22	МТК-32	63,10	54,25	57,44	73,24
23	МТК-33	25,54	22,35	36,61	13,55
24		80,06	67,61	66,94	100,00
25		68,15	51,42	55,37	62,21
26	МТК-35	40,48	24,21	39,34	30,37
27		86,61	64,37	88,02	119,40
28		84,82	83,40	88,84	112,37
29		78,57	61,94	73,97	122,41
30		75,60	76,92	71,90	111,04
31		75,30	78,95	76,86	117,39
32		79,76	89,88	83,06	118,73
33		72,02	75,30	68,60	98,33
34	МТК-36	73,51	93,52	82,23	120,74
35		71,73	82,59	74,79	128,76
	Только среда	100,00	100,00	100,00	100,00
	М6	17,47	20,40	28,31	14,82
	Изотипический контроль	88,99	104,05	104,55	93,65
	Н1	24,76	34,33	40,79	34,78

[0334] В таблице 1 и таблице 2 показан процент эффероцитоза человеческими макрофагами от разных доноров, при этом только среда (без добавления антител) установлена на 100% эффероцитоза в обеих таблицах. Хотя степень блокирующей эффероцитоз активности различных супернатантов гибридом антител к МегТК была различной в макрофагах, полученных от каждого донора, тенденция блокирования эффероцитоза для антител к МегТК была одинаковой среди макрофагов от разных доноров. Как показано в **таблицах 1 и 2** выше, супернатанты гибридомы к МегТК по настоящему изобретению снижали эффероцитоз макрофагами человека в различной степени (например, снижали эффероцитоз примерно на 50%-85%). Эти результаты продемонстрировали, что антитела к МегТК, полученные, как описано здесь, были эффективны в

снижении или блокировании эффероцитоза фагоцитами.

Пример 9: Молекулярное клонирование антител к MerTK

[0335] Антитела к MerTK из описанных выше гибридом субклонировали следующим образом. 5×10^5 гибридомных клеток собирали и промывали PBS, а затем осадки клеток быстро замораживали в сухом льду и хранили при -20°C . Тотальную РНК экстрагировали с использованием набора RNeasy Mini Kit (QIAGEN, кат. № 74104) в соответствии с протоколом производителя. кДНК была получена с использованием набора SMARTer RACE 5' /3' от Clontech (Takara Bio USA, кат. № 634859) в соответствии с протоколом производителя. Варибельные области тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина клонировали отдельно с помощью ступенчатой ПЦР с использованием праймера 5'-UPM, предоставленного в наборе RACE, и обратных праймеров, распознающих константные области тяжелой и легкой цепей. Полученные продукты ПЦР очищали и лигировали в вектор для клонирования pCR2.1-TOPO (набор для клонирования TOPO TA, Invitrogen кат. № 450641) и трансформировали в клетки *Escherichia coli* (*E. coli*). Трансформированные колонии выделяли и секвенировали нуклеиновые кислоты варибельной области тяжелой цепи (VH) и варибельной области легкой цепи (VL) для каждой соответствующей гибридомных линий клеток. После определения последовательности варибельные области тяжелой цепи и варибельные области легкой цепи амплифицировали с помощью ПЦР с использованием праймеров, содержащих сайты рестрикции эндонуклеазы, а затем субклонировали в вектор экспрессии млекопитающих pLEV-123 (LakePharma, Сан-Карлос, штат Калифорния), кодирующий человеческий IgG1-Fc-LALAPS (Fc IgG1 человека, содержащий аминокислотные замены L234A, L235A и P331S по нумерации EU) и каппа-цепь IgG.

[0336] Аминокислотные последовательности варибельных областей тяжелых цепей и варибельных областей легких цепей антител к MerTK по настоящему изобретению представлены ниже в **таблице 3**. В **таблице 3** последовательности CDR/HVR (по Kabat) подчеркнуты.

ТАБЛИЦА 3

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-01	QIQLVQSGPELKPKGETVKISC KASGYTFTNYGMNWVKQAPG KGLKCMGWINTYTGEPTYAD <u>DFKGRFAFSLETSATTAYLQIN</u> NLKNEDTATYFCARRDRYTW <u>FAYWGQGTLVTVSA</u>	5	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT <u>CRASSSVSYMH</u> WYQQKPGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAAT YYCQOWSSNPPTFGGGTKLEI K	40
MTK-02	QIQLVQSGPELKQPGETVKISC KASGYTFTDYGVNWVKQAPG KGLKWMGWINTYSGEPTYAG <u>DFKGRFAFSLESSASTAFLQIN</u> NLKNEDMATYFCARRVRYWY <u>FDVWGAGTSVTVSS</u>	6	QIVLSQSPAILSASPGERVMTMT <u>CRANSSSVSYMH</u> WYQQKPGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSA SGSGTSYSLTVSRVEAEDAAT YYCQOWGSNPPTFGSGTKLEI K	41

Антитело	Вариабельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Вариабельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-03	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTC SVTGYSITSGYYWNWIRQFPG NTLEWMGYMSFDGDNKFNPS LKNRISITRDTSKNQFFLRNLS VTTEDTATYYCARGGNYGS TEANWGQGTLVTVSA	7	QIVLTQSPAISAFPGKEKVTIT CSASSSVNYMHWFQQKPGTS PKLWIYSTSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRMEAEDAAT YYCQQRSSYPFTFGSGTKLEI K	42
MTK-04	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTNYGMNWVKQAPG KGLKCMGWINTYTGEPTYAD DFKGRFAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDMATYFCAKYDNYA WFAYWQGTLVTVSA	8	QIVLSQSPAFLSASPGEKVTM TCRASSSVSYMHWYLQKPGS SPKPWIYATSNLASGVPVRFS GSGSGTSYSLTISRVEAEDAA TYYCQOWSSNPRTFGGGTKL EIR	43
MTK-05	QVQLQQSGAELVQPGTSVRLS CKTSGYTFTSYWIQWVKQRPG QGLGWIGEIFPGTGTTYNEKF K GKATLTIDTSSSTAYMQLSSL TSEDSAVYFCARDGAYFDVW GAGTTVTVSS	9	DIQMTQSPASLSASVGETVTF TCRASENIFSYLAWYQQKQG KSPQLLVYNAKTLAEGVPSRF SGSGSGTHFSLKINSLQPEDFG SYYCLHHYGTPLTFGAGTKL ELK	44
MTK-06	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTNYGMNWVKQAPG KGLKWMGWINTNTGEPTYAE EFKGRFAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDTATYFCARYYNYWY FDVWGAGTTVTVSS	10	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT CRASSSVSYMHWYQQKPGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAAT YYCQOWSSKPPTFGGGTKLEI K	45
MTK-07	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTC SVTGYSITSGYYWNWIRQFPG NTLEWMGYMSFDGDNKFNPS LKNRISITRDTSKNQFFLRNLS VTTEDTATYYCARGGNYGS TEANWGQGTLVTVST	11	QIVLTQSPAISAFPGKEKVTIT CSASSSVTYMHWFQQKPGTS PKLWIFSTSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRMEAEDAAT YYCQQRSSYPFTFGSGTKLEI K	46

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-08	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFT <u>NYGMN</u> WVKQAPG KGLKWMG <u>WINTY</u> TGEPTYAD <u>DFKGR</u> FAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDTATYFCAREVRYWY <u>FDVWG</u> AGTTVTVSS	12	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT <u>CRATSSVSYMH</u> WFQQKPGSS PKPWIY <u>ATSNL</u> ASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAAA YYC <u>QHWSGNPRT</u> FGGGTKLE IK	47
MTK-09	QVQLQQSGAELVRPGASVKIS CKAFGYTFT <u>NHHIK</u> WVKQRP QGLDWIGYIDPYNDYTTYNQ <u>FKG</u> KATLTVDKSSSTAYMELS SLTSEDSAVYYCARRAYDGY <u>VDWYFDVWG</u> AGTTVTVSS	13	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSI TCKASQDVTTVAWYHQKP GQSPELLIY <u>SASYR</u> YTGVPDR FTGSGSGTDFTFTISSVQAEDL AIYYC <u>QQH</u> YSTPLTFGSGTKL QLK	48
MTK-10	QVTLKESGPGILQPSQTLSLTC SFSGFSLT <u>TSGMGV</u> GWIRQPSG KGLEWLA <u>HIWSDDDK</u> RSNPA <u>LKSRL</u> TISQDSSTNQVFLKIAS VDTADSATYYCSHLTPVREF <u>YWGPGTL</u> VTVSE	14	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTIS CSASQGISNYLNWFQQKPDG TVKLLIYY <u>TSRLH</u> SGVPSRFS GSGSGTDFSLTISNLEPEDIAT YYC <u>QOYTKLPY</u> TFGGGTKLEI K	49
MTK-11	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITC TVSGFSLT <u>DYGVH</u> WVRQSPGK GLEWL <u>GVIWSSG</u> TTDYNEAFI <u>SRLSISK</u> DNSKSHVFFKMNSLQ AIDTAIYYCARK <u>GHDPY</u> AMDY WGQGTSVTVSS	15	QIVLTQSPAIMSASLGERTVM TCTASSSISSSYFHWYQQKPG SSPKLWIY <u>STSNL</u> PSGVPARFS GSGSGTSYSLTISSMEAEDAA TYYCH <u>QYYRSPL</u> TFGAGTKL ELK	50
MTK-12	QVQLQQSGPQLVRPGASVKIS CKASGYSFT <u>SHWMH</u> WVKQRP GQGLEWIG <u>MIDPSD</u> GESRLNQ <u>KFKD</u> KATLTVDKSSSTAYMQL SSPTFEDSAVYYCARGIYYGI <u>TYAMDYWG</u> QGTSVTVSS	16	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTM TCSASSSVSYMYWYQQKPRS SPRLLIYD <u>TSNLAS</u> GVPVRF GSGSGTSYSLTISRMEAEDAA TYYC <u>QWSSYPL</u> TFGAGTKL ELK	51

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-13	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTC SVTGYSITSGYYWNWIRQFPG NKLEWMGNIDYDGSNKYNPS LKNRISITRDTSKNHFFLKLNS VTPEDTATYFCARDGGNYRSE AYWGQGTLVTVSA	17	QIVLTQSPPIMSASPGEKVTIT CSASSSVSYMYWFQQKPGTS PKLWIYSTFNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRMEAEDVAT YYCQQRSSYPFTFGSGTKLEI K	52
MTK-14	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTNYGMNWVKQAPG KDLQWMGWINTYTGEPTYAD DFTGRFAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDTATYFCAKGGHYAW FAYWGQGTLVTVSA	18	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT CRSSSVSYMHWYQQKPGSS PKPWIYATSNLASGVPGRFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAAT YYCQOWGSNPRTFGGGTKLE IK	53
MTK-15	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTNYGVHWVKQAPG KGLKWMGWINTYTGEPTYAD DFKGRFAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDMATYFCARGNRYAY MDYWGQGTSTVSS	19	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT CRASSSVSYMHWYQQKSGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAAT YYCQOWSSNPRTFGGGTKLE IK	54
MTK-16	LIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTNHGMNWVKQDPG KGLKWMGWINTYTGEPTYAD DFKGRFVFSMETSASAAFLQIN NLKNEDTATYFCARKGVTA RYFDYWGQGTTLTVSS	20	DIVMTQSPKFMSTSVGDRVSI TCKASQNVRTAVAWYKKKP GQSPKALINLASNRHTGVPDR FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDL ADYFCLQHWNYPFTFGGGTK LEIK	55
MTK-17	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTNFGMNWVKQAPG KGLKWMGWINTYTGEPTYAD DFKGRFAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDTATYFCSRGAVLRAG AMDCWGQGTSTVSS	21	DIQMTQSSSYLSVSLGGRVTI TCKASDHINNWLAWYQQKP GNAPRLISGATSLETGVPSRF SGSGSGKDYTLTISLQTEDV ATYYCQYWSNPRTFGGGTK LEIK	56

Антителю	Вариабельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Вариабельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-18	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFT <u>HYGMTWVKQAPG</u> KGLKWMG <u>WINTYTGEPTYAD</u> <u>DFKGRFAFSLETSASTAYLQIN</u> NLKNEDTATYFCARGGG <u>QLG</u> <u>LRPLDYWGQGTTLTVSS</u>	22	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTF <u>SCRASQAISNYLNWYQQKPD</u> GTVKLLIYYT <u>SRLHSGVPSRF</u> SGSGSGTDYSLTISNLEQEDIA TYFC <u>QOGNTLPWTF</u> GGGTKL EIK	57
MTK-19	EVQLQQSGPELVKPGASVKISC KTSGYTFT <u>EYTMHWVKQSHG</u> KSLEWLGGFNPNNVITSYNQR <u>FQGRATLTVDKSSSTAYMELR</u> SLTSDDSAVYYCTRG <u>DLLWSL</u> <u>LLPGNYFDYWGQGTTLTVSS</u>	23	DVVMQSSLTLSVTIGQPASIS <u>CKSSQSLLSDGKTYLNWLL</u> QRPQGSPKRLIY <u>LVS</u> KLD <u>SGV</u> PDRFTGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYYCW <u>QGT</u> HFPWTF GGGKLEIK	58
MTK-20	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFT <u>NYGMTWVKQAPG</u> KGLKWMG <u>WINTYTGEPTYAD</u> <u>DFKGRFALSLETSASTAYLQIN</u> NLKNEDTATYFCARGGG <u>RGL</u> <u>RPLDYWGQGTTLTVSS</u>	24	DIQMTQTTSSLSASLGDRVVIS <u>CRASQDINNYLNWYQQKPDG</u> TVKLLIYYT <u>SRLHSGVPSRFS</u> GSGSGTDYSLTISNLEQEDIAT YFC <u>QOGNTLPWTF</u> GGGKLE IK	59
MTK-21	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFT <u>NFGMTWVRQAPG</u> MDLKWMG <u>WINTYTGE</u> PKYA <u>DDFKGRFALSLETSASTAYLQI</u> TNFKNEDTATYFCARGGG <u>RGL</u> <u>LRPLDYWGQGTTLTVSS</u>	25	DIQMTQTTSSLSASLGDRVVIS <u>CRASQDINNYLNWYQQKPDG</u> TVKLLIYYT <u>SSLHSGVPSRFS</u> G SGSGTDYSLTITNLEQEDIATY FC <u>QOGNTLPWTF</u> GGGTRLEIK	60
MTK-22	QVQLQQPGADLVEPGASVKLS CKASGYTFTSYWMH <u>WVKQRP</u> GQGLEWIGEIDPSDSSSNYNQK <u>FKG</u> KATLTVDKSSSTAYMHLN SLTSEDSAVYYCARRYYYGSL <u>YFDN</u> WGQGTTLTVSS	26	DVVMQSHKFMSTSVGDRVS ITCK <u>ASQDVGTAIAWYQQK</u> P GQSPKLLIY <u>WASTRHTG</u> VPD RFTGSRSGTVFTLTISNVQSED LADYFC <u>QQYTSYPLTF</u> GSGTK LEIK	61

Антителю	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-23	QVQLQQSGADLVRPGASVKIS CKAFGYTFTNHHINWVKQRP QGLDWIGNVDPYNDYSTYNQ KFKGKATLTVDKSSSTAYMEL SSLTSEDSAVYYCARRVYDGF YVDWYFDVWGAGTTVTVSS	27	DIVMTQSHKFMSTPVGDRVSI TCKASRDVSTAVAWFHQKPG QSPKLLIYSASYRSTGVPDRF TGSGSGTDFTFTISSVQAEDL AVYYCQQHYSAPLTFGAGTK LELK	62
MTK-24	QVQLQQPGAELVKPGASVKLS CKASGYTFTSYWMHWVKQRP GQGLEWIGMIHPNINTNYNEK FKSKATLTVDISSSTAYMQLSS LTSEDSAVYYCAKRSPYSNYD WYFDVWGTGTTVTVSS	28	DIQMTQSPASLSVSVGETVTI TCRASENIYSNLAWYQQKQG KSPQLLVYAATNLADGVPSR FSGSGSGTQYSLKINSLQSEDF GSYYCQHFHWGTPLTFGAGTK LELK	63
MTK-25	EVKLVESEGGLVQPGSSMKLS CTASGFTFSDYYMAWVRQVP EKGLEWVANINYESSTYYLG SLKSRFIISRDNAENILYLQMSS LKSEDTATYYCARYYYGSVD YWGQGTTTLTVSS	29	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSI TCKASQNVRTTVAWYQQKP GQSPKTLIYLASNHRHTGVPDR FTGSGSGTDFTLTISNVQSEDL ADYFCLQLWNYPWTFGGGT KLEIK	64
MTK-26	AVQFQESGPGLVKLSQSLSLTC SVTGYSITSGYYWDWIRQFPG NKLEWMGYISYDGSNNYNPSL KNRISITRDTSKNQFFLKLNSV TTEDTATYYCAREGGYYRSM DYWGQGTSTVTVSS	30	QIVLTQSPAIMASAPGEKVITIA CSASSSVSFMHWFQKPGTSP RLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISRMEAEDAATY YCQQRSSYPFTFGSGTKLEIK	65
MTK-27	EVQLQQSGTELVRPGASVKLS CTASGFNIKDDYMHVWQQRP EQGLEWIGWIDPENGNTHEYAS KFQGKATITADASSNTAYLQL SSLTSEDTAVYYCSTLFSNYFD YWGQGTTTLTVSS	31	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSI TCKASQNVRTSVAWYQQKP GQSPKALIYLASNHRHTGVPDR FTGSGSGTDFTLTISNVRSEDL ADYFCLQHWNYPYTFGGGT KLEIK	66

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-28	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTTYGMSWVKQAPG KGLKWMGWINTYSGVPTYAD DFKGRFAFSLETSASTAYLQIN TLKNEDTTTYFCARFLRYYYF DYWGQGTTTLTVSS	32	QIVLSQSPVILSASPGEKVTMT CRASSSVTYMH ^{WY} QQPGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEDAAT YYCHQWSGNPTFGGGTKLEI N	67
MTK-29	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KSSGFTFTTYGMSWVKQAPG KGLKWMGWINTYSGVPTYTD DFKGRFAFSLETSASTASLQIN NLKNEDTATYFCARYTNYGYF DYWGQGTTTLTVSS	33	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT CRATSSVGYMH ^{WY} QQKPGS SPKPWIYATSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTISRVEAEHAA TYYCQOWGSNPFTFGSGTKL EIK	68
MTK-30	QVQLQQPGTELVRPGASVKLS CKASGYTFTSYWMHWKQRP GQGLEWIGNLNPNGGTYYN EKFKSKATLTVDKSSSTAYMQ LSSLTSEDSAVYYCARQILLYF DYWGQGTTTLTVSS	34	DVLMQTPLSLPVS LGDQASI SCRSSQSIVHSNGDTYLEWYL QKPGQSPKLLIYK ^{VSNR} FSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYYCFQGSHPVPTFG GGTKLEIK	69
MTK-31	QIQLVQSGPELKKSGETVKISC KASGYTFTSYGMSWVKQAPG KGLKWMGWINTYSGVPTYAD DFKGRFAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDTATYFCASLSYDGSL YHAMDYWGQGTSTVTVSS	35	DVSMTQTPLSLPVS LGDQASI SSRSSQTIVHSNGNTYLEWYL QKPGQSPKLLIYK ^{VSNR} FSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDLGVYYCFQGSHPVPTFG GGTKLEIK	70
MTK-32	QIQLVQSGPELKKPGETVKISC KASGYTFTSYGMSWVHQAPG KGLKWLGWINTYSGVPTYAD DFRGRFAFSLDTSVSTASLEIN NLQNEDTATYFCAREDNWAW FAYWGQGTTLTVST	36	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMT CRATSSVGYMH ^{WY} QRKPGSS PKPWIYATSNLASGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAAT YYCQOWSSNPRTFGGGTKLE IK	71

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-33	QVQLQQPGPELVRPGTSVKLS CKASGYTFTSYWMHWIKQRP GQGLEWIGVIDPSDNYINYNQ KFKGKATLTVDTSSSTAYLQL SSLTSEDSAVYYCAREAGTRG YFDYWGGQTTLTVSS	37	SIVMTQTPKFLLSAGDRIIT CKASQSVSNVAVYQQKPG QSPKLLIYYASNRYTGVPDRF TGSGYGTDFTFITSTVQAEDL AVYFCQQDYRSPFTFGSGTQL EMK	72
MTK-34	QVQLQQPGPELVRPGTSVKLS CKASGYTFTSYWMHWIKQRP GQGLEWIGVIDPSDNYINYNQ KFKGKATLTVDTSSSTAYLQL SSLTSEDSAVYYCAREAGTRG YFDYWGGQTTLTVSS	37	SIVMTQTPKFLLSAGDRIIT CKASQSVSNVAVYQQKPG QSPKLLIYYASNRYTGVPDRF TGSGYGTDFTFITSTVQAEDL AVYFCQQDYRSPFTFGSGTQL EMK	72
MTK-35	QVLLQQSGPELVKPGASVQLS CKASDYTFTSYDIHWVKQRP QGLEWIGWIYPRDGYTKYNEI FKGKATLTVDTSSSTAYMELH SLTSEDSAVYFCARAYYTNWY YFDYWGGQTTLTVSS	38	EIVLTQSPTTMAASPGKITIT CRASSISSHYLHWYQQKPGF SPKLLIYRTSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTIGTMEAEDVA TYYCQOGSTIPLTFGAGTKLV LK	73
MTK-36	QVTLKESGPGILQPSQTLSTC SFGFSLSTFGMGVGVIRQPSG KGLEWLAHIWYDDKYEP LKSRLTISKDSSKNQVFLKIAN VDTADTATYYCARIYYGTSYR YFDVWGTGTTVTVSS	39	QIVLSQSPAILSAFPGEKVTMT CRATSSVRYMHYQQKPGSS PKPWIYATYNLTSGVPARFSG SGSGTSYSLTISRVEAEDAA YYCHQWSSNPYTFGGGKLE IK	74

[0337] Последовательности CDR по Kabat для антител к MerTK по настоящему изобретению представлены ниже в таблице 4 (тяжелая цепь) и таблице 5 (легкая цепь).

ТАБЛИЦА 4

Антитело	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-01	NYGMN	75	WINTYTGEPT YADDFKG	99	RDRYTWFAV	125
MTK-02	DYGVN	76	WINTYSGEPT	100	RVRVWYFDV	126

Антигено	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
			YAGDFKG			
MTK-03	SGYYWN	77	YMSFDGDNKF NPSLKN	101	GGYNYGSTE AN	127
MTK-04	NYGMN	75	WINTYTGEPT YADDFKG	99	YDNYAWFAY	128
MTK-05	SYWIQ	78	EIFPGTGTYY NEKFKG	102	DGAYFDV	129
MTK-06	NYGMN	75	WINTNTGEPT YAEEFKG	103	YYNYWYFDV	130
MTK-07	SGYYWN	77	YMSFDGDNKF NPSLKN	101	GGYNYGSTE AN	127
MTK-08	NYGMN	75	WINTYTGEPT YADDFKG	99	EVRYWYFDV	131
MTK-09	NHHIK	79	YIDPYNDYTT YNQNFKG	104	RAYDGYVVD WYFDV	132
MTK-10	TSGMGVG	80	HIWSDDDKRS NPALKS	105	LTPVREFAY	133
MTK-11	DYGVH	81	VIWSSGTTDY NEAFIS	106	KGHDPYAMD Y	134
MTK-12	SHWMH	82	MIDPSDGESRL NQKFKD	107	GIYYYGITYA MDY	135
MTK-13	SGYYWN	77	NIDYDGSNKY NPSLKN	108	DGGNYRSFA Y	136
MTK-14	NYGMN	75	WINTYTGEPT YADDFTG	109	GGHYAWFAY	137
MTK-15	NYGVH	83	WINTYTGEPT YADDFKG	99	GNRYAYMD Y	138
MTK-16	NHGMN	84	WINTYTGEPT YADDFKG	99	KGVTAARYF DY	139
MTK-17	NFGMN	85	WINTYTGEPT YADDFKG	99	GAVLRAGAM DC	140
MTK-18	HYGMT	86	WINTYTGEPT YADDFKG	99	GGGQLGLRP LDY	141
MTK-19	EYTMH	87	GFNPNNVITSY NQRFGG	110	GDLLWSLLLP GNYFDY	142
MTK-20	NYGMT	88	WINTYTGEPT YADDFKG	99	GGGRLGLRP LDY	143
MTK-21	NFGMT	89	WINTYTGEPK	111	GGGRLGLRP	143

Антиген	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
			YADDFKG		LDY	
MTK-22	SYWMH	90	EIDPSDSSSNY NQKFKG	112	RYYYGSLYF DN	144
MTK-23	NHHIN	91	NVDPYNDYST YNQKFKG	113	RVYDGFYVD WYFDV	145
MTK-24	SYWMH	90	MIHPNINTNY NEKFKS	114	RSPYSNYDW YFDV	146
MTK-25	DYYMA	92	NINYESSTYY LGSLKS	115	YYYGSVDY	147
MTK-26	SGYYWD	93	YISYDGSNNY NPSLKN	116	EGGYRSMD Y	148
MTK-27	DDYMH	94	WIDPENGNT YASKFQG	117	LFSNYFDY	149
MTK-28	TYGMS	95	WINTYSGVPT YADDFKG	118	FLRYYYFDY	150
MTK-29	TYGMS	95	WINTYSGVPT YTDDFKG	119	YTNYGFDY	151
MTK-30	SYWMH	90	NLNPNGGTY YNEKFKS	120	QILLYFDY	152
MTK-31	SYGMS	96	WINTYSGVPT YADDFKG	118	LSYDGSLYH AMDY	153
MTK-32	SYGMS	96	WINTYSGVPT YADDFRG	121	EDNWAFA Y	154
MTK-33	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFKG	122	EAGTRGYFD Y	155
MTK-34	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFKG	122	EAGTRGYFD Y	155
MTK-35	SYDIH	97	WIYPRDGYTK YNEIFKG	123	AYYTNWYFY DY	156
MTK-36	TFGMGVG	98	HIWWYDDKY YEPALKS	124	IYYGTSYRYF DV	157

ТАБЛИЦА 5

Антиген	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-01	RASSSVSY MH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPPT	207

Антигено	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-02	RANSSVS YMH	159	ATSNLAS	187	QQWGSNPFT	208
MTK-03	SASSSVNY MH	160	STSNLAS	188	QQRSSYPFT	209
MTK-04	RASSSVSY MH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-05	RASENIFS YLA	161	NAKTLAE	189	LHHYGTPLT	211
MTK-06	RASSSVSY MH	158	ATSNLAS	187	QQWSSKPPT	212
MTK-07	SASSSVTY MH	162	STSNLAS	188	QQRSSYPFT	209
MTK-08	RATSSVSY MH	163	ATSNLAS	187	QHWSGNPRT	213
MTK-09	KASQDVT TSVA	164	SASYRYT	190	QQHYSTPLT	214
MTK-10	SASQGISN YLN	165	YTSRLHS	191	QQYTKLPYT	215
MTK-11	TASSSISSS YFH	166	STSNLPS	192	HQYYRSPLT	216
MTK-12	SASSSVSY MY	167	DTSNLAS	193	QQWSSYPLT	217
MTK-13	SASSSVSY MY	167	STFNLAS	194	QQRSSYPFT	209
MTK-14	RSSSVSY MH	168	ATSNLAS	187	QQWGSNPRT	218
MTK-15	RASSSVSY MH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-16	KASQNRV TAVA	169	LASNRHT	195	LQHWNYPPLT	219
MTK-17	KASDHIN NWLA	170	GATSLET	196	QQYWSTPRT	220
MTK-18	RASQAISN YLN	171	YTSRLHS	191	QQGNTLPWT	221
MTK-19	KSSQSLLD SDGKTYL N	172	LVSKLDS	197	WQGTHFPWT	222
MTK-20	RASQDINN	173	YTSRLHS	191	QQGNTLPW	223

Антитело	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
	YLN					
MTK-21	RASQDINN YLN	173	YTSSLHS	198	QQGNTLPWT	221
MTK-22	KASQDVG TAIA	174	WASTRHT	199	QQYTSYPLT	224
MTK-23	KASRDVS TAVA	175	SASYRST	200	QQHYSAPLT	225
MTK-24	RASENIYS NLA	176	AATNLAD	201	QHFwGTPLT	226
MTK-25	KASQNVr TTVA	177	LASNRHT	195	LQLWNYPWT	227
MTK-26	SASSVSF MH	178	STSNLAS	188	QQRSSYPFT	209
MTK-27	KASQNVr TSVA	179	LASNRHT	195	LQHWNYPYT	228
MTK-28	RASSSVTY MH	180	ATSNLAS	187	HQWsgNPt	229
MTK-29	RATSSVG YMH	181	ATSNLAS	187	QQWGSNPFT	208
MTK-30	RSSQSIVH SNGDTYL E	182	KVSNRFS	202	FQGSHVPWT	230
MTK-31	RSSQTIVH SNGNTYL E	183	KVSNRFS	202	FQGSHVPWT	230
MTK-32	RATSSVG YMH	181	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-33	KASQSVS NTVA	184	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-34	KASQSVS NTVA	184	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-35	RASSSISS HYLH	185	RTSNLAS	204	QQGSTIPLT	232
MTK-36	RATSSVR YMH	186	ATYNLTS	205	HQWSSNPYT	233

Пример 10: Получение антител к MerTK

[0338] Гибридомные клоны к MerTK культивировали в гибридной среде, не содержащей сыворотки, и антитела к MerTK в супернатантах очищали на платформе Hamilton STAR (Hamilton Company, Рено, штат

Невада) с использованием наконечников с белком А (Phynex Inc, Сан-Хосе, штат Калифорния). Антитела к MerTK также получали путем прямого клонирования переменных участков гена, полученных из гибридом, в рекомбинантную экспрессионную плазмиду для получения химерных антител, содержащих домен Fc человека (человеческий IgG1, содержащий аминокислотные замены LALAPS, описанные выше). Используя платформу Tupa293™ (LakePharma, Сан-Карлос, штат Калифорния), клетки HEK293 высевали во встряхиваемые колбы и размножали с использованием бессывороточной среды определенного химического состава. Экспрессионные плазмиды транзистентно трансфицировали в клетки и культуральные супернатанты собирали через 7 дней. После осветления центрифугированием и фильтрованием антитела к MerTK в супернатантах очищали с помощью хроматографии на основе белка А.

Пример 11: Блокирование эффероцитоза рекомбинантными антителами к MerTK

[0339] Способность антител к MerTK по настоящему изобретению блокировать эффероцитоз фагоцитами (например, макрофагами человека или макрофагами костного мозга мыши) оценивали следующим образом. Макрофаги человека дифференцировали от моноцитов человека в течение 7 дней в присутствии M-CSF человека. Макрофаги, происходящие из костного мозга мыши, дифференцировали из клеток костного мозга мыши в течение 7 дней в присутствии M-CSF мыши (Peprotech, кат. № 315-02). Через 7 дней макрофаги человека и макрофаги мыши собирали (путем соскабливания), ресуспендировали в PBS и высевали на 96-луночные планшеты в количестве 5×10^4 клеток/лунка. Для определения IC50 эффероцитоза клетки истощали в течение 1 часа с последующим добавлением 10 мкл рекомбинантного антитела к MerTK в каждую лунку на 30 минут при 37°C. Для других описанных в данном документе исследований рекомбинантные антитела к MerTK титровали до конечной концентрации в диапазоне от 66,6 нМ до 4 пМ, а затем каждое серийно разведенное антитело добавляли в каждую лунку на 30 минут при 37°C.

[0340] Клетки Jurkat обрабатывали 1 мкМ стауропорином (SigmaAldrich) в течение 3 часов при 37°C (для индукции апоптоза) и метили pHrodo (ThermoFisher) в течение 30 минут при комнатной температуре. После промывки PBS клетки Jurkat, меченные pHrodo, добавляли в каждую лунку в соотношении 1:4 (1 макрофаг: 4 клетки Jurkat) на 1 час. Планшеты промывали PBS, а затем клетки окрашивали конъюгированным с APC антителом к CD14 человека или антителом к CD11b мыши в течение 30 минут на льду в темноте. Затем клетки дважды промывали буфером для FACS (PBS + 2% FBS) и проводили проточную цитометрию на BD FACS Canto II. Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo.

[0341] В дополнение к антителам к MerTK по настоящему изобретению в этих исследованиях эффероцитоза также использовали следующие антитела к MerTK: крысиное антитело к мышиному MerTK DS5MMER (eBioscience, идентификационный номер клона DS5MMER, крысиный IgG2a), мышиное антитело к человеческому MerTK H1 (BioLegend, идентификационный номер клона: 590H11G1E3, мышиный IgG1), мышиное антитело к человеческому MerTK H2 (R&D Systems, идентификационный номер клона: 125518, мышиный IgG2b), мышиное антитело к человеческому MerTK H3 (R&D Systems, идентификационный номер клона 125508, мышиный IgG2b), мышиное антитело к человеческому MerTK H6 (eBioscience, идентификационный номер клона: A3KCAT, мышиный IgG1), мышиное антитело к человеческому MerTK H7 (Sino Biological, идентификационный номер клона: 09, мышиный IgG2b), человеческое антитело к человеческому MerTK M6 (описано в WO 2016/106221, huIgG1 LALAPS), и человеческое антитело к MerTK человека CDX AB2000-A7 (описано в WO 2019/084307, huIgG1).

[0342] В этих экспериментах позитивные к эффероцитозу макрофаги идентифицировали путем установки дважды положительных по pHrodo CD14 клеток в качестве гейта для анализа и последующего применения точного гейта ко всем образцам. Исходные уровни эффероцитоза определяли с использованием макрофагов,

культивируемых только в среде, при этом активность эффероцитоза была установлена на 100%. Относительные уровни эффероцитоза рассчитывали как процент эффероцитоза, наблюдаемый в клетках, обработанных только средой, по сравнению с наблюдаемым в клетках, обработанных антителами к MerTK.

[0343] По сравнению с макрофагами в отсутствие антитела (обработка только средой) не наблюдалось значительных изменений в эффероцитозе с изотипическим контрольным IgG1 LALAPS человека, IgG1 мыши или IgG2b мыши.

[0344] Исследования по блокированию эффероцитоза проводили путем добавления к макрофагам 10 мкг/мл рекомбинантного антитела к MerTK по настоящему изобретению. В **таблице 6** и **таблице 7** показан % эффероцитоза антител к MerTK по настоящему изобретению в зависимости от активности эффероцитоза макрофагами, полученными от различных доноров-людей.

ТАБЛИЦА 6

Антитело	% эффероцитоза при 10 мкг/мл		
	донор 922	донор 923	донор 924
MTK-01	14,45	12,45	18,20
MTK-02	4,27	8,11	6,59
MTK-03	11,64	14,51	14,55
MTK-04	21,24	15,71	20,20
MTK-05	34,72	27,78	47,61
MTK-06	14,41	10,71	13,79
MTK-07	11,98	14,35	15,75
MTK-08	9,51	11,25	10,86
MTK-09	9,42	17,54	16,06
MTK-10	2,55	5,00	3,84
MTK-11	5,99	6,56	6,10
MTK-12	5,78	0,57	3,85
MTK-13	4,04	8,03	5,43
MTK-14	8,67	12,53	11,03
MTK-15	5,57	8,30	8,50
MTK-16	1,79	2,68	1,40
MTK-17	3,43	4,35	3,98
MTK-18	3,33	2,91	2,92
MTK-19	4,31	4,15	3,41
MTK-20	4,08	4,42	4,13
MTK-21	4,08	3,13	3,28
MTK-22	4,94	1,65	4,29
MTK-23	3,12	3,83	3,98
huIgG1 LALAPS	114,35	96,22	131,70

Антитело	% эффероцитоза при 10 мкг/млц		
	донор 922	донор 923	донор 924
muIgG1	119,37	101,26	97,44
muIgG2b	121,88	111,35	112,12
M6	4,52	1,04	1,22
H1	7,87	21,38	23,36
H2	8,96	13,50	16,60
H3	88,8	111,35	104,56
H6	103,04	119,11	124,14
H7	108,9	100,1	99,22

ТАБЛИЦА 7

Антитело	% эффероцитоза при 10 мкг/млц	
	донор 930	донор 929
МТК-24	26,16	11,29
МТК-25	30,93	41,66
МТК-26	23,85	13,07
МТК-27	35,26	17,57
МТК-28	33,40	19,38
МТК-29	41,75	20,49
МТК-30	38,66	20,36
МТК-31	22,59	18,02
МТК-32	48,56	28,05
МТК-33	24,90	21,63
МТК-35	30,03	19,52
МТК-36	21,68	21,43
Среда	96,49	93,73
M6	21,49	13,17
H1	24,09	14,31

[0345] Как показано в таблице 6 и таблице 7 выше, антитела к MerTK по настоящему изобретению снижали или уменьшали эффероцитоз макрофагами человека (например, уменьшали эффероцитоз примерно на 50-98%). Хотя активность антител к MerTK, блокирующих эффероцитоз, различалась в зависимости от донора, для каждого антитела наблюдалась общая тенденция.

[0346] На Фиг. 4 и Фиг. 5 показаны результаты блокирования эффероцитоза иллюстративными антителами к MerTK по настоящему изобретению. Как показано на Фиг. 4, антитела к MerTK МТК-06, МТК-10, МТК-15, МТК-16 и МТК-21 по настоящему изобретению ингибировали эффероцитоз апоптотических клеток макрофагами человека дозозависимым образом. Эти результаты продемонстрировали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны в снижении или уменьшении активности эффероцитоза

макрофагами человека.

[0347] Как показано на **Фиг. 5**, антитела к MerTK MTK-24, MTK-29, MTK-31 и MTK-33 по настоящему изобретению ингибировали эффероцитоз апоптотических клеток мышинными макрофагами, происходящими из костного мозга, дозозависимым образом. Эти результаты продемонстрировали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны в снижении или уменьшении активности эффероцитоза макрофагами, происходящими из костного мозга мыши.

[0348] В приведенной ниже **таблице 8** показаны значения IC50 антител к MerTK по настоящему изобретению для снижения или уменьшения эффероцитоза макрофагами человека в диапазоне значений IC50. Как показано в таблице 8, антитела к MerTK по настоящему изобретению снижали или уменьшали эффероцитоз макрофагами человека с диапазоном IC50 от около 1,2 нМ до около 28 нМ.

ТАБЛИЦА 8

Антителю	IC50 эффероцитоза (нМ) донор 940
MTK-01	6,91
MTK-02	1,20
MTK-03	14,16
MTK-05	28,12
MTK-06	0,77
MTK-08	1,31
MTK-10	1,45
MTK-11	1,36
MTK-13	4,90
MTK-14	1,79
MTK-15	0,86
MTK-16	0,80
MTK-17	7,76
MTK-18	1,53
MTK-19	10,50
MTK-20	1,42
MTK-21	14,11
MTK-22	16,62
M6	0,56

[0349] В **таблице 9** и **таблице 10** показаны значения IC50 антител к MerTK по настоящему изобретению в отношении активности эффероцитоза мышинных макрофагов и макрофагов, полученных от различных доноров-людей.

ТАБЛИЦА 9

Антитело	IC50 эффероцитоза (нМ)		
	донор 673	донор 960	Мышинные макрофаги
МТК-24	3,89	1,09	0,18
МТК-26	0,54	0,43	-
МТК-27	0,71	0,21	-
МТК-28	0,15	0,08	-
МТК-29	0,33	0,23	11,5
МТК-30	0,45	0,13	0,10
МТК-31	8,447	1,42E+24*	-
МТК-32	29,95	7,04	-
МТК-33	0,25	0,33	0,03607
МТК-35	19856	3,70	-
МТК-36	0,41	0,44	-
М6	0,11	0,12	
CDX AB2000-A7	н.д.	0,09402	
DS5MMER	н.д.	-	0,02361

н.д. значит на то, что данные недоступны

* указывает на аберрантное значение

ТАБЛИЦА 10 [нМ]

Антитело	донор 993	донор 996	донор 896	донор 897
МТК-09	0,3418	0,7776	0,712	0,603
МТК-23	0,1518	0,365	0,600	0,488
МТК-25	0,1125	0,1584	н.д.	н.д.
МТК-27	0,3386	0,5349	н.д.	н.д.
МТК-31	0,9309	5,551	н.д.	н.д.
МТК-36	0,128	0,2313	н.д.	н.д.
CDX AB2000-A7	0,1099	0,2517	н.д.	н.д.
Н1	0,4212	1,905	1,631	0,847
Н2	0,6921	1,474	н.д.	н.д.
М6	0,04335	0,1086	0,222	0,213

н.д. значит на то, что данные недоступны

[0350] Как показано в таблице 8, таблице 9 и таблице 10 выше, антитела к MerTK по настоящему изобретению были эффективны в снижении эффероцитоза макрофагами человека и макрофагами мыши. Кроме того, эти результаты продемонстрировали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению уменьшали эффероцитоз макрофагами человека при IC50 от около 0,13 нМ до около 30 нМ.

Пример 12: Антитела к MerTK связываются с клетками SK-MEL-5 и клетками CHO-тиMerTK OE.

[0351] Чтобы определить, связываются ли рекомбинантные антитела к MerTK человека по настоящему

изобретению с MerTK человека, эндогенно экспрессируемым на клетках SK-MEL-5, и с клетками CHO, сверхэкспрессирующими MerTK мыши (клетки CHO-muMerTK OE), были проведены следующие эксперименты. Клетки SK-MEL-5 и клетки CHO-muMerTK OE высевали в количестве 40000 клеток/лунка. Антитела к MerTK титровали до конечной концентрации в диапазоне от 66,6 нМ до 4 пМ, а затем добавляли к клеткам. После 30 минут на льду клетки промывали, а затем окрашивали конъюгированным с APC мышинным антителом к человеческим каппа-цепям (Southern Biotech, кат. № 9230-11, Бирмингем, штат Алабама) и красителем для оценки жизнеспособности клеток (Life Technologies) в присутствии раствора Fc Block на льду в течение 30 минут, а затем дважды промывали холодным буфером для FACS (2% FBS в PBS). Клетки фиксировали 4% параформальдегидом в PBS. Окрашенные клетки получали на цитометре BD FACS Canto II, среднюю интенсивность флуоресценции (СИФ) рассчитывали с помощью программного обеспечения FlowJo, а значение K рассчитывали с помощью программного обеспечения Prism. Значения Kd в этих результатах аналогичны значениям EC50, но рассчитываются программным обеспечением Prism на основе данных, полученных в результате анализа методом FACS. Более низкое значение Kd отражает более высокое связывание антитела с клетками.

[0352] На Фиг. 6 показано, что антитела к MerTK человека MTK-06, MTK-10, MTK-11, MTK-13, MTK-15 и MTK-16 связываются с MerTK, эндогенно экспрессируемым на SK-MEL-5, дозозависимым образом.

[0353] В таблице 11, таблице 12 и таблице 13 ниже показаны значения Kd из анализа антител к MerTK, связывающихся с клетками SK-MEL-5 (таблица 11 и таблица 12) и с клетками CHO-muMerTK-OE (таблица 13) методом FACS.

ТАБЛИЦА 11

Антитело	Значение Kd по FACS (нМ)
MTK-01	0,049
MTK-02	0,024
MTK-03	2,64
MTK-04	0,037
MTK-06	0,005
MTK-07	3,21
MTK-08	0,079
MTK-10	0,076
MTK-11	3,54
MTK-12	0,009
MTK-13	0,68
MTK-14	0,021
MTK-15	0,19
MTK-16	1,66
MTK-17	12,68
MTK-18	0,38
MTK-19	3,07
MTK-20	0,11
MTK-21	23,36

Антитело	Значение Kd по FACS (нМ)
МТК-22	2,78E-06*
М6	0,27
Н1	0,22
Н2	0,03

* указывает на аберрантное значение

ТАБЛИЦА 12

Антитело	Значение Kd по FACS (нМ)
МТК-24	0,59
МТК-26	1,38
МТК-27	2,55
МТК-28	0,52
МТК-29	0,14
МТК-30	0,47
МТК-31	2,311E-11*
МТК-32	0,40
МТК-33	0,93
МТК-35	1,29
МТК-36	1,42
М6	5,302E-13*
CDX AB2000-A7	0,19
Н1	0,06436
Н2	2,455E-08*

* указывает на аберрантное значение

ТАБЛИЦА 13

Антитело	Значение Kd по FACS (нМ)
МТК-24	0,22
МТК-29	5,22
МТК-30	0,24
МТК-31	2,913
МТК-32	2,455E-08*
МТК-33	0,53

* указывает на аберрантное значение

[0354] Антитела к MerTK связываются со сверхэкспрессирующими клетками SK-MEL-5 или CHO-muMerTK дозозависимым образом со значением Kd в диапазоне от пикомолярного до наномолярного. Антитело к MerTK, такое как МТК-06 или МТК-12, продемонстрировала лучшее связывание с SK-MEL-5 по сравнению с антителом М6. Данные в таблицах 11, 12 и 13 выше также демонстрируют, что антитела к MerTK МТК-24, МТК-29, МТК-30, МТК-31 и МТК-33 связываются с человеческим MerTK, эндогенно

экспрессируемым на клетках SK-MEL-5 человека, и с мышинным MerTK, рекомбинантно экспрессируемым в клетках CHO.

Пример 13: Антитело к MerTK, блокирующее связывание лиганда Gas6 и лиганда ProS с MerTK

[0355] Для определения лиганд-блокирующей активности антител против MerTK по настоящему изобретению были проведены анализы блокирования лиганда для проверки того, блокирует ли данное антитело к MerTK связывание лиганда Gas6 или лиганда ProS с MerTK человека.

[0356] Кроличье поликлональное антитело к IgG человека (Jackson ImmunoResearch, кат. № 309-005-008) захватывали на планшете с высоким содержанием белка в концентрации 2 мкг/мл при 4°C в течение ночи. После трехкратной промывки 0,05% Tween-20 в PBS добавляли 5% BSA в PBS на 1 час. Добавляли химерный белок рекомбинантный человеческий MerTK-человеческий Fc (R&D systems, кат. № 391-MR-100) в количестве 2 мкг/мл на 1 час, а затем планшеты промывали. Антитела к MerTK титровали до конечного диапазона концентраций от 66,6 нМ до 4 пМ, а затем 40 мкл серийно разведенных антител и 40 мкл рекомбинантного белка Gas6, конъюгированного с His-меткой (R&D systems, кат. № 885-GSB-050) в концентрации 3 мкг/мл или конъюгированный с His-меткой рекомбинантный белок ProS (R&D systems, кат. № 9489-PS-100) в количестве 20 мкг/мл. После дополнительной инкубации в течение 1 часа планшеты промывали и инкубировали в течение 1 часа с конъюгированным с HRP антителом к метке 6x His (Abcam, кат. № ab1187). Затем планшеты промывали, а для проявления планшетов использовали субстрат HRP (TMB). После того как наблюдалось достаточное изменение цвета, реакцию останавливали добавлением 50 мкл 2 н. H₂SO₄ и измеряли ОП с помощью спектрофотометра (BioTek).

[0357] На Фиг. 7 показано, что иллюстративные антитела к MerTK по настоящему изобретению (MTK-07, MTK-16 и MTK-21) ингибируют (например, блокируют) связывание лиганда Gas6 с MerTK человека дозозависимым образом. Как показано на Фиг. 7, антитела к MerTK MTK-06, MTK-08, MTK-09 и MTK-15 не блокировали связывание лиганда Gas6 с MerTK человека.

[0358] На Фиг. 8 показано, что иллюстративное антитела к MerTK по настоящему изобретению (MTK-03, MTK-07, MTK-09, MTK-17, MTK-18 и MTK-23) ингибируют (например, блокируют) связывание лиганда ProS с человеческим MerTK дозозависимым образом.

[0359] В этих экспериментах значения IC₅₀ [нМ] определяли с использованием значений ОП₄₅₀, полученных из кривых доза-ответ, проанализированных с помощью программного обеспечения Prism. В таблице 14 и таблице 15 показаны значения IC₅₀, определенные для блокирования связывания антитела к MerTK с лигандом Gas6 и связывания лиганда ProS с MerTK. Антитело к MerTK MTK-22 не блокировало связывание лиганда Gas6 или связывание лиганда ProS с MerTK; однако антитело к MerTK MTK-22 эффективно снижало эффероцитоз, как показано в приведенных выше примерах. Прочерки указывают на отсутствие значительной блокировки; «н/д» указывает на то, что данные недоступны.

ТАБЛИЦА 14

Антитело	Блокирование лиганда Gas6, IC ₅₀	Блокирование лиганда ProS, IC ₅₀
MTK-01	-	2,85
MTK-02	-	3,94
MTK-03	8,53	3,65

Антитело	Блокирование лиганда Gas6, IC50	Блокирование лиганда ProS, IC50
MTK-04	-	12,81
MTK-05	-	6,51
MTK-06	-	2,17
MTK-07	7,97	3,27
MTK-08	-	3,80
MTK-09	-	7,84
MTK-10	32,38	3,80
MTK-11	-	24,24
MTK-12	25,97	3,36
MTK-13	18,93	3,76
MTK-14	н/д	7,61
MTK-15	-	4,20
MTK-16	6,32	8,59
MTK-17	14,47	8,35
MTK-18	4,22	4,76
MTK-19	н/д	11,27
MTK-20	4,96	5,16
MTK-21	5,98	13,50
MTK-23	-	25,92

ТАБЛИЦА 15

Антитело	Блокирование Gas6, IC50	Блокирование ProS, IC50
MTK-24	0,74	0,5792
MTK-26	2,93	1,203
MTK-27	1,42	2,543
MTK-28	-	2,781
MTK-29	-	2,664
MTK-30	1,26	1,572
MTK-31	1,29	1,51E+15*
MTK-32	-	2,781
MTK-33	н.а.	0,6005
MTK-35	0,31	0,924
MTK-36	0,29	1,402
M6	0,28	1,339
CDX AB2000-A7	0,49	2,514
H1	-	2,513

* указывает на aberrantное значение

[0360] В этих исследованиях тридцать пять (35) антител к MerTK по настоящему изобретению тестировали на их способность блокировать связывание лиганда Gas6 и/или связывание лиганда ProS с MerTK человека. Девятнадцать (19) антител к MerTK по настоящему изобретению (MTK-03, MTK-07, MTK-10, MTK-12, MTK-13, MTK-16, MTK-17, MTK-18, MTK-20, MTK-21, MTK-24, MTK-25, MTK-26, MTK-27, MTK-30, MTK-31, MTK-33, MTK-35, и MTK-36) блокировали связывание как лиганда ProS, так и лиганда Gas6 с рекомбинантным человеческим белком MerTK (обозначаемым в данном документе как двойные блокаторы ProS/Gas6); пятнадцать (15) антител к MerTK по настоящему изобретению (MTK-01, MTK-02, MTK-04, MTK-05, MTK-06, MTK-08, MTK-09, MTK-11, MTK-14, MTK-15, MTK-19, MTK-23, MTK-28, MTK-29, MTK-32) блокировали связывание лиганда ProS (но не блокировали связывание лиганда Gas6) с рекомбинантным человеческим MerTK (в данном документе называемые специфическими к ProS блокаторами). Антитело к MerTK MTK-22 не блокировало связывание ни лиганда ProS, ни лиганда Gas6 с рекомбинантным человеческим белком MerTK, как было измерено в этом анализе; однако антитело к MerTK MTK-22 эффективно снижало эффероцитоз, как показано в приведенных выше примерах. Антитело к MerTK M6 и антитело к MerTK CDX AB2000-A7 демонстрировали блокирование лиганда ProS и лиганда Gas6. Антитело к MerTK H1 и антитело к MerTK H2 демонстрировали блокирование только лиганда ProS; ни одно из этих антител не проявляло блокирования лиганда Gas6.

[0361] Эти результаты свидетельствуют о том, что антитела к MerTK по настоящему изобретению могут селективно модулировать связывание Gas6 и ProS с MerTK и могут селективно модулировать активность Gas6 и ProS.

Пример 14: Кинетика связывания антител к MerTK

[0362] Кинетику связывания человеческих антител IgG1 LALAPS к MerTK по настоящему изобретению с MerTK человека, яванского макака и мыши оценивали с использованием прибора Carterra LSA (Carterra, Солт-Лейк-Сити, штат Юта). Вкратце, антитела к MerTK получали путем разбавления до 10 мкг/мл в 10 мМ ацетате, pH 4,25 (Carterra), по 300 мкл/лунка. Сенсорный чип HC200M (Carterra) активировали с использованием одноканальной проточной ячейки с 7-минутной инъекцией смеси 1:1:1 100 мМ MES, pH 5,5, 100 мМ сульфо-NHS, 400 мМ EDC (все восстановлены в MES, pH 5,5; 100 мкл каждого смешивают во флаконе непосредственно перед проведением анализа). После переключения на проточную ячейку с многоканальной матрицей антитела вводили через активированный чип в матрицу из 96 точек в течение 15 минут. Затем оставшиеся неконъюгированные активные группы на чипе блокировали путем введения 1М этаноламина pH 8,5 (Carterra) в течение 7 минут с использованием одноканальной проточной ячейки.

[0363] После обработки рабочим буфером (HBS-TE, Carterra) с 0,5 мг/мл BSA (Sigma) иммобилизованные антитела к MerTK тестировали на их способность связываться с несколькими формами рекомбинантного внеклеточного домена MerTK, включая ортологи человека, яванского макака и мыши, как описано выше. Оценки аффинности были получены путем введения каждого аналита по всей матрице антител с использованием одноканальной проточной ячейки. Аналиты MerTK разбавляли до 33,3, 100 и 300 нМ в рабочем буфере и вводили последовательно от самой низкой до самой высокой концентрации без регенерации. Между каждой серией запускали две холостые пробы в виде буфера (один вид на серию). Данные обрабатывали и анализировали с использованием высокопроизводительного программного обеспечения для кинетического анализа NextGenKIT (Carterra).

[0364] Затем рассчитывали равновесные константы диссоциации (K_D) из подобранных констант скорости ассоциации и скорости диссоциации (k_{on} и k_{off}) для антител к MerTK по настоящему изобретению. Анализ кинетики связывания также проводили на антителах к MerTK H1 (BioLegend, идентификационный номер

клона: 590H11G1E3), H2 (R&D systems, идентификационный номер клона: 125518), M6 (WO2016/106221) и CDX AB2000-A7 hIgG1 (WO2019/084307). Значения K_D приведены в таблице 16 ниже.

ТАБЛИЦА 16

Антитело	K_D (нМ), человек	K_D (нМ), яванский макак	K_D (нМ), мышь
MTK-01	о.с.	99	н/с
MTK-02	22	24	н/с
MTK-03	54	55	н/с
MTK-04	33	44	н/с
MTK-05	6,7	н/с	н/с
MTK-06	18	17	н/с
MTK-07	43	53	н/с
MTK-08	37	42	н/с
MTK-10	2,0	1,9	н/с
MTK-11	3,0	2,9	н/с
MTK-12	5,3	н/с	н/с
MTK-13	37	39	н/с
MTK-14	45	53	н/с
MTK-15	2,7	3,0	н/с
MTK-16	1,4	1,6	н/с
MTK-17	25	24	н/с
MTK-18	18	18	н/с
MTK-19	2,4	12	130
MTK-20	9,3	9,2	н/с
MTK-21	40	43	н/с
MTK-22	54	н.с.	н/с
MTK-24	41	44	55
MTK-26	30	30	н/с
MTK-27	71	71	н/с
MTK-28	4,1	4,5	н/с
MTK-30	23	24	30
MTK-31	81	91	165
MTK-32	59	107	186
MTK-33	6,5	6,6	75
MTK-35	14	13	н/с
MTK-36	6,4	5,9	н/с
CDX AB2000-A7	38	52	н/с
H1	7,2	6,8	н/с
H2	18	18	н/с

Антитело	K _d (нМ), человек	K _d (нМ), яванский макак	K _d (нМ), мышь
H3	151	н.с.	н/с
H6	26	116	н/с
H7	6,1	10	н/с
M6	5.6	5.4	н/с

н/с = нет связывания; н.с. = низкий уровень связывания; о.с. = отсутствие соответствия, что означает, что полученные данные не соответствуют модели равновесия связывания 1:1.

[0365] Эти результаты показали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению демонстрируют диапазон аффинностей к MerTK и видовой специфичности связывания. В частности, аффинность антител к MerTK по настоящему изобретению в отношении связывания с MerTK человека находится в диапазоне от 1,4 нМ до 81 нМ; аффинность антител к MerTK по настоящему изобретению в отношении связывания с MerTK яванского макака находится в диапазоне от 1,6 нМ до 107 нМ; и аффинность антител к MerTK по настоящему изобретению в отношении связывания с мышинным MerTK находилась в диапазоне от 30 нМ до 186 нМ.

Пример 15. Перекрестная реактивность антител к MerTK с MerTK человека, яванского макака и мыши

[0366] Видовую перекрестную реактивность антител к MerTK по настоящему изобретению определяли по данным анализа кинетики связывания, описанным выше. Результаты анализа межвидовой перекрестной реактивности связывания показаны ниже в таблице 17.

ТАБЛИЦА 17

Реактивность в отношении MerTK человека	Перекрестная реактивность в отношении MerTK человека-яванского макака	Перекрестная реактивность MerTK человека-мышь
MTK-05 MTK-12	MTK-01, MTK-02, MTK-03, MTK-04, MTK-06, MTK-07, MTK-08, MTK-09, MTK-10, MTK-11, MTK-13, MTK-14, MTK-15, MTK-16, MTK-17, MTK-18, MTK-19, MTK-20, MTK-21, MTK-22, MTK-24, MTK-26, MTK-27, MTK-28, MTK-30, MTK-31, MTK-32, MTK-33, MTK-34, MTK-35, MTK-36 CDX AB2000-A7, H1, H2, H7, M6 Слабая перекрестная реактивность: H3, H6	MTK-19, MTK-24, MTK-30, MTK-31, MTK-32, MTK-33

[0367] Эти эксперименты по связыванию продемонстрировали, что большинство протестированных антител к MerTK по настоящему изобретению проявляли перекрестную реактивность связывания с MerTK как человека, так и яванского макака (MTK-01, MTK-02, MTK-03, MTK-04, MTK-06, MTK-07, MTK-08, MTK-09, MTK-10, MTK-11, MTK-13, MTK-14, MTK-15, MTK-16, MTK-17, MTK-18, MTK-19, MTK-20, MTK-21, MTK-22, MTK-24, MTK-26, MTK-27, MTK-28, MTK-30, MTK-31, MTK-32, MTK-33, MTK-34, MTK-35, и MTK-36).

Два антитела к MerTK по настоящему изобретению показали специфическое связывание только с MerTK человека и не показали связывания с MerTK яванского макака или мыши (антитело MTK-05 и антитело MTK-12). Шесть протестированных антител к MerTK по настоящему изобретению проявляли перекрестную реактивность с MerTK как человека, так и мыши (MTK-19, MTK-24, MTK-30, MTK-31, MTK-32 и MTK-33). Шесть протестированных антител к MerTK по настоящему изобретению продемонстрировали перекрестную реактивность с MerTK человека, яванского макака и мыши (MTK-19, MTK-24, MTK-30, MTK-31, MTK-32 и MTK-33). Кроме того, приведенный выше пример 12 продемонстрировал, что антитела к MerTK MTK-24 и MTK-29 также связываются с MerTK человека и мыши.

Пример 16: Анализ антител MerTK методом эпитоп-специфической сортировки

[0368] Анализ методом эпитоп-специфической сортировки проводили на антителах к MerTK по настоящему изобретению путем выполнения подхода тандемной инъекции с использованием прибора Carterra LSA (Carterra, Солт-Лейк-Сити, штат Юта). Вкратце, очищенные гибридомой мышинные антитела к MerTK по настоящему изобретению, антитела к MerTK H1, H2, H3, H6 и M6 и IgG к His разводили до 15 мкг/мл в 10 мМ ацетате, pH 4,75 (Carterra), по 300 мкл/лунка. Второй набор образцов готовили путем 5-кратного разведения антител до 3 мкг/мл в том же буфере. Сенсорный чип HC200M (Carterra) активировали с использованием одноканальной проточной ячейки с 7-минутной инъекцией смеси 1:1:1 100 мМ MES, pH 5,5, 100 мМ сульфохлорофосфорной кислоты (NHS), 400 мМ EDC (как описано выше). После переключения на проточную ячейку с многоканальной матрицей разведения антител по 15 мкг/мл вводили через активированный чип в 96-точечную матрицу в течение 15 минут. Вторую матрицу печатали путем введения разведений антител по 3 мкг/мл во вторую матрицу из 96 точек. Затем оставшиеся неконъюгированные активные группы на чипе блокировали путем введения 1М этаноламина pH 8,5 (Carterra) по всей поверхности чипа в течение 7 минут с использованием одноканальной проточной ячейки.

[0369] После обработки рабочим буфером (HBS-TE, Carterra), содержащим 0,5 мг/мл BSA (Sigma), иммобилизованные антитела тестировали на их способность связываться с рекомбинантным внеклеточным доменом MerTK человека. Связанный MerTK удаляли двумя 30-секундными инъекциями 0,425% фосфорной кислоты (Carterra). Для каждого цикла на чип вводили MerTK, а затем тестируемое антитело, разведенное до 30 мкг/мл в рабочем буфере. Данные обрабатывали и анализировали с использованием высокопроизводительного программного обеспечения для анализа эпитоп-специфической сортировки (Carterra). Антитела, которые были способны связывать антиген, захваченный иммобилизованным антителом, обозначали как антитела для «сэндвич»-анализа или «спаренные» антитела, и эти антитела относили к другой эпитопной группе иммобилизованного антитела. Матрица объединяющих и необъединяющих антител была сконструирована из результатов связывания этих экспериментов, что позволило создать ландшафт эпитопных групп для антител к MerTK.

[0370] Эпитопные группы, определенные в этих исследованиях для антител к MerTK, приведены на **Фиг. 9**. Результаты продемонстрировали, что большинство блокаторов, специфичных для лиганда ProS, принадлежат к группе 1, за исключением MTK-19, который включен в группу 2. Контрольное антитело к MerTK H1, специфичное для блокатора ProS, относится к группе 1. Все двойные блокаторы ProS/Gas6 относятся к группам с 3 по 8. Некоторые из антител распознают частично соседние эпитопы, поэтому имеют перекрывающиеся эпитопные группы. Например, MTK-03 и MTK-07 имеют наиболее широкие перекрывающиеся эпитопы группы 3, группы 5, группы 6 и группы 8. Контрольное антитело к MerTK M6, двойной блокатор ProS/Gas6, относится к группе 4, а H6 относится к группе 5. Эти результаты позволяют предположить, что ProS и Gas6 могут связываться с разными эпитопами или областями на MerTK.

Пример 17: Ингибирование роста опухоли *in vivo* антителом к MerTK

[0371] Исследование эффективности *in vivo* проводили с использованием мышинной модели сингенного рака толстой кишки MC38 для определения влияния антител к MerTK на рост опухоли. Клетки MC38 ресуспендировали в концентрации 5×10^6 клеток/мл в PBS. 100 мкл клеток вводили подкожно в выбритый правый бок мышей C57BL/6.μ Когда размер опухоли достиг приблизительно 60-100 мм³ в объеме, мышей рандомизировали в зависимости от объема опухоли в группы лечения (N=10) или контрольные группы. Группы лечения получали 10 мг/кг контрольных антител, 3 мг/кг только антитела к PDL1 (клон: BM1), 10 мг/кг только антитела к MerTK DS5MMER или 3 мг/кг антитела к PDL1 с антителом к MerTK DS5MMER. После начала введения антител мышей взвешивали и дважды в неделю измеряли объем опухоли с помощью штангенциркуля. Исследование прекратили, когда опухоли в контрольной группе достигали примерно 2000 мм³.

[0372] На Фиг. 10А и 10В показано, что либо лечение антителом к MerTK DS5MMER в отдельности, либо комбинированное лечение с антителом к PDL1 уменьшало рост опухоли *in vivo*. Эти результаты показали, что антитела к MerTK эффективно уменьшают объем опухоли и задерживают рост опухоли *in vivo*. Эти результаты также продемонстрировали, что антитела к MerTK при использовании в комбинации с антителом к PD-L1 продемонстрировали большее снижение объема и роста опухоли по сравнению с любым антителом в отдельности.

Пример 18: Модулирование продукции провоспалительных цитокинов

[0373] Влияние антител к MerTK на продукцию провоспалительных цитокинов в миелоидных клетках исследовали следующим образом. Для получения макрофагов и дендритных клеток, происходящих из моноцитов, первичные моноциты человека выделяли из гепаринизированной крови человека (Blood Centers of the Pacific) с использованием коктейля для обогащения моноцитов человека RosetteSep (STEMCELL Technologies) в соответствии с протоколом производителя. Моноциты высевали в среду RPMI (Invitrogen), содержащую 10% фетальной бычьей сыворотки (Hyclone) и 50 нг/мл IL-4 и GM-CSF (Peprotech) для индукции дифференцировки дендритных клеток или 50 нг/мл M-CSF (Biolegend) для индукции дифференцировки макрофагов. Через 6-7 дней дендритные клетки или макрофаги собирали путем соскабливания клеток. Макрофаги или дендритные клетки высевали на 96-луночные планшеты по 5×10^4 клеток/луночка и культивировали с 10 мкг/мл антитела при 37°C в течение ночи.μ На следующий день собирали супернатанты и использовали панель частиц LEGENDplex, состоящую из 13 провоспалительных хемокинов человека и макрофагов/микроглии человека (BioLegend), в соответствии с протоколом производителя. Все образцы анализировали на BD FACS Canto II, а анализ выполняли с использованием программного обеспечения для анализа LEGENDplex (BioLegend).

[0374] На Фиг. 11А, 11В, 11С и 11D показаны изменения уровня MCP1 (CCL2), MIP-1α (CCL3), MIP-1β (CCL4) и TNF, соответственно, в макрофагах человека после обработки антителом к MerTK MTK-15, MTK-16, MTK-29 или MTK-33 в течение ночи. Антитела к MerTK MTK-16 и MTK-29 заметно повышали уровень MCP1, MIP-1α, MIP-1β и TNF в макрофагах человека. Уровень MCP1 значительно повышался в ответ на антитело к MerTK MTK-33 по сравнению с уровнем, наблюдаемым при лечении контрольным антителом. Эти результаты продемонстрировали, что антитела к MerTK MTK-15, MTK-16, MTK-29 и MTK-33 индуцируют продукцию провоспалительных хемокинов или цитокинов в макрофагах человека MerTK-зависимым образом. Эти результаты также продемонстрировали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны в отношении повышения уровня провоспалительных цитокинов и хемокинов в миелоидных клетках, что указывает на то, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны при активации

миелоидных клеток (например, макрофагов). Эти результаты также показали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны в отношении увеличения M1-подобной поляризации макрофагов и, таким образом, опосредования противоопухолевого иммунитета.

Пример 19: Эффект лечения антителом к MerTK при раке толстой кишки *in vivo*

[0375] Следующие исследования были проведены для проверки способности антител к MerTK по настоящему изобретению снижать опухолевую нагрузку *in vivo*. В этих экспериментах 400000 клеток рака толстой кишки мыши MC38 имплантировали подкожно в выбранный правый бок мышей C57BL/6. Когда размер опухоли достиг приблизительно 80-120 мм³, мышей разделили на группы в зависимости от объема опухоли, чтобы гарантировать, чтобы обеспечить сходное распределение начального объема опухоли для целей анализа. Антитело к MerTK MTK-29 и MTK33 или контрольное антитело вводили посредством внутрибрюшинной инъекции в дозе 10 мг/кг два раза в неделю (N=9 на группу). В то же время антитело к PDL1 (клон BM1) вводили внутрибрюшинно в дозе 3 мг/кг всем группам лечения два раза в неделю. Объем опухоли измеряли три раза в неделю с помощью штангенциркуля. Мышей подвергали гуманной эвтаназии, когда либо объем опухоли достигал примерно 2000 мм³, либо возникало изъязвление. В этих исследованиях были проведены два независимых эксперимента *in vivo*.

[0376] На **Фиг. 12A** и **Фиг. 12B** показано, что лечение мышей антителом к PDL1 и либо антителом к MerTK MTK-29, либо MTK-33 снижало скорость роста опухоли (показанную как объем опухоли с течением времени) по сравнению с тем, что наблюдалось у мышей, которых лечили только антителом к PDL1 или контрольным антителом. Эти результаты продемонстрировали, что антитела к MerTK MTK-29 и MTK-33 проявляют синергизм при уменьшении объема опухоли (снижение скорости роста опухоли) при введении в комбинации с антителом к PDL1 по сравнению с тем, что наблюдается при лечении только антителом к PDL1.

[0377] Также была проведена отдельная серия экспериментов *in vivo* с использованием комбинации антитела к PDL1 и антитела к MerTK MTK-29 или антитела к MerTK MTK-33. Как показано на **Фиг. 13**, введение антитела к PDL1 приводило к уменьшению объема опухоли по сравнению с объемом, наблюдаемым при лечении контрольным антителом. Введение комбинации антитела к PDL1 и антитела к MerTK MTK-29 или MTK-33 приводило к большему уменьшению объема опухоли по сравнению с мышами, которым вводили только антитело к PDL1. В частности, антитело к MerTK MTK-29, введенное в комбинации с антителом к PDL1, приводило к значительно большему ($p \leq 0,05$) снижению скорости роста опухоли по сравнению с наблюдаемым у мышей, получавших только антитело к PDL1. Лечение антителом к PDL1 в комбинации с антителом к MerTK MTK-33, в частности, значительно снижало скорость роста клеток рака толстой кишки MC38 в этих исследованиях по сравнению со скоростью, наблюдаемой у мышей, получавших лечение только антителом к PDL1. У животных, получавших 20 мг/кг антитело к MerTK MTK-33 в качестве монотерапии, также наблюдалось уменьшение объема опухоли по сравнению с наблюдаемым у животных, получавших контрольное антитело (данные не представлены).

[0378] На **Фиг. 14A, 14B, 14C и 14D** (а также на **Фиг. 15A, 15B, 15C и 15D**) показаны различия в скорости роста опухоли (объем опухоли с течением времени) у отдельных мышей в контроле, получавших только антитело к PDL1, антитело к PDL1 в комбинации с антителом к MerTK MTK-29, и получавших антитело к PDL1 в комбинации с антителом к MerTK MTK-33, соответственно. На **Фиг. 14A, 14B, 14C и 14D** построены с использованием линейной шкалы по оси Y. На **Фиг. 15A, 15B, 15C и 15D** представлены те же самые результаты, нанесенные с использованием Log₂ шкалы на оси ординат. Как показано на этих фигурах, комбинированное лечение антителом к PDL1 и либо антителом к MerTK MTK-29, либо MTK-33 приводило к почти полной регрессии опухолей у 4 из 9 мышей, исследованных в этих исследованиях.

[0379] На **Фиг. 16** показана кривая выживаемости мышей с опухолями из этих исследований. Среднее время выживаемости мышей, которым вводили контрольное антитело, составляло 28 дней; среднее время выживаемости мышей, которым вводили только антитело к PDL1, составляло 35 дней; среднее время выживаемости мышей, которым вводили антитело к PDL1 в комбинации с антителом к MerTK MTK-29, составляло 35 дней; и среднее время выживаемости мышей, которым вводили антитело к PDL1 в комбинации с антителом к MerTK MTK-33, выходит за пределы конечного 42-дневного периода времени после имплантации опухоли: 6 из 9 мышей были еще живы на 42-й день после этого комбинированного лечения. В совокупности результаты, представленные на **Фиг. 12A, 12B, 13, 14A, 14B, 14C, 14D, 15A, 15B, 15C, 15D** и **16**, продемонстрировали, что антитела к MerTK MTK-29 и MTK-33 в комбинации с антителом к PDL1 обладает повышенной эффективностью в ингибировании роста опухоли и улучшении противораковой иммунотерапии по сравнению с лечением одним антителом к PDL1.

Пример 20: Модуляция продукции провоспалительных цитокинов или хемокинов у мышей

[0380] Влияние антител к MerTK по настоящему изобретению на продукцию провоспалительных цитокинов или хемокинов у мышей исследовали следующим образом. Контрольное антитело или антитело к MerTK MTK-24, MTK-29, MTK-30 или MTK-33 вводили мышам C57BL/6 посредством внутрибрюшинной инъекции в дозе 20 мг/кг (N=5 на группу). Через час у каждого животного брали кровь для измерения изменений уровней провоспалительных цитокинов или хемокинов. Панель мышинных провоспалительных хемокинов LEGENDplex (Biolegend, кат. № 740451) и панель мышинных макрофагов/микроглии LEGENDplex (Biolegend, кат. № 740846) использовали в соответствии с инструкциями производителя следующим образом. Вкратце, образцы сыворотки мышей разводили в 4 раза буфером для анализа. Стандартный коктейль последовательно разбавляли буфером для анализа. Для настройки стандарта добавили 25 мкл матрицы B, 25 мкл стандартного раствора и 25 мкл смешанных частиц. Для подготовки лунок для образцов добавляли 25 мкл буфера для анализа, 25 мкл разведенных образцов сыворотки и 25 мкл смешанных частиц. Каждый планшет помещали на шейкер для планшетов при 500 об/мин на 2 часа. После промывки планшетов в каждую лунку добавляли 25 мкл детектирующих антител, а затем планшет помещали на шейкер для планшетов на 1 час. Добавляли 25 мкл SA-PE и затем планшет встряхивали в течение 30 минут. После промывки образцы ресуспендировали в 1X промывочном буфере и собирали на BD FACS CantoII (Becton Dickinson, Сан-Хосе, штат Калифорния), а данные анализировали с помощью программного обеспечения LEGENDplex (Biolegend).

[0381] На **Фиг. 17A, 17B, 17C, 17D** и **17E** показаны уровни KC (CXCL1), MCP1 (CCL2), MIP-1 α (CCL3), MIP-1 β (CCL4) и IL-6, соответственно, у мышей после введения антител к MerTK по настоящему изобретению. Как показано на этих фигурах, уровень каждого из этих хемокинов или цитокинов увеличивался в ответ на введение антител к MerTK MTK-24, MTK-29, MTK-30 и MTK-33 у мышей по сравнению с уровнем, наблюдаемым у мышей, которым вводили контрольное антитело. Эти результаты показали, что антитела к MerTK MTK-24, MTK-29, MTK-30 или MTK-33 индуцировали продукцию провоспалительных хемокинов или цитокинов в периферических клетках мыши MerTK-зависимым образом. Эти результаты также продемонстрировали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны в повышении уровней провоспалительных хемокинов/цитокинов *in vivo*, таким образом предоставляя дополнительные доказательства того, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны при активации противоопухолевого иммунного ответа.

Пример 21: Модуляция продукции провоспалительных цитокинов или хемокинов у отличных от человека приматов

[0382] Действие антител к MerTK по настоящему изобретению на продукцию провоспалительных

цитокинов или хемокинов *in vivo* тестировали на яванских макаках следующим образом. Антитело к MerTK MTK-15, MTK-16 или MTK-21 вводили яванским макакам посредством внутривенной инъекции в дозе 10 мг/кг (N=3 на группу). Кровь брали перед введением дозы (до введения дозы) и через 1 час, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 72 часа, 168 часов и 216 часов после введения дозы. Уровни провоспалительных цитокинов и хемокинов определяли с использованием панели воспаления NHP LEGENDplex (Biolegend, кат. № 740389) и панели хемокинов/цитокинов NHP LEGENDplex (Biolegend, кат. № 740317) в соответствии с инструкциями производителя. Вкратце, образцы плазмы разводили в 4 раза буфером для анализа. Стандартный коктейль последовательно разбавляли буфером для анализа. Для подготовки стандартных лунок добавляли 25 мкл матрицы В, 25 мкл стандартного раствора и 25 мкл смешанных частиц. Для подготовки лунок для образцов добавляли 25 мкл буфера для анализа, 25 мкл образцов разбавленной плазмы и 25 мкл смешанных частиц. Планшеты помещали на шейкер для планшетов при 500 об/мин на 2 часа. После промывки добавляли 25 мкл детектирующих антител, затем планшет встряхивали в течение 1 часа. Добавляли 25 мкл SA-PE и затем планшет встряхивали в течение 30 минут. После промывки образцы ресуспендировали в 1X промывочном буфере и собирали на BD FACS CantoII (Becton Dickinson, Сан-Хосе, штат Калифорния), а данные анализировали с помощью программного обеспечения LEGENDplex (Biolegend). Графики были построены как кратное увеличение уровней цитокинов/хемокинов в каждый конкретный момент времени по сравнению с уровнями цитокинов/хемокинов до введения дозы.

[0383] На **Фиг. 18А, 18В, 18С и 18D** показана динамика изменений уровней MCP1 (CCL2), MIP-1 β (CCL4), TNF и IFN, соответственно, в плазме, полученной от яванских макак, которым вводили антитело к MerTK MTK-15, MTK-16, или MTK-21, или контроль носителем. Пиковые уровни MCP1 наблюдались примерно через 12 часов после введения дозы. Введение антитела к MerTK MTK-15 приводило к увеличению уровней MIP-1 β , TNF и IFN вплоть до 72 часов после введения дозы. В совокупности эти результаты продемонстрировали, что антитела к MerTK MTK15, MTK-16 или MTK-21 увеличивали выработку провоспалительных хемокинов или цитокинов в периферических клетках яванских макак MerTK-зависимым образом. Эти результаты также указывают на то, что антитела к MerTK по настоящему изобретению эффективны в отношении повышения уровней MCP1, MIP-1 β , TNF и IFN (которые представляют собой провоспалительные цитокины/хемокины) *in vivo* у отличных от человека приматов.

[0384] Два дополнительных исследования были проведены на яванских макаках, которым вводили антитело к MerTK MTK-15 или антитело к MerTK MTK-29 (оба из которых блокируют связывание ProS с MerTK, но не блокируют связывание Gas6 с MerTK, и оба связываются с доменами Ig2 и FN1 MerTK) или вводили антитело к MerTK MTK-16 (которое блокирует связывание как ProS, так и Gas6 с MerTK и которое связывается с доменом Ig1 MerTK). В этих предварительных исследованиях у животных, которым вводили антитело к MerTK MTK-16, наблюдалось снижение системной токсичности по сравнению с животными, которым вводили антитело к MerTK MTK-15 или антитело к MerTK MTK-29. Эти предварительные результаты позволяют предположить, что антитела к MerTK, которые блокируют связывание как ProS, так и Gas6 с MerTK, могут обеспечить лучший профиль безопасности *in vivo*, чем антитела к MerTK, которые блокируют связывание ProS с MerTK, но не блокируют связывание Gas6 с MerTK. Эти предварительные результаты также предполагают, что антитела к MerTK, которые связываются с доменом Ig1 MerTK, могут обеспечивать лучший профиль безопасности *in vivo*, чем антитела к MerTK, которые связываются с доменами Ig2 и FN1 MerTK.

Пример 22: Анализ фосфо-АКТ в макрофагах человека

[0385] Способность антител к MerTK по настоящему изобретению блокировать сигналинг фосфо-АКТ в

присутствии человеческого белка Gas6 (huGas6) оценивали следующим образом. Дифференцированные макрофаги человека обрабатывали 100 нМ дексаметазона (Sigma-Aldrich, кат. № D4902) и 10 нг/мл huM-CSF (R&D Systems, кат. № 216MC25CF) в течение 2 дней для поляризации в макрофаги M2c. 100000 клеток высевали в 96-луночный планшет. На следующий день клетки культивировали на бессывороточной среде в течение 4 часов. Клетки обрабатывали антителами к MerTK в течение 30 минут при 37°C, а затем к клеткам добавляли 200 нМ huGas6 (R&D systems, кат. № 885-GSB-050). После 30-минутной инкубации клетки лизировали для определения фосфо-АКТ (pАКТ) (CisBio, кат. № 63ADK082PEG) или общего количества АКТ (CisBio, кат. № 64NKTPEG) с помощью гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF) в соответствии с инструкциями производителя. Сигнал pАКТ нормализовали к общему сигналу АКТ для количественной оценки конечной активности pАКТ.

ТАБЛИЦА 18

Антителю	Средняя IC50 (нМ) От двух разных доноров
МТК-01	1,28
МТК-03	0,019
МТК-05	0,2464
МТК-07	0,371
МТК-09	1,665
МТК-11	2,627
МТК-12	1,283
МТК-15	2,8
МТК-16	7,74
МТК-17	3,422
МТК-18	1,30
МТК-19	0,902
МТК-20	1,483
МТК-22	0,531
МТК-29	5,37
МТК-33	4,28

[0386] На **Фиг. 19А и 19В** показаны иллюстративные антитела к MerTK по настоящему изобретению (МТК-9, МТК-12, МТК-15, МТК-16, МТК-18, МТК-20, МТК-21, МТК-22, МТК-29, и МТК-33) ингибировали опосредованную Gas6 активность pАКТ дозозависимым образом. В приведенной выше **таблице 18** показаны значения IC50, определенные для антитела к MerTK, блокирующего опосредованную Gas6 активность pАКТ. Как показано в **таблице 18**, антитела к MerTK по настоящему изобретению ингибировали опосредованный лигандом (например, Gas6) сигналинг MerTK. Эти результаты также продемонстрировали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению ингибировали опосредованный Gas6 сигналинг MerTK, что измерялось по уровням pАКТ, со значениями IC50 в диапазоне от 0,019 нМ до 7,74 нМ.

Пример 23. Анализ связывания домена антителами к MerTK

[0387] Следующие исследования были выполнены для анализа сайтов связывания различных антител к MerTK по настоящему изобретению на MerTK человека.

[0388] MerTK является членом семейства TAM, члены которого имеют уникальную доменную структуру, содержащую N-концевую область (N), два иммуноглобулиноподобных домена (Ig1 и Ig2), два домена фибронектина типа III (FN1 и FN2), околочелювную область (JM) и внутриклеточный тирозинкиназный домен. MerTK также содержит менее структурированные области как на N-конце белка, так и в околочелювной (JM) области белка MerTK; расщепление околочелювной области приводит к высвобождению растворимого внеклеточного домена MerTK (ВКД). ВКД MerTK человека можно разделить на следующие домены, аминокислотные последовательности которых показаны ниже в таблице 19:

ТАБЛИЦА 19

Домен MerTK человека	Последовательность	SEQ ID NO:
N-концевой домен (N) ВКД MerTK человека	AITEAREEAKPYPLFPFPGSLQTDHTPLLSLPHASGYQP ALMFSPTQPGRPHTGNVAIPQVTSVE	449
Иммуноглобулиноподобный домен (Ig1) ВКД MerTK человека	SKPLPPLAFKHTVGHIILSEHKGVKFNCSISVPNIYQDTTIS WWKDGKELLGAHHAITQFYPDDEVTAIIASFISITSVQRS NGSYICKMKINNEEIVSDPIYIEVQ	450
Иммуноглобулиноподобный домен (Ig2) ВКД MerTK человека	GLPHFTKQPESMNVTRNTAFNLTCQAVGPPEPVNIFWVQ NSSRVNEQPEKSPSVLTVPGLEMAVFSCEAHNDKGLTVS KGVQIN	451
Домен фибронектина типа III (FN1) ВКД MerTK человека	IKAIPSPTEVSIRNSTAHSILISWVPGFDGYSPFRNCSIQVK EADPLSNGSVMIFNTSALPHLYQIKQLQALANYSIGVSCM NEIGWSAVSPWILAST	452
Домен фибронектина типа III (FN2) ВКД MerTK человека	TEGAPSVAPLNVTVFLNESSDNVDIRWMKPPTKQQDGEL VGYRISHVWQSAGISKELLEEVGQNGSRARISVQVHNATC TVRIAAVTRGGVGPFSDPV	453
Область околочелювного домена (JM) ВКД MerTK человека	KIFIPAHGWVDYAPSSTPAPGNADPVLII	454

[0389] Белок Ax1, еще один член семейства TAM, имеет общую доменную структуру с MerTK, имея следующие домены и связанные аминокислотные последовательности в своем ВКД:

ТАБЛИЦА 20

Домен Ax1 человека	Последовательность	SEQ ID NO:
N-концевой домен (N) ВКД Ax1 человека	APRGTAEEESPFVGNPGNITGARGLTG	455
Иммуноглобулиноподобный домен (Ig1) ВКД Ax1	TLRCQLQVQGEPEVHWLRDGGQILELADSTQTQVPLGED EQDDWIVVSQRLRITSLQLSDTGQYQCLVFLGHQTFVSQP	456

Домен Axl человека	Последовательность	SEQ ID NO:
человека	GYVGLE	
Иммуноглобулиноподобный домен (Ig2) ВКД Axl человека	GLPYFLEEPEDRTVAANTPFNLSCQAQGPPEPVDLLWLQD AVPLATAPGHGPPQSRSLHVPGLNKTSSFSCEAHNAKGVTTS RTATITVLP	457
Домен фибронектина типа III (FN1) ВКД Axl человека	QQPRNLHLVSRQPTELEVAWTPGLSGIYPLTHCTLQAVLS DDGMGIQAGEPDPPPEEPLTSQASVPPHQLRLGSLHPHTPY HIRVACTSSQGPSSWTHWLPVETPEG	458
Домен фибронектина типа III (FN2) ВКД Axl человека	VPLGPPENISATRNGSQAFVHWQEPRAPLQGTLLGYRLAY QGQDTPEVLMDIGLRQEVTLELQGDGSVSNLTVCVAAAYT AAGDGPWS	459
Околосмембранный домен (JM) ВКД Axl человека	LPVPLEAWRPGQAQPVHQLVKEPSTPAFSWPWW	460

[0390] В этих экспериментах была рекомбинантно экспрессирована серия химерных белков, в которых различные домены MerTK человека были заменены соответствующими доменами Axl человека. Полученные химерные белки рекомбинантно экспрессировали в клетках Expi293, а связывание различных антител к MerTK по настоящему изобретению затем анализировали на их способность связывать химеры с замененными доменами Axl/MerTK. ДНК, кодирующая химеры с замененными доменами и мутанты с делециями, с сигнальной последовательностью (MGWSCILFLVATATGVHS (SEQ ID NO:461) в конструкциях MerTK и MGWSCILFLVATATG (SEQ ID NO:462) в конструкциях Axl) и линкером+His+Ави-меткой (GGSGHHHHHHGGGLNDIFEAQKIEWHE; SEQ ID NO: 463), получали путем генного синтеза и клонировали в вектор экспрессии pcDNAtopo3.4 (GeneArt, ThermoFisher). Клетки Expi293 трансфицировали 20 мкг плазмид и ExpiFectamine в соответствии с рекомендованными процедурами (ThermoFisher). Трансфицированные клетки выращивали в 20 мл культур при встряхивании при 37°C и 5% CO₂ в течение четырех дней. Клетки осаждали центрифугированием и супернатанты фильтровали через фильтры с диаметром пор 0,2 мкм под вакуумом.

[0391] В таблице 21 показаны конфигурации различных химер с замененными доменами Axl/MerTK, которые были созданы для использования в этих исследованиях. В таблице 21 М (MerTK) или А (Axl) указывает, из какого белка этот конкретный домен был включен (т.е. заменен) в соответствующую химерную белковую конструкцию; N (N-концевой домен), Ig1 (иммуноглобулиноподобный домен 1), Ig2 (иммуноглобулиноподобный домен 2), FN1 (домен 1 фибронектина III типа), FN2 (домен 2 фибронектина III типа) и JM (околосмембранный домен).

ТАБЛИЦА 21

Химерный Axl/MerTKc	N	Ig1	Ig2	FN1	FN2	JM
Полноразмерный MerTK	M	M	M	M	M	M
MerTK с замененным N	A	M	M	M	M	M
MerTK с замененным Ig1	M	A	M	M	M	M
MerTK с замененным Ig2	M	M	A	M	M	M

Химерный Ax1/MerTKc	N	Ig1	Ig2	FN1	FN2	JM
MerTK с замененным FN1	M	M	M	A	M	M
MerTK с замененным FN2	M	M	M	M	A	M
MerTK с замененным JM	M	M	M	M	M	A
Полноразмерный Ax1	A	A	A	A	A	A
Ax1 с замененным N	M	A	A	A	A	A
Ax1 с замененным Ig1	A	M	A	A	A	A
Ax1 с замененным Ig2	A	A	M	A	A	A
Ax1 с замененным FN1	A	A	A	M	A	A
Ax1 с замененным FN2	A	A	A	A	M	A
Ax1 с замененным JM	A	A	A	A	A	M
MerTK с удаленным N		M	M	M	M	M
MerTK с удаленным N/Ig1			M	M	M	M
MerTK с удаленным N/Ig1/Ig2				M	M	M
MerTK с удаленным N/Ig1/Ig2/FN1					M	M
MerTK с удаленным N/Ig1/Ig2/FN1/FN2						M

[0392] Связывание антител к MerTK по настоящему изобретению с этими химерами с замененными доменами или мутантами с делециями (полученными, как описано выше) тестировали с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР) с использованием Carterra LSA. Очищенные антитела к MerTK иммобилизовали в двух экземплярах на чипе HC30M (Carterra) путем амминного сочетания в соответствии с инструкциями производителя (описанными ранее). Супернатанты, содержащие конструкции, разбавляли 1:1 рабочим буфером, содержащим 0,5 мг/мл BSA (HBS-TE, Carterra), и инъецировали поверх иммобилизованных антител. Поверхность регенерировали с помощью 10 mM глицина pH 2,0 после каждой инъекции конструкции. Сенсограммы анализировали с использованием программного обеспечения Carterra EpiTope для выявления закономерностей связывания конструкции. Оценивали потерю связывания с конструкциями MerTK с доменами, удаленными или замененными из Ax1, и/или усиление связывания с конструкциями Ax1 с замененными доменами MerTK. Данные этих исследований использовали для построения карты связывания доменов для антител к MerTK и их связывания с различными доменами MerTK человека.

[0393] В дополнение к антителам к MerTK по настоящему изобретению в этих исследованиях также использовали следующие антитела к MerTK: крысиное антитело к мышиному MerTK DS5MMER (eBioscience, идентификационный номер клона DS5MMER, крысиный IgG2a), мышинное антитело к человеческому MerTK H1 (BioLegend, идентификационный номер клона: 590H11G1E3, мышинный IgG1), мышинное антитело к человеческому MerTK H2 (R&D systems, идентификационный номер клона: 125518, мышинный IgG2b), мышинное антитело к человеческому MerTK H3 (R&D systems, идентификационный номер клона 125508, IgG2b мыши), мышинное антитело к человеческому MerTK H6 (eBioscience, идентификационный номер клона: A3KCAT, мышинный IgG1), мышинное антитело к человеческому MerTK H7 (Sino Biological, идентификационный номер клона: 09, мышинный IgG2b), человеческое антитело к человеческому MerTK M6 (описано в WO2016/106221, huIgG1 LALAPS) и человеческое антитело к человеческому MerTK CDX AB3000

(описано в WO2020/106461).

ТАБЛИЦА 22

Антитело	Связывающий домен
H6	N-концевой
MTK-10	Ig1
MTK-16	
MTK-21	
MTK-25	
MTK-33	
M6	
MTK-22	
MTK-06	Ig2/FN1
MTK-15	
MTK-29	
MTK-30	
CDX AB3000	
H1	
H2	
H3	Околосмембранный домен
H7	

[0394] Результаты этих исследований связывания показаны выше в **таблице 22**. Как показано в **таблице 22**, антитело к MerTK H6 связывалось с химерными белковыми конструкциями, содержащими N-концевую область человеческого MerTK. Антитела к MerTK MTK-10, MTK-16, MTK-21, MTK-25, MTK-33 и M6 связывались с конструкциями, содержащими домен Ig1 MerTK. Антитело к MerTK MTK-22, связанное с химерными белковыми конструкциями, содержащими Ig1 MerTK; однако на связывание антитела к MerTK MTK-22 влияло присутствие домена FN1 MerTK. Антитела к MerTK MTK-06, MTK-15, MTK-29, MTK-30, CDX AB3000, H1 и H2 связывались только с химерными белковыми конструкциями, которые содержали оба домена MerTK Ig2 и FN1. Антитела к MerTK H3 и H7, связанные с химерными белковыми конструкциями, содержащими околосмембранную область MerTK. Ни одно из протестированных выше антител к MerTK не связывалось с доменом ВКД Ax1 человека (данные не показаны).

[0395] Эти результаты показали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению, которые блокировали связывание как Gas6, так и ProS с MerTK, как правило, связывались с доменом Ig1 человеческого MerTK. Эти результаты также показали, что антитела к MerTK по настоящему изобретению, которые блокировали связывание только ProS с MerTK, как правило, связывались с комбинацией обоих доменов Ig2/FN1.

Пример 24: Эффект лечения антителом к MerTK на модели рака толстой кишки у трансгенных мышей

[0396] Влияние антител к MerTK на рост опухоли *in vivo* определяли следующим образом, используя мышиную модель рака толстой кишки *in vivo*, в которой мыши были трансгенными и включали человеческий MerTK. Раковые клетки мыши MC38 имплантировали подкожно в выбритый правый бок мышей с нокином (KI) huMerTK (Ozgene, Перт, Австралия), где MerTK человека вводили в геном мыши. Когда размер опухоли достиг приблизительно 80-130 мм³ в объеме, мышам вводили 10 мг/кг MTK-33 с 3 мг/кг анти-PDL1 (клон BM1), 10 мг/кг MTK-16 с 3 мг/кг анти-PDL1, 3 мг/кг только анти-PDL1 или 10 мг/кг контрольного антитела

два раза в неделю. Объем опухоли измеряли три раза в неделю.

[0397] На Фиг. 20А показано, что комбинация антитела к PDL1 либо с антителом к MerTK MTK-16, либо с антителом к MerTK MTK-33 умеренно снижала скорость роста опухоли по сравнению со скоростью, наблюдаемой у мышей, получавших лечение либо только антителом к PDL1, либо контрольным антителом.

На Фиг. 20В показан рост опухоли у отдельной мыши в каждой группе, и комбинированное лечение анти-PDL1 либо с MTK-16, либо с MTK-33 привело к полной регрессии опухолей у 3 или 4 из 9 мышей. Таким образом, эти данные демонстрируют, что связывающее MerTK человеческое антитело к MerTK MTK-16 или MTK-33 в комбинации с антителом к PDL1 повышает эффективность ингибирования роста опухоли

Пример 25. Гуманизация мышинных антител к MERTK

[0398] Гуманизированные варианты некоторых исходных мышинных антител к MerTK по настоящему изобретению были получены следующим образом.

[0399] Исходное мышинное антитело к MerTK MTK-16 содержит вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность:

LIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTNHNHGMNWVKQDPGKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFV
FSMETSASAAFLQINNKNEDTATYFCARKGVTAARYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:20), и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность:
DIVMTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYKKKPGQSPKALINLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDF
TLTISNVQSEDLADYFCLQHNWNYPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:55).

[0400] Исходное мышинное антитело к MerTK MTK-33 содержит вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность:

QVQLQQPGPELVRPGTSVKLSCKASGYFTTSYWMHWIKQRPQGGLWIGVIDPSDNYINYNQKFKGKATL
TVDTSSSTAYLQLSSLTSEDSAVYYCAREAGTRGYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:37), и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность:
SIVMTQTPKFLVSAGDRVIITCKASQSVSNTVAWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGGYGTDF
TFTISTVQAEDLAVYFCQQDYRSPFTFGSGTQLEMK (SEQ ID NO:72).

[0401] Исходное мышинное антитело к MerTK MTK-15 содержит вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность:

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYFTTNYGVHNVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFA
FSLETSASTAYLQINNKNEDMATYFCARGNRYAYMDYWGQGTSTTVSS (SEQ ID NO:19), и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность:
QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYMHWYQQKSGSSPKWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL
TISRVEAEDAATYYCQQWSSNPRTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:54).

[0402] Исходное мышинное антитело к MerTK MTK-29 содержит вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность:

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKSSGFTFTTYGMSWVKQAPGKGLKWMGWINTYSGVPTYTDDFKGRFAF
SLETSASTASLQINNKNEDTATYFCARYTNYGYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:33), и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность:
QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRATSSVGYMHWYQQKPGSSPKWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSL
TISRVEAENAATYYCQQWGSNPFTFGSGKLEIK (SEQ ID NO:68).

[0403] Одним из способов гуманизации нечеловеческих антител является трансплантация CDR нечеловеческого (например, мышинного) антитела на акцепторный каркас антитела человека. Такая трансплантация CDR может привести к ослаблению или полной потере аффинности гуманизированного

антитела к его мишени из-за нарушения его каркаса. В результате может потребоваться замена некоторых аминокислотных остатков в каркасе человеческого антитела аминокислотными остатками из соответствующих положений каркаса мышинового антитела (называемые обратными мутациями) для восстановления ослабленной или утраченной аффинности в результате гуманизации. Таким образом, аминокислотные остатки, подлежащие замене в контексте выбранного акцепторного каркаса зародышевой линии антитела человека, должны быть определены таким образом, чтобы гуманизированное антитело по существу сохраняло функции и паратопы. Кроме того, сохранение или улучшение термической стабильности и растворимости желательны для хорошей технологичности и дальнейшей разработки.

[0404] Вкратце, аминокислотные последовательности VH и VL мышинных моноклональных антител к MerTK, подлежащих гуманизации, сравнивали с функциональными аминокислотными последовательностями зародышевой линии человека VL, VH, LJ, и HJ, взятыми из IMGT (<http://www.imgt.org/>). Псевдогены и открытые рамки считывания были исключены из этих анализов. На одно мышинное моноклональное антитело (искомое) отбирали одну или две наиболее сходные аминокислотные последовательности зародышевой линии VH и одну из наиболее сходных VL и объединяли с наиболее сходными генами VJ и HJ, получая одну или две гуманизированные аминокислотные последовательности. CDR, подлежащие трансплантации на каркас человека, определяли в соответствии с определением AbM.

[0405] Моделирование антител на основе структуры применяли в процессе гуманизации мышинных моноклональных антител к MerTK MTK-15 и MTK-29 с использованием модуля BioMOE MOE (Molecular Operating Environment, Chemical Computing Group, Монреаль, Канада). Вкратце, аминокислотные последовательности VH и VL мышинных моноклональных антител MTK-15 и MTK-29 сравнивали с функциональными аминокислотными последовательностями зародышевой линии человека VL, VH, LJ, HJ, взятыми из IMGT (<http://www.imgt.org/>) как указано выше. Были отобраны три из наиболее сходных аминокислотных последовательностей зародышевой линии VH и три наиболее сходных VL и объединены с наиболее сходными генами VJ и HJ, что дало от пяти до восьми гуманизированных аминокислотных последовательностей.

[0406] Искомую последовательность и гуманизированные аминокислотные последовательности использовали для создания моделей гомологии Fv с использованием модуля BioMOE или модуля Antibody Modeler MOE (Molecular Operating Environment, Chemical Computing Group, Монреаль, Канада). Анализ силовых полей AMBER10:EHT использовали для минимизации энергии в течение всего процесса моделирования гомологии антител. На основе полученных моделей гомологии Fv были рассчитаны, проанализированы и отсортированы молекулярные дескрипторы, такие как энергия взаимодействия между VL и VH, изоэлектрическая точка на основе координат (3D pI), гидрофобное пятно и площадь заряженной поверхности, и отсортированы с помощью показателей оценки, предоставленных MOE. Эти молекулярные дескрипторы использовались для определения приоритетности гуманизированных моноклональных антител для последующих экспериментальных процедур, включая экспрессию белков, очистку, исследования аффинности связывания и функциональные анализы.

[0407] Модуль BioMOE MOE предоставляет инструмент «Свойства сайта мутации» для визуализации и классификации потенциальных остатков для обратной мутации. В этом контексте обратная мутация определяется как аминокислотная замена, которая возвращается к исходной искомой аминокислотной последовательности путем замены гуманизированной аминокислотной последовательности. С помощью этого инструмента исходный запрос (эталон) сравнивали по отдельности с выбранными гуманизированными вариантами как по первичной аминокислотной последовательности, так и по 3D структуре 3D модели

гомологии Fv.

[0408] Изменения между эталонным (т. е. исходным) антителом и гуманизированным вариантом классифицировали на основе различий в типах аминокислот, потенциала взаимодействия с остатками CDR, потенциала воздействия для спаривания VL/VH и потенциального изменения гидрофобной и заряженной площади поверхности в области CDR и вблизи нее.

[0409] Мутации рядом с CDR или поверхности взаимодействия VL/VH, имеющие значительную разницу в заряде или имеющие сильные взаимодействия на основе водородных связей, оценивали по отдельности, и мутации со значительным нарушением возвращали к исходным искомым остаткам.

[0410] Также проводили созревание аффинности гуманизированных антител к MerTK MTK-33, MTK-29 и MTK-16. Вкратце, определенные аминокислотные остатки в тяжелой цепи или легкой цепи подвергали селективному мутагенезу, и мутанты с улучшенным связыванием отбирали посредством дополнительных раундов скрининга. Этот процесс одновременно улучшал специфичность, межвидовую перекрестную реактивность и профили разворачиваемости. Характеристика антител к MerTK с созревшей аффинностью, описанная в данном документе, включала измерения аффинности методом ППП на Catterra LSA и анализы блокирования эффероцитоза макрофагами человека. После нескольких раундов созревания аффинности были получены антитела к MerTK с желаемой аффинностью. Аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи (VH) и варибельной области легкой цепи (VL) представлены ниже в **таблице 23** (варианты MTK-15), **таблице 24** (варианты MTK-16), **таблице 25** (варианты MTK-29) и **таблице 26** (варианты MTK-33). В **таблицах 23, 24, 25 и 26** подчеркнуты гиперварибельные области (HVR) в каждой из цепей.

[0411] В **таблице 27** и **таблице 28** представлены аминокислотные последовательности для HVR тяжелой цепи и HVR легкой цепи, соответственно, для вариантов антитела к MerTK MTK-15. В **таблице 29** и **таблице 30** представлены аминокислотные последовательности для HVR тяжелой цепи и HVR легкой цепи, соответственно, для вариантов антитела к MerTK MTK-16. В **таблице 31** и **таблице 32** представлены аминокислотные последовательности для HVR тяжелой цепи и HVR легкой цепи, соответственно, для вариантов антитела к MerTK MTK-29. В **таблице 33** и **таблице 34** представлены аминокислотные последовательности для HVR тяжелой цепи и HVR легкой цепи, соответственно, для вариантов антитела к MerTK MTK-33.

ТАБЛИЦА 23

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-15.1	QVQLVQSGSELKPGASVK VSCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE PTYAQGFTGRFVFLDTSVS TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYQDYWGQGLVT VSS	234	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC RASSSVSYMHWYQQKPGQAPR PLIYATSNLASGIPARFSGSGS TSYTLTISSLEPEDFAVYYCQQ WSSNPRTFGGGTKVEIK	247

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-15.2	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWGNTYTG <u>EPTYAQGFTGRFVFSLDTSV</u> STAYLQISSLKAEDTAVYYC ARGNRYAYMDYWGQGTLV TVSS	235	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSSVSYMH</u> WYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSELPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTKVEIK</u>	247
MTK-15.3	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE <u>PTYAQGFTGRFVFSLDTSVS</u> TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYMDYWGQGTLVT VSS	236	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSHVS</u> YMHWYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSELPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTKVEIK</u>	248
MTK-15.4	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE <u>PTYAQGFTGRFVFSLDTSVS</u> TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYMDYWGQGTLVT VSS	236	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSSVGYM</u> HWYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSELPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTKVEIK</u>	249
MTK-15.5	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE <u>PTYAQGFTGRFVFSLDTSVS</u> TAYLQISSLKAEDTAVYYCT RGTRYAYMDYWGQGTLVT VSS	237	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSSVGYM</u> HWYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSELPEDFAVYYC <u>QQ</u> WSSNPRTFGGGTKVEIK	249
MTK-15.6	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE <u>PYYAQGFTGRFVFSLDTSVS</u> TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYMDYWGQGTLVT VSS	238	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSSVGYM</u> HWYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSELPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTKVEIK</u>	249

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-15.7	QVQLVQSGSELKKPGASVK VCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE PTYAQGFTGRFVFSLDTSVS TAYLQISSLKAEDTAVYYCV RGNRYAYMDYWGQGLVT VSS	239	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSGVSYMH</u> WYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	250
MTK-15.8	QVQLVQSGSELKKPGASVK VCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE PTYAQGFTGRFVFSLDTSVS TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGVRYAYMDYWGQGLVT VSS	240	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSVGYMH</u> WYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	251
MTK-15.9	QVQLVQSGSELKKPGASVK VCKASGYTFTNYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYTGE PTYAQGFTGRFVFSLDTSVS TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGYRYAYMDYWGQGLVT VSS	241	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSTSYMH</u> WYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	252
MTK-15.10	QVQLVQSGSELKKPGASVK VCKASGYTFANYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYQG EPTYAQGFTGRFVFSLDTSV STAYLQISSLKAEDTAVYYC TRGARYAYMDYWGQGLV TVSS	242	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSVGYMH</u> WYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	249
MTK-15.11	QVQLVQSGSELKKPGASVK VCKASGYTFANYGVHWVR QAPGQGLEWMGWINTYEGE PTYAQGFTGRFVFSLDTSVS TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYQDYWGQGLVT VSS	243	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSVSYMH</u> WYQQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	247

Антителю	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-15.12	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFAN <u>YGVH</u> WVR QAPGQGLEWMG <u>WINTYQG</u> <u>EPTYAQGFTGRFV</u> SLDTSV STAYLQISSLKAEDTAVYYC ARGVRYAYMDYWGQGTLV TVSS	244	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSSVGYMH</u> WYQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	251
MTK-15.13	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFT <u>NYGVH</u> WVR QAPGQGLEWMG <u>WINTYTGE</u> <u>PTYAQGFTGRFV</u> SLDTSVS TAYLQISSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYEDYWGQGTLVT VSS	245	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSSVQYMH</u> WYQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	253
MTK-15.14	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFT <u>NYGVH</u> WVR QAPGQGLEWMG <u>WINTYTGE</u> <u>PTYAQGFTGRFV</u> SLDTSVS TAYLQICSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYMDYWGQGTLVT VSS	246	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASSSVSYM</u> HWYQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPARFSGSGSG TSYTLTISSEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	247
MTK-15.15	QVQLVQSGSELKKPGASVK VSCKASGYTFT <u>NYGVH</u> WVR QAPGQGLEWMG <u>WINTYTGE</u> <u>PTYAQGFTGRFV</u> SLDTSVS TAYLQICSLKAEDTAVYYCA RGNRYAYMDYWGQGTLVT VSS	246	QIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASSSVSYM</u> HWYQKPGQAPR PLIY <u>ATSNLAS</u> GIPDRFSGSGSG TSYTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>WSSNPRTFGGGTK</u> VEIK	254

ТАБЛИЦА 24

Антителю	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-16.1	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYTFT <u>NHGMN</u> WVRQAPGQ	255	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT <u>CKASQNVRTA</u> VAWYQKPGK	257

	GLEWMGWINTYTGEPYTAQGFT GRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARKGVTAARYFDYW GQGT LVTVSS		APKRLIYLASNHRHTGVPSRFSG SGSGTEFTLTISNLQPEDFATY YCLQHWNYPLTFGGGKVEIK	
MTK-16.2	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYTFTNHGMNWVRQAPGQ GLEWMGWINTYTGEPYADDFK GRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARKGVTAARYFDYW GQGT LVTVSS	256	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQNVRTAVAWYQQKPGK APKRLIYLASNHRHTGVPSRFSG SGSGTEFTLTISNLQPEDFATY YCLQHWNYPLTFGGGKLEIK	258

ТАБЛИЦА 25

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-29.1	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYIFTSYGLSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPTYAQGFTG RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGIFDYWGQGT LVTVSS	259	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASSSVGYMHWYQQKPGQ APRPLIYATSNLASGIPARFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQWGSWPFTFGGKLEIK	274
MTK-29.2	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGFTFTTYGMSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPTYTDDFKG RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGIFDYWGQGT LVTVSS	260	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASSSVGYMHWYQQKPGK APKPLIYATSNLASGVPSRFS GSGSGTEFTLTISNLQPEDFAT YYCQQWGSIPFTFGGKVEIK	275
MTK-29.3	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGFTFTTYGMSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPAYTDDFK GRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARYTNYGVFDYWGQ GTLVTVSS	261	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASSSVGYMHWYQQKPGK APKLLIYATSNLASGVPSRFS GSGSGTEFTLTISNLQPEDFAT YYCQQWGSIPFTFGGKLEIK	276

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-29.4	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYTFTTYGMSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPTYTDDFKG RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	262	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT CRASSSVGYMHWYQQKPGK APKLLIYATSNLAQGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQQWGSLPFTFGQGKLEI K	277
MTK-29.5	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYIFTSYGLSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPTYTDDFKG RFVFSLDTSVSTAYLQISPLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	263	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT CRASSSVGYMHWYQQKPGK APKLLIYATSNLAQGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQQWGSLPFTFGQGKLEI K	277
MTK-29.6	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYTFTTYGMSWVRQAPGQG LEWMGWINTMSGVPTYTDDFK GRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED DTAVYYCARYTNYGVFDYWGQ GTLVTVSS	264	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT CRASSSVGYMHWYQQKPGK APKLLIYATSNLAQGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQQWGSLPFTFGQGKLEI K	277
MTK-29.7	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYTFTTYGMSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPSYTDDFKA RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	265	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT CRASSSVGYMHWYQQKPGK APKLLIYATSNLAQGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQQWGSLPFTFGQGKLEI K	277
MTK-29.8	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYIFTTYGLSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPTYTDDFKG RFVFSLDTNVSTAYLQISSLKAED DTAVYYCARYTNYGVFDYWGQ GTLVTVSS	266	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT CRASSSVGYMHWYQQKPGK APKLLIYATSNLAQGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCQQWGSLPFTFGQGKLEI K	277

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-29.9	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYIFT <u>SYGLSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTYSGVPTYTDDFKG</u> RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	267	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>ATSNLAQGVPSRFS</u> GSGSGTGFTLTISSLQPEDFAT YYCQQWGSPLPFTFGQGKLEIK	278
MTK-29.10	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KTSSYTFT <u>TYGMSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTYSGVPTYTDDFKG</u> RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	268	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQKPGQ APRLLIY <u>ATSNLASGIPARFSG</u> SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQWGSPLPFTFGGGTKLEIK	279
MTK-29.11	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYTFT <u>TYGMSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTDSGVPTYTDDFKG</u> RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	269	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQKPGQ APRLLIY <u>ATSNLASGIPARFSG</u> SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQWGSPLPFTFGGGTKLEIK	279
MTK-29.12	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYTFT <u>TYGMSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTMSGVPTYTDDFK</u> <u>GRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKA</u> <u>EDTAVYYCARYTNYGVFDYWGQ</u> <u>GTLVTVSS</u>	264	DIQLTQSPGFLSASVGDRVITIT <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>ATSNLAQGVPSRFS</u> GSGSGTEFTLTISSLQPEDFAT YYCQQWGSPLPFTFGQGKLEIK	280
MTK-29.13	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYTFT <u>TYGMSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTASGVPTYTDDFKG</u> RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	270	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQEPGK APKLLIY <u>ATSNLAQGVPSRFS</u> GSGSGTEFTLTISSLQPEDFAT YYCQQWGSPLPFTFGQGKLEIK	281
MTK-29.14	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYTFT <u>TYGMSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTYSGVPSYTDDFKA</u> RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAED TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	265	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>ATSNLAQGVPSRFS</u> GSGSGTEFTLTIFSLQPEDFAT YYCQQWGSPLPFTFGQGKLEIK	282

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-29.15	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASSYFTFTYGM <u>SWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTMSGVPTYTDDFK</u> <u>GRFVFS</u> LDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARYTNYGVFDYWGQ GTLVTVSS	264	DIQLTQSPSFPSASVGDRVITIT <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>ATSNLAQGVPSRFS</u> GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QQWGS</u> LPFTFGQGKLEI K	283
MTK-29.16	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYIFT <u>SYGLSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WVNTYSGVPTYTDDFK</u> <u>GRFVFS</u> LDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARYTNYGVFDYWGQ GTLVTVSS	271	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT <u>CRASSSVGYMH</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>ATSNLAQGVPSRFS</u> GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QQWGR</u> LPFTFGQGKLEI IK	284
MTK-29.17	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYIFT <u>SYGLSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTYSGVPTYAQGFTG</u> RFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAE TAVYYCARYTNYGVFDYWGQG TLVTVSS	272	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITIT <u>CRSSSVGYMH</u> WYQQKPGK APKLLIY <u>ATSNLAQGVPSRFS</u> GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYC <u>QQWGS</u> LPFTFGQGKLEI K	285
MTK-29.18	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGYIFT <u>SYGLSWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WVNTYSGVPTYTDDFK</u> <u>GRFVFS</u> LDTSVSTAYLQISSLKAE DTAVYYCARYTNYGVFDYWGQ GTLVTVSS	271	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS <u>CRASSTVGYMH</u> WYQQKPGQ APRLLIY <u>ATSNLASGIPARFSG</u> SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YC <u>QQWGS</u> LPFTFGGGTKLEIK	286
MTK-29.19	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGFTFTTYGM <u>SWVRQAPGQG</u> LEWMG <u>WINTYSGVPTYAQGFTG</u> RFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAE DTAVYYCARYTNYGYFDYWGQ GTLVTVSS	273	QIVLTQSPGTLSPGERATLS <u>CRATSSVGYMH</u> WYQQKPGQ APRPLIY <u>ATSNLASGIPDRFSG</u> SGSGTSYTLISRLEPEDFAVY YC <u>QQWGS</u> NPFTFGQGKLEI K	287

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-29.20	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGFTFTTYGMSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPTYAQGFTG RFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAE DTAVYYCARYTNYGYFDYWGQ GTLVTVSS	273	QIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRATSSVGVMHWYQQKPGL APRPLIYATSNLASGIPDRFSG SGSGTSYTLTISRLEPEDFAVY YCQQWGSNPFTFGQGGTKLEI K	288
MTK-29.21	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSC KASGFTFTTYGMSWVRQAPGQG LEWMGWINTYSGVPTYAQGFTG RFVFSLDTSVSTAYLQICSLKAE DTAVYYCARYTNYGYFDYWGQ GTLVTVSS	273	QIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRATSSVGVMHWYQQKPGQ APRPLIYATSNLASGIPARFSG SGSGTSYTLTISSLEPEDFAVY YCQQWGSNPFTFGQGGTKLEI K	289

ТАБЛИЦА 26

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-33.1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAWTRGYFNYWG QGTLVTVSS	290	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCQASQSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASLRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	309
MTK-33.2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTSTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	291	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCQASGVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	310

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-33.3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAWTRGYFDYWG QGTLVTVSS	292	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCQASRSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	311
MTK-33.4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINMNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	293	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCQASQSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQODRRSPFTFGQG TKLEIK	312
MTK-33.5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC MASGYTFGSYWMHWRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	294	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCQASQSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRETGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIGTYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	313
MTK-33.6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC MASGYTFRSYWMHWRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	295	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCQASRSVSNTMAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	314
MTK-33.7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNAKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	296	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCGASQSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	315

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-33.8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAWTRGYFNYWG QGTLVTVSS	290	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASQSVSRTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	316
MTK-33.9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDRYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	297	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASASVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	317
MTK-33.10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASSYSFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	298	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQAGQSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	318
MTK-33.11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAWTRGYFDYWG QGTLVTVSS	292	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVRNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	319
MTK-33.12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFVSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	299	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASQSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCRQDTRSPFTFGQG TKLELK	320

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-33.13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	300	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	311
MTK-33.14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	301	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASQSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	321
MTK-33.15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQV RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	302	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDMRSPFTFGQG TKLEIK	322
MTK-33.16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASWYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	303	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDYRSPFTFGQG TKLEIK	311
MTK-33.17	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWVRQAPGQ GLEWIGVIAPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	304	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSNTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDMRSPFTFGQG TKLEIK	322

Антитело	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-33.18	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMH WVRQAPGQ GLEWIGVISPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	305	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSNTVA WYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDMRSPFTFGQG TKLEIK	322
MTK-33.19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMH WVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	301	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSATVA WYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDMRSPFTFGQG TKLEIK	323
MTK-33.20	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMH WVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	301	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSNTVA WYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCAQDMRSPFTFGQG TKLEIK	324
MTK-33.21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMH WVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	301	DIQMTQSPSSLSASVGGRVTI TCQASRSVSNTVA WYQQKP GKAPKLLIYYVSNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDMRSPFTFGQG TKLEIK	325
MTK-33.22	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMH WVRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKLRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	306	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSNTVA WYQQKP GKAPKLLIYYASNRRTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISLQPE DIATYYCQQDMRSPFTFGQG TKLEIK	326

Антителю	Варибельная область тяжелой цепи	SEQ ID NO:	Варибельная область легкой цепи	SEQ ID NO:
MTK-33.23	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYWMHWRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAYTRGYFDYWG QGTLVTVSS	307	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCIASRSVSNTVAWYQQKPG KAPKLLIYYASNRYTGVPSR FSGSGSGTDFTFTISSLPEDI ATYYCQQDMRSPFTFGQGT KLEIK	327
MTK-33.24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASSYTFTSYWMHWRQAPGQ GLEWIGVIDPSDNYINYNQKFRG RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCAREAGTRGYFDYWG QGTLVTVSS	308	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCQASRSVSRTVAWYQQKP GKAPKLLIYYASNRYTGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DIATYYCQQDMRSPFTFGQG TKLEIK	328

ТАБЛИЦА 27

Антителю	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-15.1	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GNRYAYQDY	334
MTK-15.2	NYGVH	83	WGNTYTGEPT YAQGFTG	330	GNRYAYMD Y	138
MTK-15.3	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GNRYAYMD Y	138
MTK-15.4	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GNRYAYMD Y	138
MTK-15.5	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GTRYAYMDY	335
MTK-15.6	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	331	GNRYAYMD Y	138
MTK-15.7	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GNRYAYMD Y	138
MTK-15.8	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GVRAYAYMD Y	336
MTK-15.9	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GYRAYAYMD Y	337
MTK-15.10	NYGVH	83	WINTYQGEPT YAQGFTG	332	GARYAYMD Y	338

Антитело	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-15.11	NYGVH	83	WINTYEGEPT YAQGFTG	333	GNRYAYQDY	334
MTK-15.12	NYGVH	83	WINTYQGEPT YAQGFTG	332	GVRAYAYMD Y	336
MTK-15.13	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GNRYAYEDY	339
MTK-15.14	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GNRYAYMD Y	138
MTK-15.15	NYGVH	83	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	GNRYAYMD Y	138

ТАБЛИЦА 28

Антитело	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-15.1	RASSSVSYMH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.2	RASSSVSYMH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.3	RASSHVSVMH	340	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.4	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.5	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.6	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.7	RASSGVSYMH	342	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.8	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.9	RASSSTSYMH	343	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.10	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.11	RASSSVSYMH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.12	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.13	RASSSVQVMH	344	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK-15.14	RASSSVSYMH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210
MTK15.15	RASSSVSYMH	158	ATSNLAS	187	QQWSSNPRT	210

ТАБЛИЦА 29

Антитело	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-16.1	NHGMN	84	WINTYTGEPT YAQGFTG	329	KGVTAAARYF DY	139
MTK-16.2	NHGMN	84	WINTYTGEPT YADDFKG	99	KGVTAAARYF DY	139

ТАБЛИЦА 30

Антитело	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-16.1	KASQNVRTAV A	169	LASNRHT	195	LQHWNYPLT	219
MTK-16.2	RASQNVRTAV A	345	LASNRHT	195	LQHWNYPLT	219

ТАБЛИЦА 31

Антитело	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-29.1	SYGLS	346	WINTYSGVPT YAQGFTG	348	YTNYGIFDY	355
MTK-29.2	TYGMS	95	WINTYSGVPT YTDDFKG	119	YTNYGIFDY	355
MTK-29.3	TYGMS	95	WINTYSGVPA YTDDFKG	349	YTNYGIFDY	356
MTK-29.4	TYGMS	95	WINTYSGVPT YTDDFKG	119	YTNYGIFDY	356
MTK-29.5	SYGLS	346	WINTYSGVPT YTDDFKG	119	YTNYGIFDY	356
MTK-29.6	TYGMS	95	WINTMSGVPT YTDDFKG	350	YTNYGIFDY	356
MTK-29.7	TYGMS	95	WINTYSGVPS YTDDFKA	351	YTNYGIFDY	356
MTK-29.8	TYGLS	347	WINTYSGVPT YTDDFKG	119	YTNYGIFDY	356
MTK-29.9	SYGLS	346	WINTYSGVPT YTDDFKG	119	YTNYGIFDY	356
MTK-29.10	TYGMS	95	WINTYSGVPT YTDDFKG	119	YTNYGIFDY	356
MTK-29.11	TYGMS	95	WINTDSGVPT YTDDFKG	352	YTNYGIFDY	356
MTK-29.12	TYGMS	95	WINTMSGVPT YTDDFKG	350	YTNYGIFDY	356
MTK-29.13	TYGMS	95	WINTASGVPT YTDDFKG	353	YTNYGIFDY	356
MTK-29.14	TYGMS	95	WINTYSGVPS YTDDFKA	351	YTNYGIFDY	356
MTK-29.15	TYGMS	95	WINTMSGVPT YTDDFKG	350	YTNYGIFDY	356

Антитело	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-29.16	SYGLS	346	WVNTYSGVPT YTDDFKG	354	YTNYGVDY	356
MTK-29.17	SYGLS	346	WINTYSGVPT YAQGFTG	348	YTNYGVDY	356
MTK-29.18	SYGLS	346	WVNTYSGVPT YTDDFKG	354	YTNYGVDY	356
MTK-29.19	TYGMS	95	WINTYSGVPT YAQGFTG	348	YTNYGVDY	151
MTK-29.20	TYGMS	95	WINTYSGVPT YAQGFTG	348	YTNYGVDY	151
MTK-29.21	TYGMS	95	WINTYSGVPT YAQGFTG	348	YTNYGVDY	151

ТАБЛИЦА 32

Антитело	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-29.1	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWGSWPFT	360
MTK-29.2	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWGSIPFT	361
MTK-29.3	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWGSLPFT	362
MTK-29.4	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.5	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.6	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.7	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.8	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.9	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.10	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWGSLPFT	362
MTK-29.11	RASSSVGYMH	341	ATSNLAS	187	QQWGSLPFT	362
MTK-29.12	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.13	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.14	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.15	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.16	RASSSVGYMH	341	ATSNLAQ	359	QQWGRLPFT	363
MTK-29.17	RSSSVGYMH	357	ATSNLAQ	359	QQWGSLPFT	362
MTK-29.18	RASSTVGYMH	358	ATSNLAS	187	QQWGSLPFT	362
MTK-29.19	RATSSVGYMH	181	ATSNLAS	187	QQWGSNPFT	208
MTK-29.20	RATSSVGYMH	181	ATSNLAS	187	QQWGSNPFT	208
MTK-29.21	RATSSVGYMH	181	ATSNLAS	187	QQWGSNPFT	208

ТАБЛИЦА 33

Антитело	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
MTK-33.1	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAWTRGYFN Y	373
MTK-33.2	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.3	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAWTRGYFD Y	374
MTK-33.4	SYWMH	90	VIDPSDNYINM NQKFQG	365	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.5	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.6	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.7	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NAKFQG	366	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.8	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAWTRGYFN Y	373
MTK-33.9	SYWMH	90	VIDPSDRYINY NQKFQG	367	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.10	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFRG	368	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.11	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAWTRGYFD Y	374
MTK-33.12	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFRG	368	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.13	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.14	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFRG	368	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.15	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQV	369	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.16	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFQG	364	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.17	SYWMH	90	VIAPSDNYINY NQKFRG	370	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.18	SYWMH	90	VISPSDNYINY NQKFRG	371	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.19	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFRG	368	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.20	SYWMH	90	VIDPSDNYINY	368	EAGTRGYFD	155

Антитело	HVR-H1	SEQ ID NO:	HVR-H2	SEQ ID NO:	HVR-H3	SEQ ID NO:
			NQKFRG		Y	
MTK-33.21	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFRG	368	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.22	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKLRG	372	EAGTRGYFD Y	155
MTK-33.23	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFRG	368	EAYTRGYFD Y	375
MTK-33.24	SYWMH	90	VIDPSDNYINY NQKFRG	368	EAGTRGYFD Y	155

ТАБЛИЦА 34

Антитело	HVR-L1	SEQ ID NO:	HVR-L2	SEQ ID NO:	HVR-L3	SEQ ID NO:
MTK-33.1	QASQSVSNTVA	376	YASLRYT	388	QQDYRSPFT	231
MTK-33.2	QASGSVSNTVA	377	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.3	QASRSVSNTVA	378	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.4	QASQSVSNTVA	376	YASNRYT	203	QQDRRSPFT	392
MTK-33.5	QASQSVSNTVA	376	YASNRET	389	QQDYRSPFT	231
MTK-33.6	QASRSVSNTMA	379	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.7	GASQSVSNTVA	380	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.8	QASQSVSRTVA	381	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.9	QASASVSNTVA	382	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.10	QAGQSVSNTVA	383	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.11	QASRSVRNTVA	384	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.12	QASQSVSNTVA	376	YASNRYT	203	RQDTRSPFT	393
MTK-33.13	QASRSVSNTVA	378	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.14	QASQSVSNTVA	376	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.15	QASRSVSNTVA	378	YASNRYT	203	QQDMRSPFT	394
MTK-33.16	QASRSVSNTVA	378	YASNRYT	203	QQDYRSPFT	231
MTK-33.17	QASRSVSNTVA	378	YASNRYT	203	QQDMRSPFT	394
MTK-33.18	QASRSVSNTVA	378	YASNRYT	203	QQDMRSPFT	394
MTK-33.19	QASRSVSATVA	385	YASNRYT	203	QQDMRSPFT	394
MTK-33.20	QASRSVSNTVA	378	YASNRYT	203	AQDMRSPFT	395
MTK-33.21	QASRSVSNTVA	378	YVSNRYT	390	QQDMRSPFT	394
MTK-33.22	QASRSVSNTVA	378	YASNRRT	391	QQDMRSPFT	394
MTK-33.23	IASRSVSNTVA	386	YASNRYT	203	QQDMRSPFT	394
MTK-33.24	QASRSVSRTVA	387	YASNRYT	203	QQDMRSPFT	394

Пример 26: Блокирование эффероцитоза гуманизированными антителами к MerTK и антителами с

созревшей аффинностью

[0412] Способность гуманизированных антител к MerTK и антител с созревшей аффинностью по настоящему изобретению блокировать эффероцитоз оценивали с использованием способов, описанных выше в примере 11, со следующими модификациями. Дифференцированные макрофаги человека обрабатывали 100 нМ дексаметазона (Sigma-Aldrich) и 10 мкг/мл huM-CSF (R&D systems) в течение 2 дней. 50000 клеток поляризованных макрофагов высевали в 96-луночный планшет. Гуманизированные антитела или антитела к MerTK с созревшей аффинностью титровали до конечного диапазона концентраций от 66,6 нМ до 4 пМ, а затем каждое серийно разведенное антитело добавляли в каждую лунку на 30 мин при 37°C.

[0413] Индуцированные стауропорином апоптотические клетки Jurkat метили pHrodo (Thermo Fisher) и затем добавляли в каждую лунку в соотношении 1:4 (1 макрофаг: 4 клетки Jurkat) на 1 час. Планшеты промывали PBS, а затем клетки окрашивали конъюгированным с APC антителом к CD14 человека в течение 30 минут на льду в темноте. Затем клетки дважды промывали буфером для FACS (PBS + 2% FBS) и проводили проточную цитометрию на BD FACS Canto II. Данные анализировали с использованием программного обеспечения FlowJo. В этих экспериментах исходные уровни эффероцитоза устанавливали с использованием макрофагов, культивируемых только в среде, и это устанавливали на 100% активности эффероцитоза. Относительную активность эффероцитоза рассчитывали как процент эффероцитоза, наблюдаемый в клетках, обработанных только средой, по сравнению с таковым, наблюдаемым в клетках, обработанных антителами к MerTK. Результаты этих исследований представлены ниже в таблице 35.

ТАБЛИЦА 35

Антитело	Активность блокирования эффероцитоза, средняя IC50 (нМ) по меньшей мере от трех разных доноров
MTK-15.1	0,594
MTK-15.2	0,867
MTK-15.3	1,006
MTK-15.4	0,764
MTK-15.5	0,556
MTK-15.6	0,506
MTK-15.7	0,789
MTK-15.8	0,648
MTK-15.9	2,432
MTK-15.10	0,579
MTK-15.11	1,014
MTK-15.12	1,016
MTK-15.13	0,722
MTK-15.14	0,902
MTK-15.15	0,228
MTK-16.1	0,363

Антителю	Активность блокирования эффероцитоза, средняя IC50 (нМ) по меньшей мере от трех разных доноров
МТК-16.2	1,010
МТК-29.5	0,572
МТК-29.7	0,768
МТК-29.8	0,844
МТК-29.9	0,632
МТК-29.10	0,823
МТК-29.11	1,006
МТК-29.12	1,119
МТК-29.13	0,974
МТК-29.14	0,719
МТК-29.15	0,963
МТК-29.16	0,433
МТК-29.17	0,963
МТК-29.18	0,697
МТК-29.19	0,705
МТК-29.20	0,500
МТК-29.21	0,819
МТК-33.1	5,5
МТК-33.5	2,248
МТК-33.7	7,542
МТК-33.8	23,69
МТК-33.10	8,850
МТК-33.11	0,453
МТК-33.12	0,257
МТК-33.13	1,641
МТК-33.14	3,568
МТК-33.15	0,480
МТК-33.16	0,807
МТК-33.17	7,494
МТК-33.19	0,348
МТК-33.20	0,457
МТК-33.21	0,534
МТК-33.22	0,629
МТК-33.23	0,405
МТК-33.24	0,480
МТК-33.25	0,457

[0414] Как показано в **таблице 35**, гуманизированные антитела к MerTK и антитела с созревшей аффинностью по настоящему изобретению были эффективны в блокировании эффероцитоза макрофагами человека, демонстрируя различные значения IC50. Некоторые варианты антител к MerTK с созревшей аффинностью MTK-15, MTK-16 и MTK-33 демонстрировали значения IC50, сходные с соответствующими исходными антителами к MerTK (см. пример 11 выше). Некоторые другие варианты антител к MerTK с созревшей аффинностью демонстрировали более низкие значения IC50 для блокирования эффероцитоза (например, MTK-15.1, MTK-15.4, MTK-15.5, MTK-15.6, MTK-15.7, MTK-15.8, MTK-15.10, MTK-15.13, MTK-15.15, MTK-16.1 и MTK-33.15). Варианты MTK-15 с созревшей аффинностью продемонстрировали диапазон значений IC50 от 0,228 нМ до 2,4 нМ; варианты MTK-16 с созревшей аффинностью продемонстрировали диапазон значений IC50 от 0,36 нМ до 1,01 нМ, варианты MTK-29 с созревшей аффинностью продемонстрировали диапазон значений IC50 от 0,5 нМ до 1,12 нМ; варианты MTK-33 с созревшей аффинностью продемонстрировали диапазон значений IC50 от 0,41 нМ до 23,9 нМ.

Пример 27: Кинетика связывания гуманизированных антител к MerTK и антител с созревшей аффинностью

[0415] Кинетику связывания гуманизированных антител к MerTK с созревшей аффинностью по настоящему изобретению с белками MerTK человека, мыши и яванского макака оценивали следующим образом. Вкратце, антитела к MerTK получали путем разбавления до 10 мкг/мл в 10 мМ ацетате, pH 4,25 (Carterra, Солт-Лейк-Сити, штат Юта), по 300 мкл/лунка. Сенсорный чип HC200M (Carterra) активировали с использованием одноканальной проточной ячейки с 7-минутной инъекцией смеси 1:1:1 100 мМ MES, pH 5,5, 100 мМ сульфохидрида (NHS), 400 мМ EDC (все восстановлены в MES, pH 5,5; 100 мкл каждого смешивают во флаконе непосредственно перед проведением анализа). После переключения на проточную ячейку с многоканальной матрицей антитела вводили через активированный чип в матрицу из 96 точек в течение 15 минут. Затем оставшиеся неконъюгированные активные группы на чипе блокировали путем введения 1М этаноламина pH 8,5 (Carterra) в течение 7 минут с использованием одноканальной проточной ячейки.

[0416] После обработки рабочим буфером (HBS-TE, Carterra) с 0,5 мг/мл BSA (Sigma) иммобилизованные антитела к MerTK тестировали на их способность связываться с несколькими формами рекомбинантного внеклеточного домена MerTK, включая ортологи человека, яванского макака и мыши, как описано выше.

[0417] Оценки аффинности были получены путем введения каждого аналита по всей матрице антител с использованием одноканальной проточной ячейки. Аналиты MerTK разбавляли до 33,3, 100 и 300 нМ в рабочем буфере и вводили последовательно от самой низкой до самой высокой концентрации без регенерации. Между каждой серией запускали две холостые пробы в виде буфера (один вид на серию). Данные обрабатывали и анализировали с использованием высокопроизводительного программного обеспечения для кинетического анализа NextGenKIT (Carterra). В этих экспериментах антитела к MerTK представляли собой человеческий изотип IgG1, содержащий вариант Fc LALAPS.

[0418] Затем рассчитывали равновесные константы диссоциации (K_D) из подобранных констант скорости ассоциации и скорости диссоциации (k-on и k-off) для антител к MerTK по настоящему изобретению. Значения K_D , полученные в этих экспериментах, приведены в **таблице 36** ниже.

ТАБЛИЦА 36

Антитело	K_D (нМ)		
	huMerTK	moMerTK	cynoMerTK
MTK-15.1	8,3	1500	8,0

Антигено	K _D (нМ)		
	huMerTK	moMerTK	cytoMerTK
MTK-15.2	21,5	н/с	21,5
MTK-15.3	21,5	н/с	23
MTK-15.4	о.с.	н/с	1450
MTK-15.5	0,1	690	0,8
MTK-15.6	1,0	1700	1,5
MTK-15.7	0,1	705	0,3
MTK-15.8	4,9	н/с	5,0
MTK-15.9	10	850	11,5
MTK-15.10	3,3	2800	3,3
MTK-15.11	12,5	140	12,5
MTK-15.12	17,5	114	18
MTK-15.13	2,3	130	2,8
MTK-16.1	86	н/с	170
MTK-16.2	80	н/с	160
MTK-29.5	4,4	135	4,4
MTK-29.7	3,6	95	3,2
MTK-29.8	23	310	22,5
MTK-29.9	5,7	140	5,8
MTK-29.10	4,5	116	4,2
MTK-29.11	2,1	59	2,4
MTK-29.12	23	250	21
MTK-29.13	13	170	11
MTK-29.14	7,6	100	7,3
MTK-29.15	7,4	н/с	8,4
MTK-29.16	8,6	205	8,8
MTK-29.17	9,6	170	9,9
MTK-29.18	4,7	140	4,9
MTK-33.5	28	140	26
MTK-33.7	78	800	78
MTK-33.8	41	465	41
MTK-33.10	41	150	38
MTK-33.11	11	115	10,1
MTK-33.12	8,6	230	7,9
MTK-33.13	20	225	18
MTK-33.14	30,5	275	29
MTK-33.15	4,6	105	4,0
MTK-33.16	10,9	225	10,1
MTK-33.17	20,4	505	19,9
MTK-33.21	0,4	44	0,3

Антитело	K _d (нМ)		
	huMerTK	moMerTK	cynoMerTK
МТК-33.25	1,2	53	1,1

н/с = нет связывания

о.с. = отсутствие соответствия, что означает, что полученные данные не соответствуют модели равновесия связывания 1:1

[0419] Эти результаты продемонстрировали, что гуманизированные антитела к MerTK с созревшей аффинностью по настоящему изобретению демонстрируют ряд аффинностей к белку MerTK человека, яванского макака и мыши.

[0420] Эти результаты также продемонстрировали, что гуманизированные антитела к MerTK и антитела с созревшей аффинностью по настоящему изобретению по-разному проявляют видовую специфичность связывания и перекрестную реактивность в отношении MerTK человека, мыши и яванского макака. В частности, аффинность антител к MerTK по настоящему изобретению в отношении связывания с MerTK человека находится в диапазоне от 0,1 нМ до 86 нМ; аффинность антител к MerTK по настоящему изобретению в отношении связывания с MerTK яванского макака находится в диапазоне от 0,3 нМ до 1450 нМ; и аффинность антител к MerTK по настоящему изобретению в отношении связывания с мышинным MerTK находилась в диапазоне от 44 нМ до 2800 нМ. По сравнению с исходным антителом к MerTK МТК-15, некоторые варианты антитела к MerTK МТК-15 с созревшей аффинностью приобрели активность связывания с мышинным MerTK, которая варьировалась от 114 нМ до 2800 нМ.

[0421] В приведенной ниже таблице 37 представлены аминокислотные последовательности различных вариантов Fc тяжелой цепи иммуноглобулина человека.

ТАБЛИЦА 37

Варианты Fc тяжелой цепи Ig человека	Последовательность	SEQ ID NO
huIgG1 Fc ДТ с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK	396

Варианты Fc тяжелой цепи Ig человека	Последовательность	SEQ ID NO
huIgG1 Fc ДТ без C-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	397
huIgG1 LALAPS Fc с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	398
huIgG1 LALAPS Fc без C-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	399
huIgG1 NSLF Fc с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFAPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	400

Варианты Fc тяжелой цепи Ig человека	Последовательность	SEQ ID NO
huIgG1 NSLF Fc без C-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHTQKSLSLSPG	401
huIgG1 YTE Fc с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK	402
huIgG1 YTE Fc без C-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHTQKSLSLSPG	403
huIgG1 LS Fc с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	404

Варианты Fc тяжелой цепи Ig человека	Последовательность	SEQ ID NO
huIgG1 LS Fc без C-концевого лизна	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSPG	405
huIgG1 LV5-112 Fc с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGGCALYPTNCGGGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSPGK	406
huIgG1 LV5-112 Fc без C-концевого лизна	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGGCALYPTNCGGGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSPG	407
huIgG2 Fc ДТ с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVRKKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSPGK	408

Варианты Fc тяжелой цепи Ig человека	Последовательность	SEQ ID NO
huIgG2 Fc ДТ без C-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPLMLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	409
huIgG4 Fc ДТ с C-концевым лизином	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPLVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMSVHEALHNHYTQKSLSLGLGK	410
huIgG4 Fc ДТ без C-концевого лизина	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPLVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMSVHEALHNHYTQKSLSLGLG	411

[0422] Аминокислотная последовательность аминокислот константной области легкой цепи IgG1 человека представлена ниже:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 412).

[0423] Полноразмерные аминокислотные последовательности тяжелой цепи некоторых антител к MerTK по настоящему изобретению показаны ниже в **таблице 38**.

ТАБЛИЦА 38

Антителю	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-16.1 c Fc ДТ huIgG1 c C-концевым лизинном	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	413
MTK-16.1 c Fc ДТ huIgG1 без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	414
MTK-16.1 c Fc huIgG1 LALAPS c C-концевым лизинном	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	415
MTK-16.1 c Fc huIgG1 LALAPS без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	416

Антителю	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-16.1 c Fc huIgG1 NSLF с C-концевым лизином	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	417
MTK-16.1 c Fc huIgG1 NSLF без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	418
MTK-16.1 c Fc huIgG4 с C-концевым лизином	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	419
MTK-16.1 c Fc huIgG4 без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKGV TAARYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	420

[0424] Аминокислотная последовательность легкой цепи MTK-16.1 представлена ниже:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKRLIYLASNRHTGVPSRFSGSGSGTEF
TLTISNLQPEDFATYYCLQHWNYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE

AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C (SEQ ID NO: 421)

[0425] Полноразмерные аминокислотные последовательности тяжелой цепи некоторых антител к MerTK по настоящему изобретению показаны ниже в таблице 39.

ТАБЛИЦА 39

Антитело	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-16.2 c Fc huIgG1 ДТ с C-концевым лизином	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	422
MTK-16.2 c Fc huIgG1 ДТ без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	423
MTK-16.2 c Fc huIgG1 LALAPS c C-концевым лизином	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	424

Антителю	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-16.2 c Fc huIgG1 LALAPS без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	425
MTK-16.2 c Fc huIgG1 NSLF с C-концевым лизином	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	426
MTK-16.2 c Fc huIgG1 NSLF без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	427
MTK-16.2 c Fc huIgG4 с C-концевым лизином	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	428

Антитело	Последовательность	SEQ ID NO:
МТК-16.2 с Fc huIgG4 без C-концевого лизина	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNHGMNWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARKG VTAARYFDYWGGQGLVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLGLK	429

[0426] Аминокислотная последовательность легкой цепи МТК-16.2 представлена ниже:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNVRTAVAWYQQKPGKAPKRLIYLASNRTHTGVPSRFSGSGSGTEF
TLTISNLQPEDFATYYCLQHWNYPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE
AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C (SEQ ID NO: 430)

[0427] Полноразмерные аминокислотные последовательности тяжелой цепи некоторых антител к MerTK по настоящему изобретению показаны ниже в таблице 40.

ТАБЛИЦА 40

Антитело	Последовательность	SEQ ID NO:
МТК-33.1 с Fc huIgG1 ДТ с C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCAREA WTRGYFNYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	431

Антителю	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-33.1 c Fc huIgG1 ДТ без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA WTRGYFNYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	432
MTK-33.1 c Fc huIgG1 LALAPS c C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA WTRGYFNYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	433
MTK-33.1 c Fc huIgG1 LALAPS без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA WTRGYFNYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	434
MTK-33.1 c Fc huIgG1 NSLF c C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA WTRGYFNYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	435

Антителю	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-33.1 c Fc huIgG1 NSLF без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREAWTRGYFNYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	436
MTK-33.1 c Fc huIgG4 c C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREAWTRGYFNYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	437
MTK-33.1 c Fc huIgG4 без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDNYINYNQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREAWTRGYFNYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	438

[0428] Аминокислотная последовательность легкой цепи MTK-33.1 представлена ниже:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSVSNTVAWYQQKPGKAPKLLIYYASLRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQDYRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 439)

[0429] Полноразмерные аминокислотные последовательности тяжелой цепи некоторых антител к MerTK по настоящему изобретению показаны ниже в **таблице 41**.

ТАБЛИЦА 41

Антитело	Последовательность	SEQ ID NO:
МТК-33.12 с Fc huIgG1 ДТ с С- концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAREA GTRGYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGТАALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	440
МТК-33.12 с Fc huIgG1 ДТ без С- концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAREA GTRGYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGТАALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	441
МТК-33.12 с Fc huIgG1 LALAPS с С- концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAREA GTRGYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGТАALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	442
МТК-33.12 с Fc huIgG1 LALAPS без С- концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDТАVYYCAREA GTRGYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGТАALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	443

Антитело	Последовательность	SEQ ID NO:
МТК-33.12 с Fc huIgG1 NSLF с C- концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA GTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	444
МТК-33.12 с Fc huIgG1 NSLF без C- концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA GTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	445
МТК-33.12 с Fc huIgG4 с C- концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA GTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	446
МТК-33.12 с Fc huIgG4 без C- концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFVSYWMHWVRQAPGQGLEWIG VIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREA GTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	447

[0430] Аминокислотная последовательность легкой цепи МТК-33.12 представлена ниже:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSVSNTVAWYQQKPGKAPKLLIYYASNRYTGVPSRFSGSGSGTDFT
FTISSLQPEDIATYYCRQDTRSPFTFGQGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK

VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO: 448)

[0431] Полноразмерные аминокислотные последовательности тяжелой цепи некоторых антител к MerTK по настоящему изобретению показаны ниже в таблице 42.

ТАБЛИЦА 42

Антитело	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-33.10 c Fc huIgG1 ДТ с C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	464
MTK-33.10 c Fc huIgG1 ДТ без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPG	465
MTK-33.10 c Fc huIgG1 LALAPS с C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	466

Антителю	Последовательность	SEQ ID NO:
MTK-33.10 c Fc huIgG1 LALAPS без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	467
MTK-33.10 c Fc huIgG1 NSLF с C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSS KAFFAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	468
MTK-33.10 c Fc huIgG1 NSLF без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSS KAFFAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	469
MTK-33.10 c Fc huIgG4 с C-концевым лизином	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	470

Антителю	Последовательность	SEQ ID NO:
МТК-33.10 с Fc huIgG4 без C-концевого лизина	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASSYSFTSYWMHWVRQAPGQGL EWIGVIDPSDNYINYNQKFRGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAREAGTRGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPA PEFLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	471

[0432] Аминокислотная последовательность легкой цепи МТК-33.10 представлена ниже:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAGQSVSNVAWYQQKPGKAPKLLIYYASNRYTGVPSRFSGSGSGTDF
TFTISSLQPEDATYYCQQDYRSPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK
VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:472)

Формула изобретения

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело, которое связывает тирозинкиназу Мер человека (MerTK), причем антитело снижает эффероцитоз фагоцитами.
2. Антитело по п. 1, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз на по меньшей мере 50% по сравнению с антителом изотипического контроля.
3. Антитело по п. 2, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз на по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.
4. Антитело по п. 1, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз со значением IC₅₀ от 0,13 нМ до 30 нМ.
5. Антитело по п. 4, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз со значением IC₅₀ от 0,13 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 30 нМ.
6. Антитело по любому из пп. 1-5, отличающееся тем, что фагоцит представляет собой макрофаг, опухолеассоциированный макрофаг или дендритную клетку.
7. Антитело по любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK.
8. Антитело по п. 7, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.
9. Антитело по п. 7, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 25,9 нМ.
10. Антитело по п. 9, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 2,5 нМ, от 2,5 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 25 нМ.
11. Антитело по любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK.
12. Антитело по п. 11, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.
13. Антитело по п. 11, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29 нМ до 32 нМ.
14. Антитело по п. 13, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29

нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ, от 10 нМ до 25 нМ или от 25 нМ до 32 нМ.

15. Антитело по любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK и снижает связывание Gas6 с MerTK.

16. Антитело по п. 15, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%, и при этом снижает связывание Gas6 с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.

17. Антитело по п. 15, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 25,9 нМ, и при этом антитело снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29 нМ до 32 нМ.

18. Антитело по любому из пп. 1-17, отличающееся тем, что связывается с MerTK человека и MerTK мыши, связывается с MerTK человека и MerTK яванского макака или связывается с MerTK человека, MerTK мыши и MerTK яванского макака.

19. Антитело по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что связывается с MerTK человека с аффинностью связывания от 1,4 нМ до 81 нМ.

20. Антитело по п. 18 или п. 19, отличающееся тем, что связывается с MerTK яванского макака с аффинностью связывания от 1,6 нМ до 107 нМ.

21. Антитело по любому из пп. 19-20, отличающееся тем, что связывается с MerTK мыши с аффинностью связывания от 30 нМ до 186 нМ.

22. Антитело по любому из пп. 1-21, отличающееся тем, что снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ.

23. Антитело по п. 22, отличающееся тем, что снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ со значением IC₅₀ от 0,019 нМ до 7,74 нМ.

24. Антитело по п. 23, отличающееся тем, что снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ со значением IC₅₀ от 0,019 нМ до 0,25 нМ, от 0,25 нМ до 0,5 нМ, от 0,5 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 2,5 нМ, от 2,5 нМ до 5 нМ, или от 5 нМ до 7,74 нМ.

25. Антитело по любому из пп. 1-24, отличающееся тем, что увеличивает или индуцирует M1-подобную поляризацию макрофагов.

26. Антитело по любому из пп. 1-25, отличающееся тем, что увеличивает экспрессию макрофагами одного или более провоспалительных цитокинов.

27. Антитело по п. 26, отличающееся тем, что увеличивает экспрессию макрофагами TNF, IFN, IL-6, IL-1, IL-12, CXCL-1, MCP1, MIP-1 α , и/или MIP-1 β .

28. Выделенное антитело, которое связывается с MeTК человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

- а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83;
- б) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 329, 330, 331, 332, и 333; и
- с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 138, 334, 335, 336, 337, 338, и 339; и

при этом переменная область легкой цепи содержит:

- д) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 340, 341, 342, 343 и 344;
- е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и
- ф) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210.

29. Антитело по п. 29, отличающееся тем, что содержит:

(а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (б) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138; (д) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158; (е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (ф) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210;

(а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (б) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:334; (д) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158; (е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (ф) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210;

(а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (б) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:330; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138; (д) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158; (е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (ф) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210;

(а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (б) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138; (д) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:340; (е) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (ф) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210;

(а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (б) HVR-H2, включающую

NO:341; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210;

(a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:339; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:344; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210; или

(a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:83; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:158; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:187; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:210.

30. Антитело по п. 28 или п. 29, отличающееся тем, что содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:54; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:234, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:235, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:248; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:236, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:238, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:239, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:250; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:240, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:241, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:252; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:242, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:249; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:243, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:244, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:251; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:245, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:253; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:247; и V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:246, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:254.

31. Выделенное антитело, которое связывается с MerTK человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи

содержит:

- a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84;
- b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99 и 329; и
- c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 139; и

при этом переменная область легкой цепи содержит:

- d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 169 и 345;
- e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и
- f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

32. Антитело по п. 31, отличающееся тем, что содержит:

(a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219; или

(a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84; (b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99; (c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; (d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:345; (e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и (f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

33. Антитело по п. 31 или п. 32, отличающееся тем, что содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H и V_L выбраны из группы, состоящей из: V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:255, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:257; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:256, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:258.

34. Выделенное антитело, которое связывается с MeTК человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

- a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 346, и 347;
- b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 119, 348, 349, 350, 351, 352, 353, и 354; и
- c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 355, и 356; и

при этом переменная область легкой цепи содержит:

- d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 181, 341, 357, и 358;
- e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ

[illegible]

- а) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90;
- б) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 122, 364, 365, 366, 367, и 368; и
- в) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 155, 373, 374, и 375; и

(a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90; (b) HVR-H2, включающую

и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:325; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:306, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:326; V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:307, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:327; и V_H , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:308, и V_L , включающего аминокислотную последовательность SEQ ID NO:328.

40. Выделенное антитело, которое связывается с MeгТК человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

- a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90;
- b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:368; и
- c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155; и

при этом переменная область легкой цепи содержит:

- d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:383;
- e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и
- f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:231.

41. Антитело по п. 40, отличающееся тем, что содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 298, а V_L содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 318.

42. Антитело по п. 40 или п. 41, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 466, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 472; или (b) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:467, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:472.

43. Антитело по п. 40 или п. 41, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 464, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 472; (b) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:465, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:472; (c) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:468, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:472; или (d) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:469, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:472.

44. Выделенное антитело, которое связывается с MeгТК человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

- a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84;
- b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; и

с) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; и при этом переменная область легкой цепи содержит:

- d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:345;
- e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и
- f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

45. Антитело по п. 44, отличающееся тем, что содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, а V_L содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 258.

46. Антитело по п. 44 или п. 45, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 424, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 430; или (b) тяжелая цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:425, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:430.

47. Антитело по п. 44 или п. 45, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 422, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 430; (b) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:423, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:430; (c) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:426, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:430; или (d) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:427, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:430.

48. Выделенное антитело, которое связывается с MeTК человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

- a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90;
- b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:368; и
- c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155; и при этом переменная область легкой цепи содержит:
- d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:376;
- e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:203; и
- f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:393.

49. Антитело по п. 48, отличающееся тем, что содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 299, а V_L содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 320.

50. Антитело по п. 48 или п. 49, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 442, и легкую цепь, включающую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 448; или (b) тяжелая цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:443, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:448.

51. Антитело по п. 48 или п. 49, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 440, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 448; (b) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:441, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:448; (c) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:444, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:448; или (d) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:445, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:448.

52. Выделенное антитело, которое связывается с MerTK человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

- a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84;
- b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:329; и
- c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139; и

при этом переменная область легкой цепи содержит:

- d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169;
- e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:195; и
- f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:219.

53. Антитело по п. 52, отличающееся тем, что содержит переменный домен тяжелой цепи (V_H) и переменный домен легкой цепи (V_L), причем V_H содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 255, а V_L содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257.

54. Антитело по п. 52 или п. 53, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 415, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 421; или (b) тяжелая цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:416, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:421.

55. Антитело по п. 52 или п. 53, отличающееся тем, что содержит (a) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 413, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 421; (b) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:414, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:421; (c) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:417, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:421; или (d) тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:418, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:421.

56. Выделенное антитело, которое связывается с МегТК человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи содержит:

- a) HVR-H1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, и 98;
- b) HVR-H2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, и 124; и
- c) HVR-H3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, и 157; и

при этом переменная область легкой цепи содержит:

- d) HVR-L1, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, и 186;
- e) HVR-L2, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, и 205; и
- f) HVR-L3, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, и 233.

57. Антитело по п. 56, отличающееся тем, что содержит HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, включающие аминокислотные последовательности:

- (i) SEQ ID NO: 75, 99, 125, 158, 187, и 207, соответственно;
- (ii) SEQ ID NO: 76, 100, 126, 159, 187, и 208, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 77, 101, 127, 160, 188, и 209, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 75, 99, 128, 158, 187, и 210, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 78, 102, 129, 161, 189, и 211, соответственно;
- (vi) SEQ ID NO: 75, 103, 130, 158, 187, и 212, соответственно;
- (vii) SEQ ID NO: 77, 101, 127, 162, 188, и 209, соответственно;
- (viii) SEQ ID NO: 75, 99, 131, 163, 187, и 213, соответственно;
- (ix) SEQ ID NO: 79, 104, 132, 164, 190, и 214, соответственно;
- (x) SEQ ID NO: 80, 105, 133, 165, 191, и 215, соответственно;
- (xi) SEQ ID NO: 81, 106, 134, 166, 192, и 216, соответственно;
- (xii) SEQ ID NO: 82, 107, 135, 167, 193, и 217, соответственно;
- (xiii) SEQ ID NO: 77, 108, 136, 167, 194, и 209, соответственно;
- (xiv) SEQ ID NO: 75, 109, 137, 168, 187, и 218, соответственно;
- (xv) SEQ ID NO: 83, 99, 138, 158, 187, и 210, соответственно;
- (xvi) SEQ ID NO: 84, 99, 139, 169, 195, и 219, соответственно;
- (xvii) SEQ ID NO: 85, 99, 140, 170, 196, и 220, соответственно;
- (xviii) SEQ ID NO: 86, 99, 141, 171, 191, и 221, соответственно;

(xix) SEQ ID NO: 87, 110, 142, 172, 197, и 222, соответственно;
 (xx) SEQ ID NO: 88, 99, 143, 173, 191, и 223, соответственно;
 (xxi) SEQ ID NO: 89, 111, 143, 173, 198, и 221, соответственно;
 (xxii) SEQ ID NO: 90, 112, 144, 174, 199, и 224, соответственно;
 (xxiii) SEQ ID NO: 91, 113, 145, 175, 200, и 225, соответственно;
 (xxiv) SEQ ID NO: 90, 114, 146, 176, 201, и 226, соответственно;
 (xxv) SEQ ID NO: 92, 115, 147, 177, 195, и 227, соответственно;
 (xxvi) SEQ ID NO: 93, 116, 148, 178, 188, и 209, соответственно;
 (xxvii) SEQ ID NO: 94, 117, 149, 179, 195, и 228, соответственно;
 (xxviii) SEQ ID NO: 95, 118, 150, 180, 187, и 229, соответственно;
 (xxix) SEQ ID NO: 95, 119, 151, 181, 187, и 208, соответственно;
 (xxx) SEQ ID NO: 90, 120, 152, 182, 202, и 230, соответственно;
 (xxxi) SEQ ID NO: 96, 118, 153, 183, 202, и 230, соответственно;
 (xxxii) SEQ ID NO: 96, 121, 154, 181, 187, и 210, соответственно;
 (xxxiii) SEQ ID NO: 90, 122, 155, 184, 203, и 231, соответственно;
 (xxxiv) SEQ ID NO: 90, 122, 155, 184, 203, и 231, соответственно;
 (xxxv) SEQ ID NO: 97, 123, 156, 185, 204, и 232, соответственно; или
 (xxxvi) SEQ ID NO: 98, 124, 157, 186, 205, и 233, соответственно.

58. Выделенное антитело, которое связывается с MerTK человека, причем антитело содержит последовательности HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 из антитела МТК-01, МТК-02, МТК-03, МТК-04, МТК-05, МТК-06, МТК-07, МТК-08, МТК-09, МТК-10, МТК-11, МТК-12, МТК-13, МТК-14, МТК-15, МТК-16, МТК-17, МТК-18, МТК-19, МТК-20, МТК-21, МТК-22, МТК-23, МТК-24, МТК-25, МТК-26, МТК-27, МТК-28, МТК-29, МТК-30, МТК-31, МТК-32, МТК-33, МТК-34, МТК-35, МТК-36, МТК-15.1, МТК-15.2, МТК-15.3, МТК-15.4, МТК-15.5, МТК-15.6, МТК-15.7, МТК-15.8, МТК-15.9, МТК-15.10, МТК-15.11, МТК-15.12, МТК-15.13, МТК-15.14, и МТК-15.15, МТК-16.1 и МТК-16.2, МТК-29.1, МТК-29.2, МТК-29.3, МТК-29.4, МТК-29.5, МТК-29.6, МТК-29.7, МТК-29.8, МТК-29.9, МТК-29.10, МТК-29.11, МТК-29.12, МТК-29.13, МТК-29.14, МТК-29.15, МТК-29.16, МТК-29.17, МТК-29.18, МТК-29.19, МТК-29.20, и МТК-29.21, МТК-33.1, МТК-33.2, МТК-33.3, МТК-33.4, МТК-33.5, МТК-33.6, МТК-33.7, МТК-33.8, МТК-33.9, МТК-33.10, МТК-33.11, МТК-33.12, МТК-33.13, МТК-33.14, МТК-33.15, МТК-33.16, МТК-33.17, МТК-33.18, МТК-33.19, МТК-33.20, МТК-33.21, МТК-33.22, МТК-33.23 или МТК-33.24.

59. Антитело по п. 58, отличающееся тем, что HVR представляют собой определенные по Kabat HVR, определенные по Chothia HVR, или определенные AbM HVR.

60. Антитело по любому из пп. 1-27, 58 и 59, отличающееся тем, что содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 234-246, 255, 256, 259-379 и 290-308, или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 234-246, 255, 256, 259-379, и 290-308.

61. Антитело по любому из пп. 1-27 и 58-60, отличающееся тем, что содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 247-254, 257, 258, 274-289, и 309-328, или аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере 90% идентичности с SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 247-254, 257, 258, 274-289, и 309-328.

62. Выделенное антитело, которое связывается с MerTk человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 234-246, 255, 256, 259-379, и 290-308.

63. Выделенное антитело, которое связывается с MerTk человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом переменная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 247-254, 257, 258, 274-289, и 309-328.

64. Антитело по любому из пп. 1-27 и 58-63, отличающееся тем, что содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 5 и 40, соответственно; SEQ ID NO: 6 и 41, соответственно; SEQ ID NO: 7 и 42, соответственно; SEQ ID NO: 8 и 43, соответственно; SEQ ID NO: 9 и 44, соответственно; SEQ ID NO: 10 и 45, соответственно; SEQ ID NO: 11 и 46, соответственно; SEQ ID NO: 12 и 47, соответственно; SEQ ID NO: 13 и 48, соответственно; SEQ ID NO: 14 и 49, соответственно; SEQ ID NO: 15 и 50, соответственно; SEQ ID NO: 16 и 51, соответственно; SEQ ID NO: 17 и 52, соответственно; SEQ ID NO: 18 и 53, соответственно; SEQ ID NO: 19 и 54, соответственно; SEQ ID NO: 20 и 55, соответственно; SEQ ID NO: 21 и 56, соответственно; SEQ ID NO: 22 и 57, соответственно; SEQ ID NO: 23 и 58, соответственно; SEQ ID NO: 24 и 59, соответственно; SEQ ID NO: 25 и 60, соответственно; SEQ ID NO: 26 и 61, соответственно; SEQ ID NO: 27 и 62, соответственно; SEQ ID NO: 28 и 63, соответственно; SEQ ID NO: 29 и 64, соответственно; SEQ ID NO: 30 и 65, соответственно; SEQ ID NO: 31 и 66, соответственно; SEQ ID NO: 32 и 67, соответственно; SEQ ID NO: 33 и 68, соответственно; SEQ ID NO: 34 и 69, соответственно; SEQ ID NO: 35 и 70, соответственно; SEQ ID NO: 36 и 71, соответственно; SEQ ID NO: 37 и 72, соответственно; SEQ ID NO: 38 и 73, соответственно; и SEQ ID NO: 39 и 74, соответственно.

65. Выделенное антитело, которое связывается с MerTK человека, при этом антитело конкурентно ингибирует связывание одного или более антител по любому из пп. 1-64 при связывании с MerTK человека, необязательно при этом антитело конкурентно ингибирует связывание MTK-10, MTK-12, MTK-13, MTK-19, MTK-20 или MTK-22.

66. Выделенное антитело, которое связывается с MerTK человека, при этом антитело связывает по существу тот же или перекрывающийся эпитоп на MerTK, что и антитело по любому из пп. 1-64 при связывании с MerTK человека, необязательно при этом антитело связывается по существу с тем же или перекрывающимся

эпитопом на MerTK, что и MTK-10, MTK-12, MTK-13, MTK-19, MTK-20 или MTK-22.

67. Антитело по любому из пп. 28-66, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз фагоцитом.

68. Антитело по п. 67, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз на по меньшей мере 50% по сравнению с антителом изотипического контроля.

69. Антитело по п. 68, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз на по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.

70. Антитело по п. 67, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз со значением IC₅₀ от 0,13 нМ до 30 нМ.

71. Антитело по п. 70, отличающееся тем, что снижает эффероцитоз со значением IC₅₀ от 0,13 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 30 нМ.

72. Антитело по любому из пп. 67-71, отличающееся тем, что фагоцит представляет собой макрофаг, опухолеассоциированный макрофаг или дендритную клетку.

73. Антитело по любому из пп. 28-72, отличающееся тем, что (i) снижает связывание ProS с MerTK, но не снижает связывание Gas6 с MerTK, или (ii) снижает связывание ProS с MerTK и снижает связывание Gas6 с MerTK.

74. Антитело по п. 73, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.

75. Антитело по п. 73, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 25,9 нМ.

76. Антитело по п. 75, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 2,5 нМ, от 2,5 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ или от 10 нМ до 25 нМ.

77. Антитело по любому из пп. 28-72, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK.

78. Антитело по п. 77, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.

79. Антитело по п. 77, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29 нМ до 32 нМ.

80. Антитело по п. 79, отличающееся тем, что снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29

нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 5 нМ, от 5 нМ до 10 нМ, от 10 нМ до 25 нМ или от 25 нМ до 32 нМ.

81. Антитело по любому из пп. 28-72, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK и снижает связывание Gas6 с MerTK.

82. Антитело по п. 81, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%, и при этом антитело снижает связывание Gas6 с MerTK на по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95%.

83. Антитело по п. 81, отличающееся тем, что снижает связывание ProS с MerTK со значением IC₅₀ от 0,58 нМ до 25,9 нМ, и при этом антитело снижает связывание Gas6 с MerTK со значением IC₅₀ от 0,29 нМ до 32 нМ.

84. Антитело по любому из пп. 28-83, отличающееся тем, что связывается с MerTK человека и MerTK мыши, связывается с MerTK человека и MerTK яванского макака или связывается с MerTK человека, MerTK мыши и MerTK яванского макака

85. Антитело по любому из пп. 28-84, отличающееся тем, что связывается с MerTK человека с аффинностью связывания от 1,4 нМ до 81 нМ.

86. Антитело по п. 84 или п. 85, отличающееся тем, что связывается с MerTK яванского макака с аффинностью связывания от 1,6 нМ до 107 нМ.

87. Антитело по любому из пп. 84-86, отличающееся тем, что связывается с MerTK мыши с аффинностью связывания от 30 нМ до 186 нМ.

88. Антитело по любому из пп. 28-87, отличающееся тем, что снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ.

89. Антитело по п. 88, отличающееся тем, что снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ со значением IC₅₀ от 0,019 нМ до 7,74 нМ.

90. Антитело по п. 89, отличающееся тем, что снижает опосредованное Gas6 фосфорилирование АКТ со значением IC₅₀ от 0,019 нМ до 0,25 нМ, от 0,25 нМ до 0,5 нМ, от 0,5 нМ до 1 нМ, от 1 нМ до 2,5 нМ, от 2,5 нМ до 5 нМ, или от 5 нМ до 7,74 нМ.

91. Антитело по любому из пп. 1-6, 11-72 и 77-90, отличающееся тем, что является в по меньшей мере 1,7, по меньшей мере 2,3, по меньшей мере 2,4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 7,7, или по меньшей мере в 8,5 раз более эффективным в снижении связывания ProS с MerTK, чем в снижении связывания Gas6 с MerTK.

92. Антитело по любому из пп. 28-91, отличающееся тем, что увеличивает или индуцирует M1-подобную поляризацию макрофагов.
93. Антитело по любому из пп. 28-92, отличающееся тем, что увеличивает экспрессию макрофагами одного или более провоспалительных цитокинов.
94. Антитело по п. 93, отличающееся тем, что увеличивает экспрессию макрофагами TNF, IFN, IL-6, IL-1, IL-12, CXCL-1, MCP1, MIP-1 α , и/или MIP-1 β .
95. Антитело по любому из пп. 1-94, отличающееся тем, что также связывается с MerTk яванского макака.
96. Антитело по любому из пп. 1-95, отличающееся тем, что также связывается с мышинным MerTK.
97. Антитело по любому из пп. 1-98, отличающееся тем, что представляет собой мышинное антитело, человеческое антитело, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело.
98. Гуманизированная форма антитела по любому из пп. 1-96.
99. Антитело по любому из пп. 1-98, отличающееся тем, что относится к классу IgG, классу IgM или классу IgA.
100. Антитело по п. 99, отличающееся тем, что относится к классу IgG и имеет изотип IgG1, IgG2 или IgG4.
101. Антитело по п. 100, отличающееся тем, что относится к изотипу IgG1 с аминокислотной последовательностью Fc, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 396, 397, 398, 399, 400 и 401.
102. Антитело по любому из пп. 1-101, отличающееся тем, что представляет собой полноразмерное антитело.
103. Антитело по любому из пп. 1-41, 44, 45, 48, 49, 52, 53 и 56-102, отличающееся тем, что представляет собой фрагмент антитела.
104. Антитело по п. 103, отличающееся тем, что фрагмент представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv.
105. Выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело по любому из пп. 1-104.
106. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 105.
107. Выделенная клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 105 или вектор по п. 106.

108. Выделенная клетка-хозяин, содержащая (i) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую VH антитела по любому из пп. 1-104, и (ii) нуклеиновую кислоту, содержащую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую VL антитела к MerTK.

109. Способ получения антитела, которое связывается с MerTK человека, включающий культивирование клетки по п. 107 или 108 с получением антитела.

110. Способ по п. 109, дополнительно включающий выделение антитела, продуцируемого клеткой.

111. Антитело, полученное способом по п. 109 или п. 110.

112. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1-104 и 111 и фармацевтически приемлемый носитель.

113. Способ лечения индивида, имеющего злокачественное новообразование, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп. 1-104 и 111 или фармацевтической композиции по п. 112.

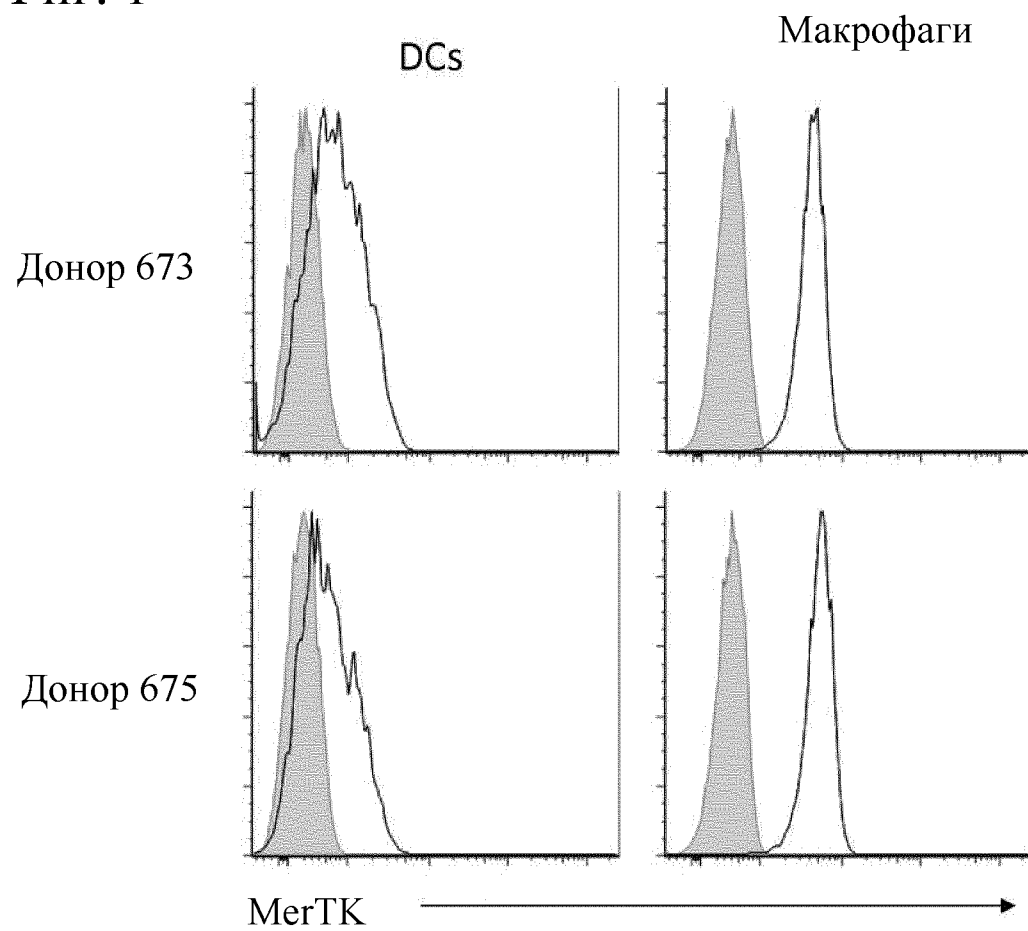
114. Способ по п. 113, отличающийся тем, что злокачественное новообразование представляет собой рак толстой кишки, рак яичников, рак печени или рак эндометрия.

115. Способ по п. 113 или п. 114, отличающийся тем, что введение не приводит к патологии сетчатки у индивида.

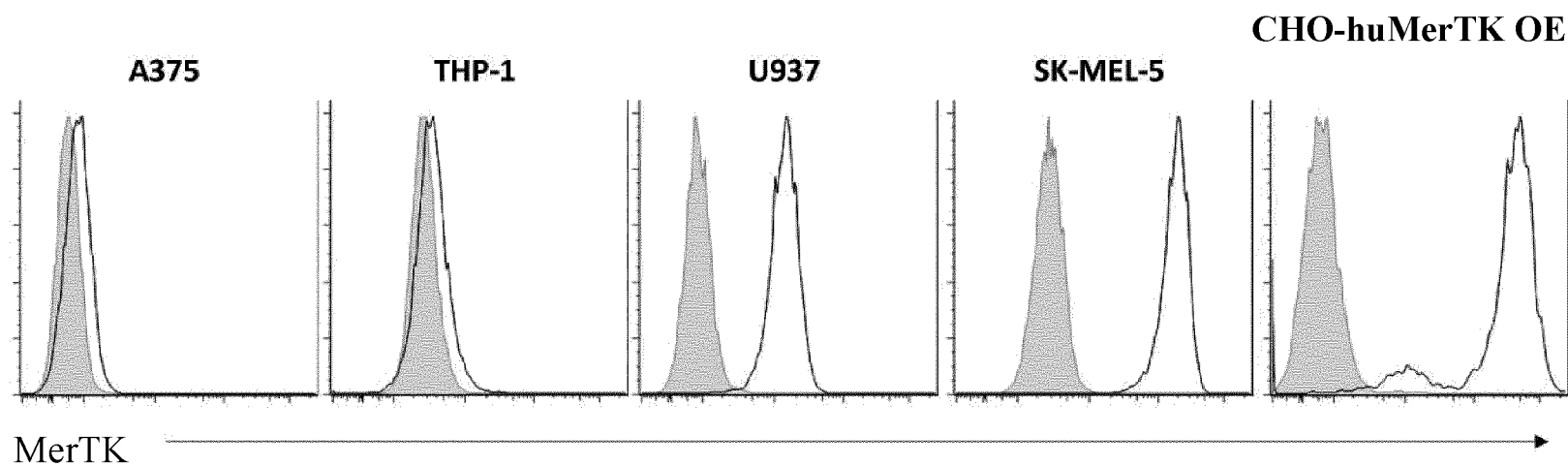
116. Способ по любому из пп. 113-115, дополнительно включающий введение индивиду антитела к PD-L1, антитела к PD-L2 или антитела к PD.

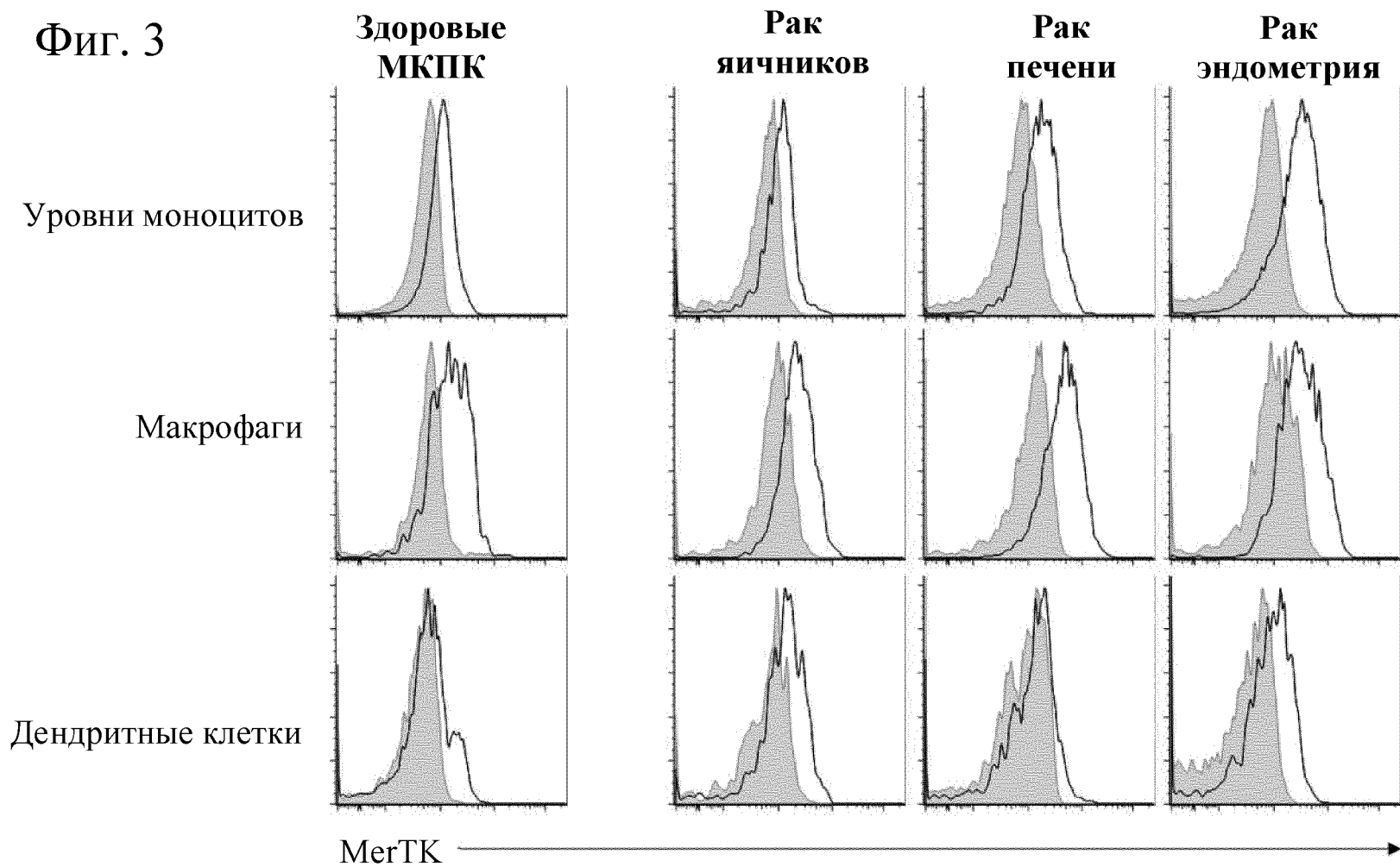
117. Способ обнаружения MerTK в образце, включающий приведение указанного образца в контакт с антителом по любому из пп. 1-104 и 114.

Фиг. 1

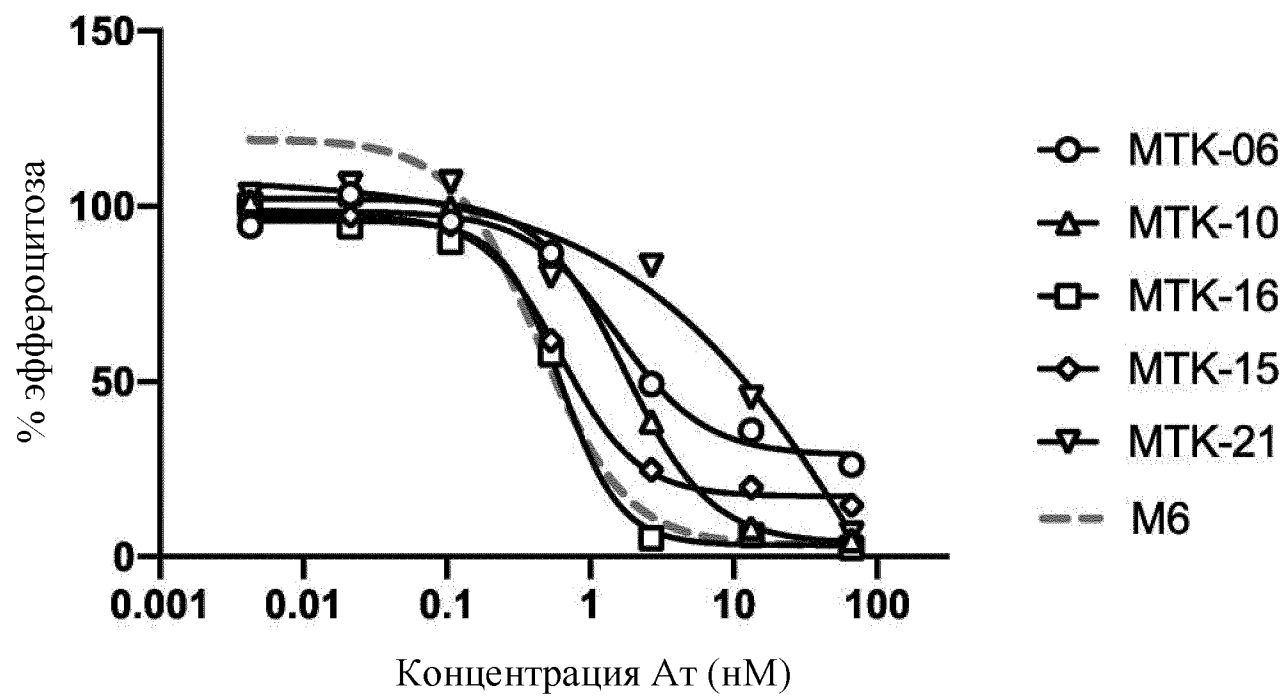


Фиг. 2

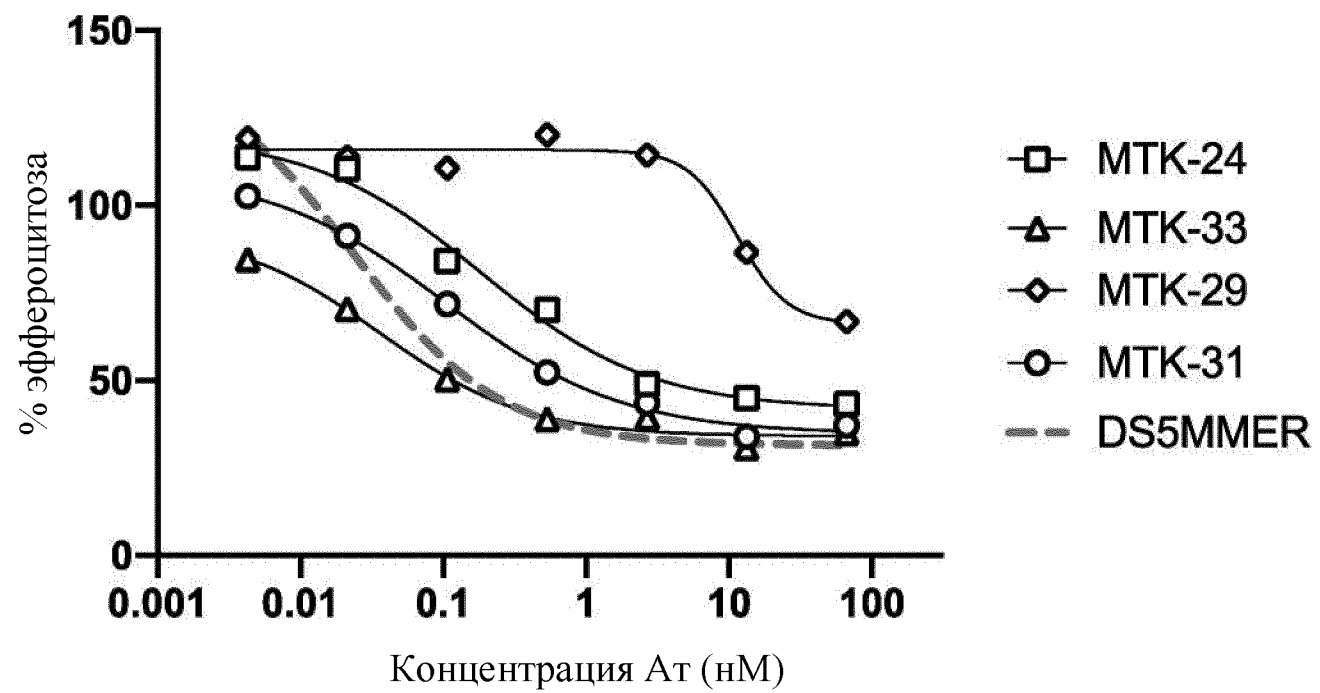




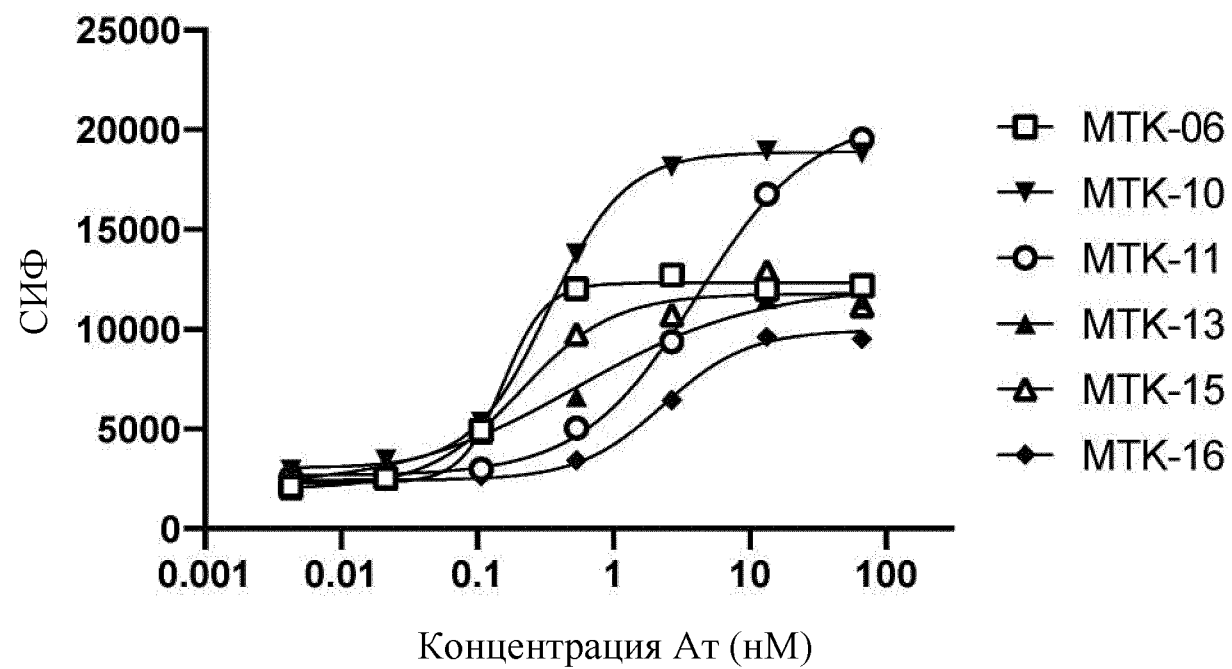
Фиг. 4



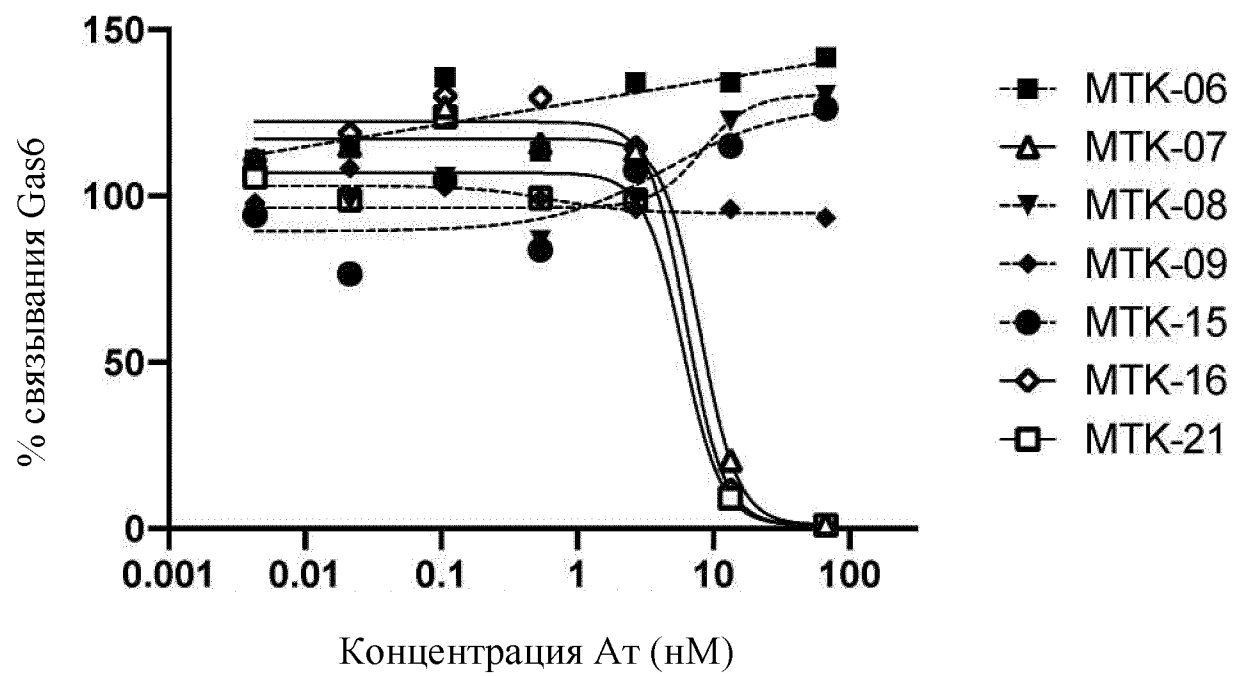
Фиг. 5



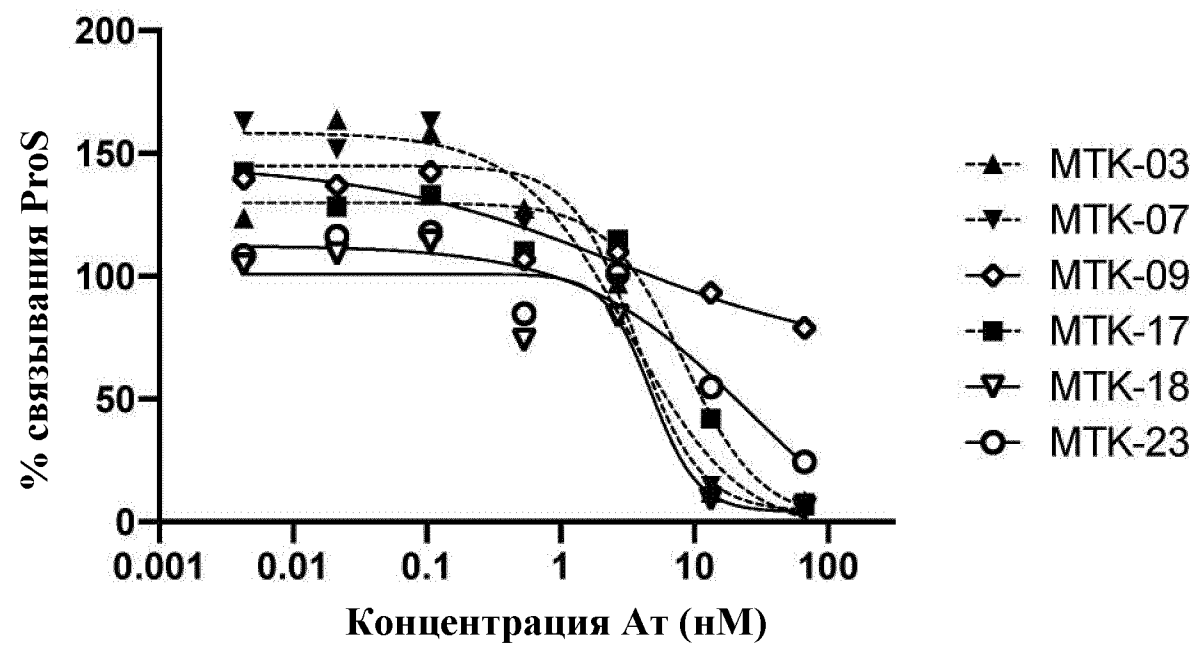
Фиг. 6



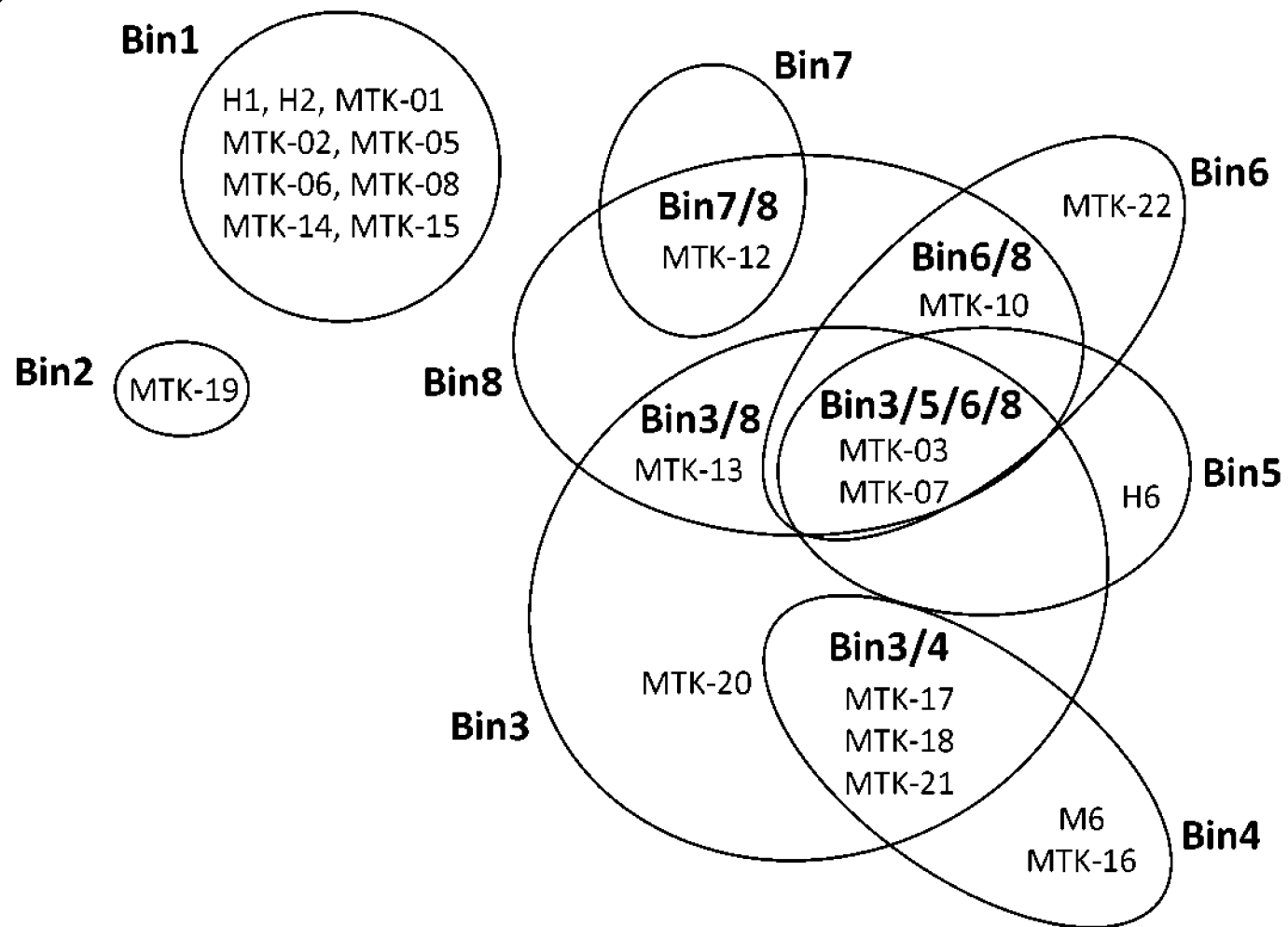
Фиг. 7



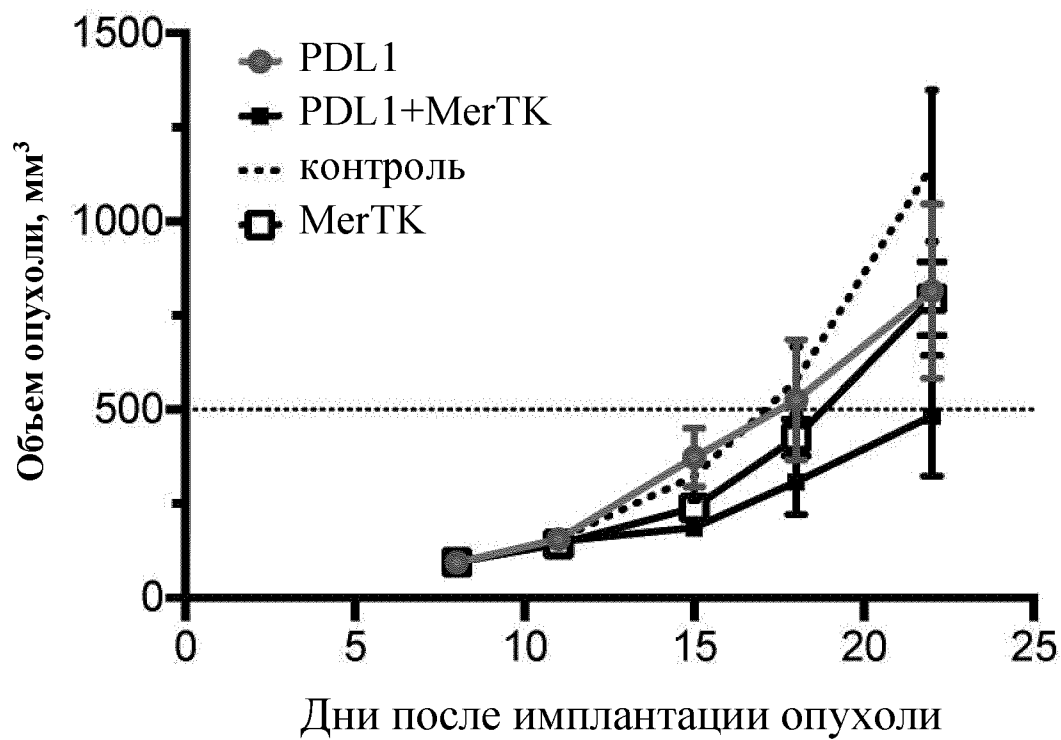
Фиг. 8



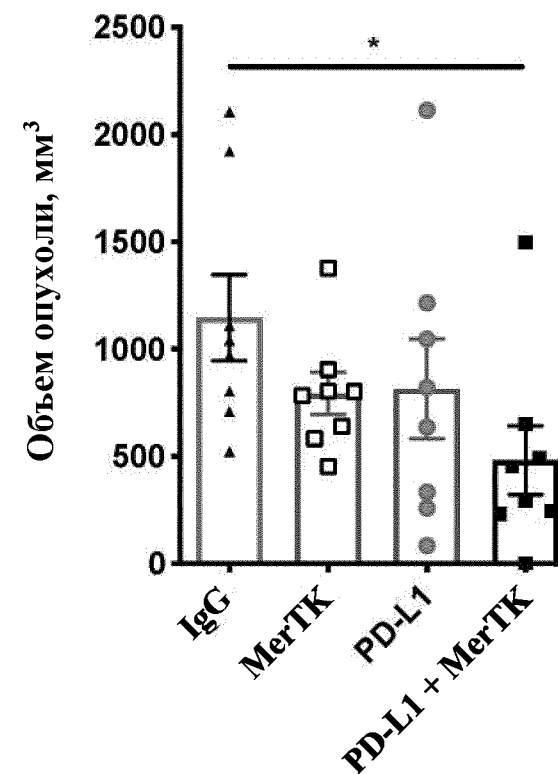
Фиг. 9



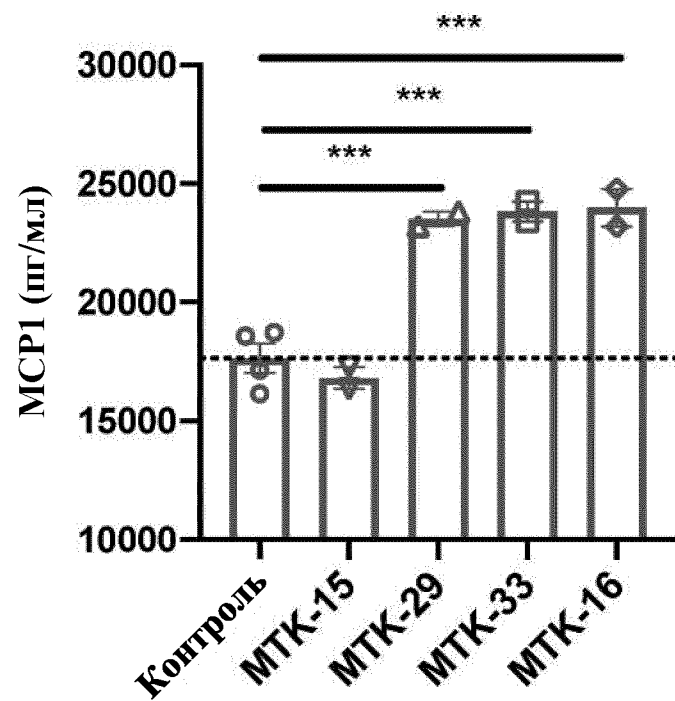
Фиг. 10А



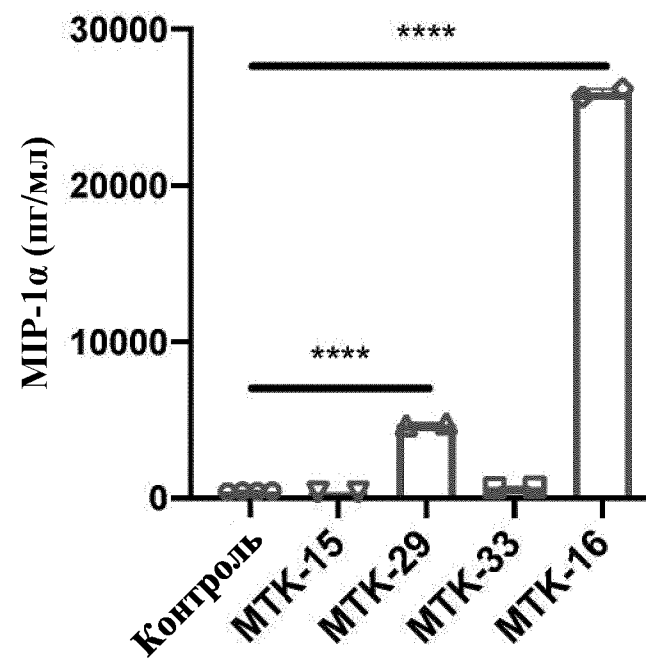
Фиг. 10В



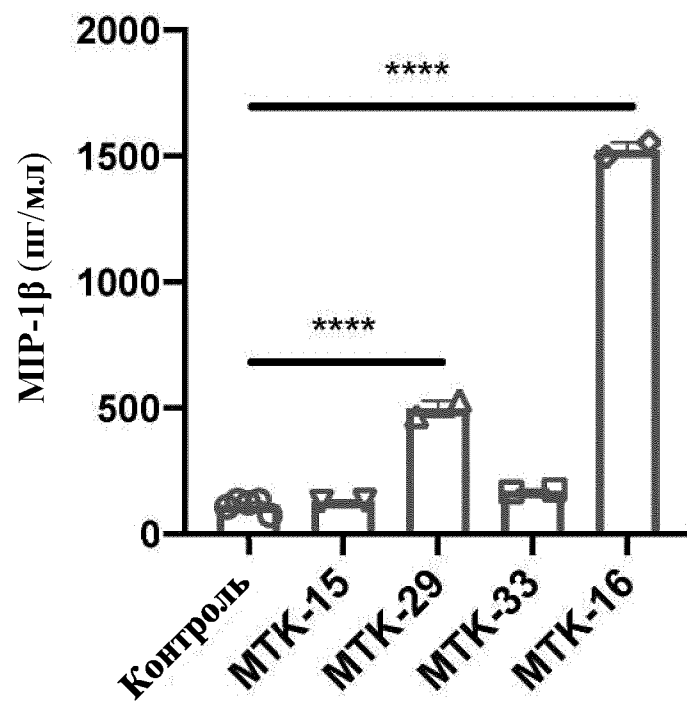
Фиг. 11А



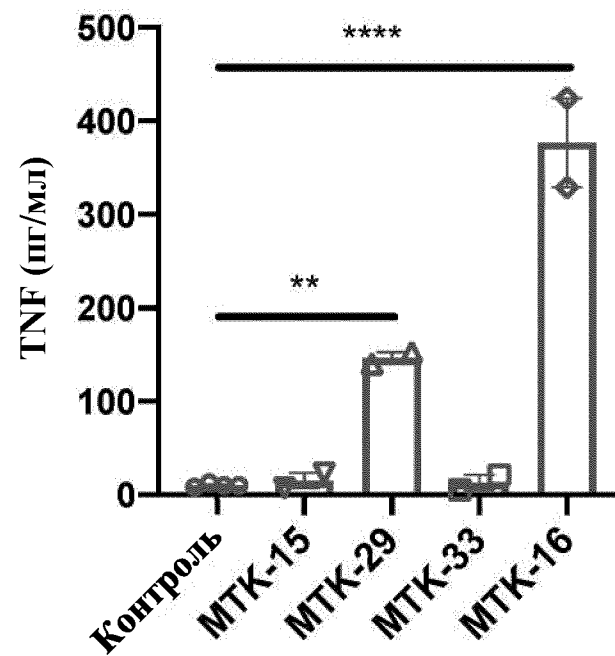
Фиг. 11В



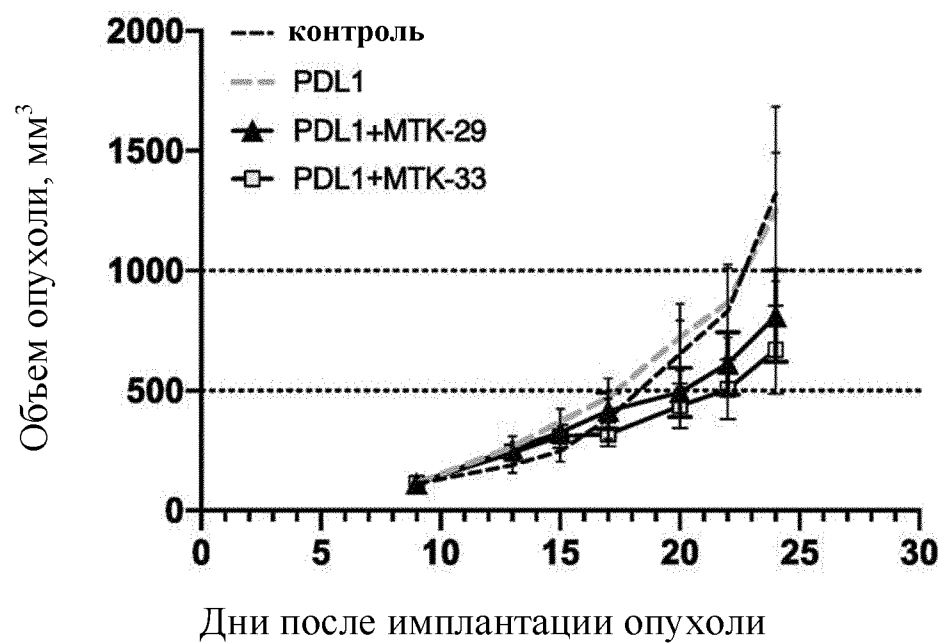
Фиг. 11С



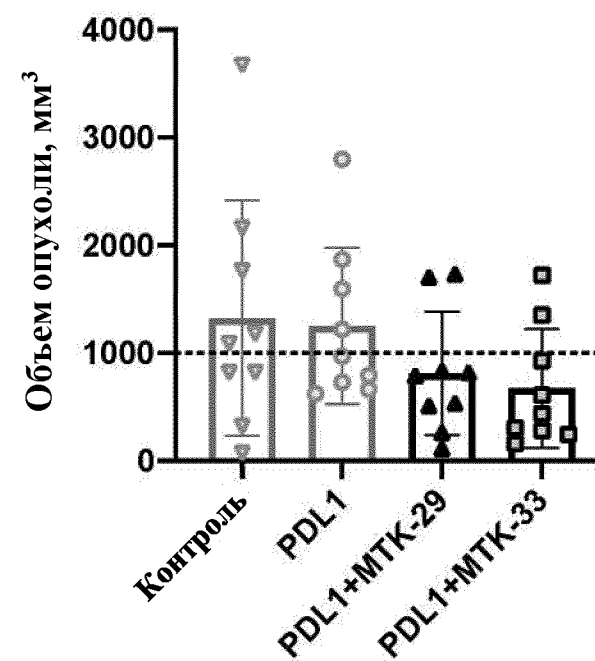
Фиг. 11D



Фиг. 12А

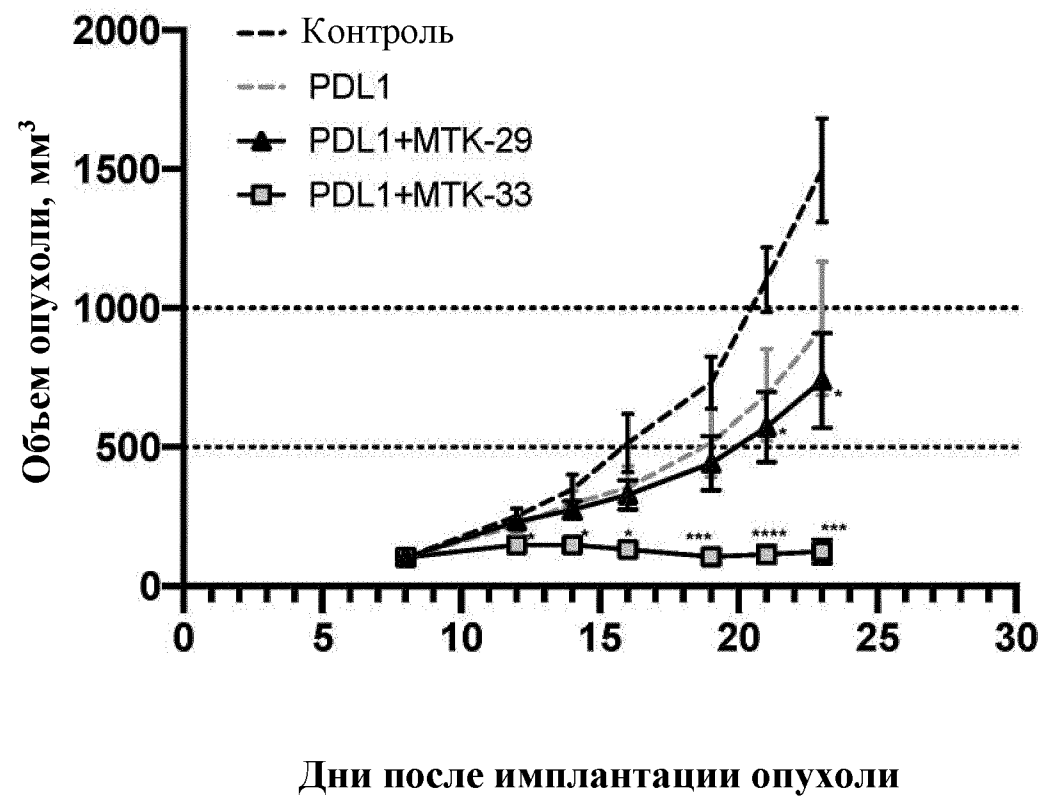


Фиг. 12В

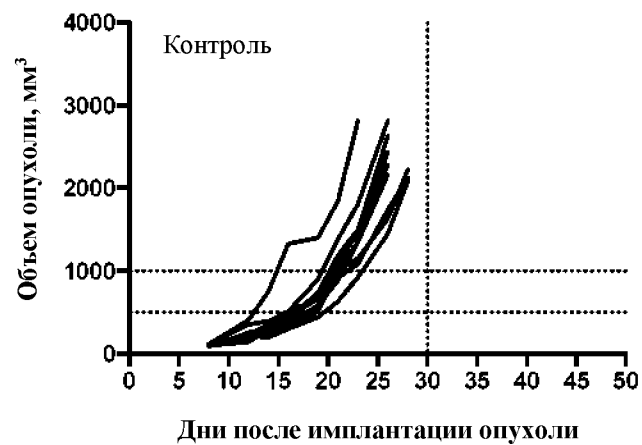


День 24

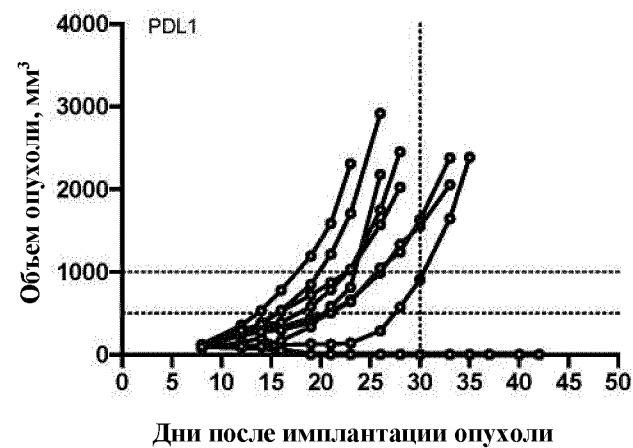
Фиг. 13



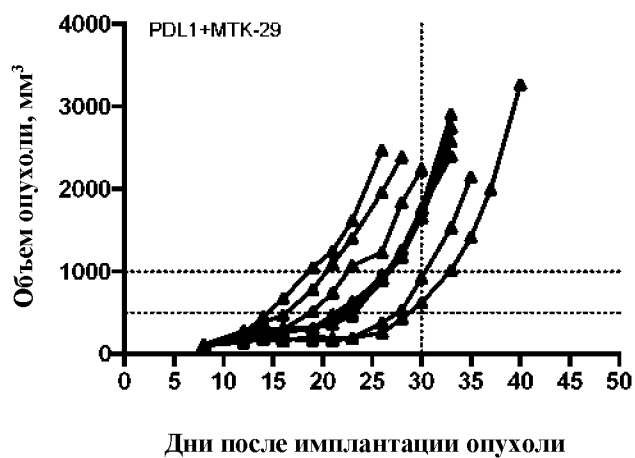
Фиг. 14А



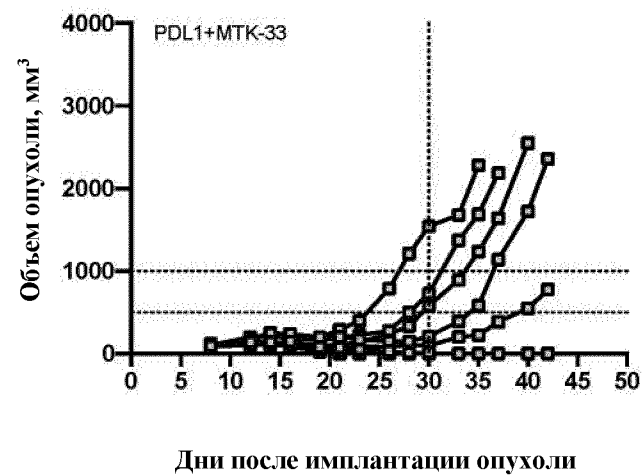
Фиг. 14В



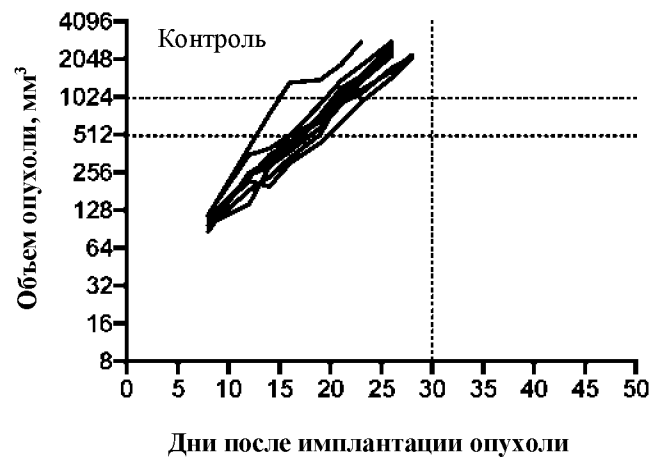
Фиг. 14С



Фиг. 14D



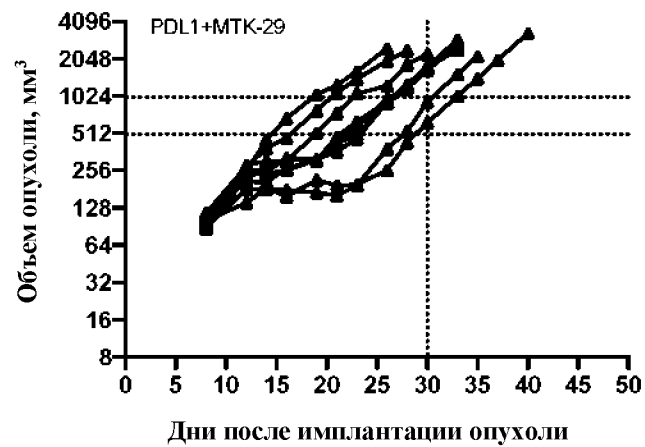
Фиг. 15А



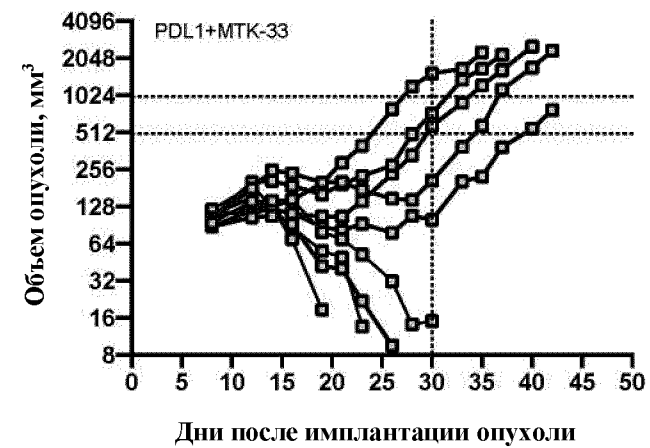
Фиг. 15В



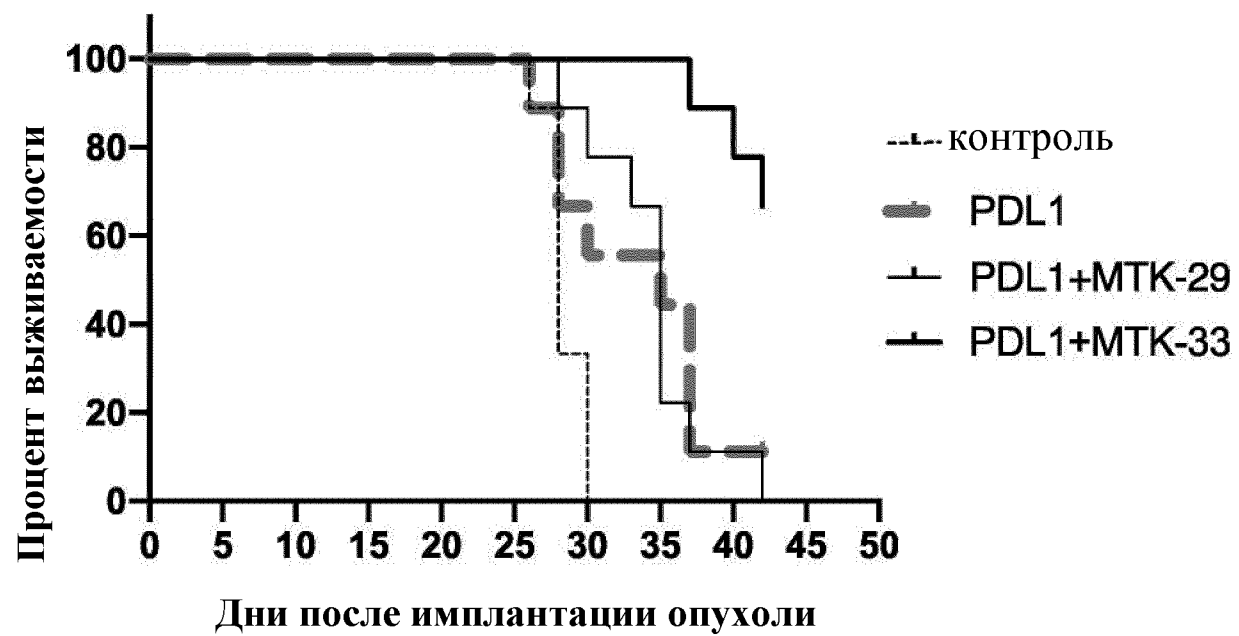
Фиг. 15С



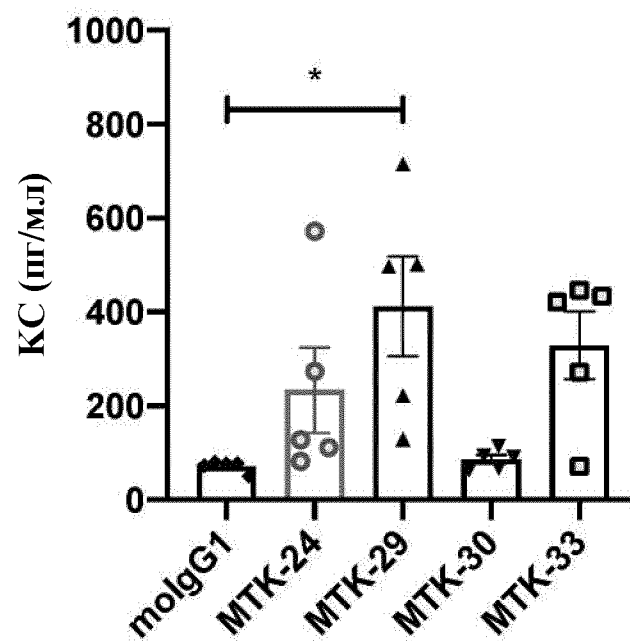
Фиг. 15D



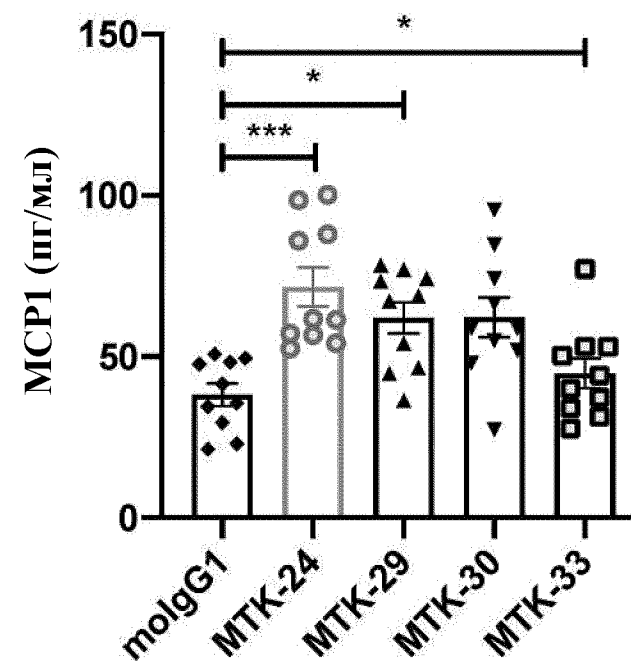
Фиг. 16



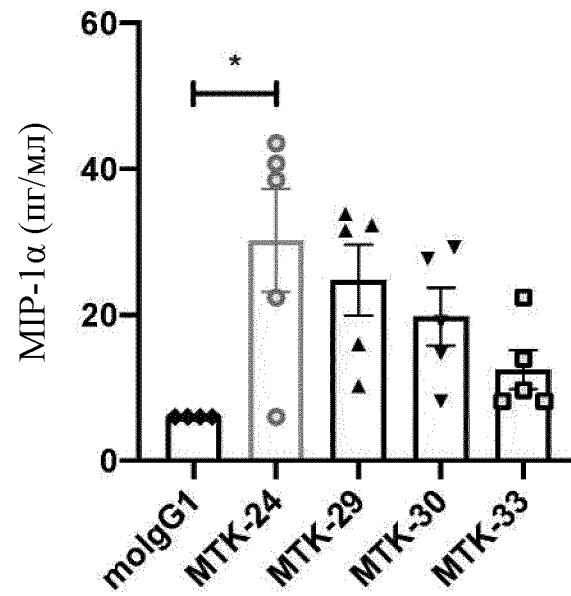
Фиг. 17А



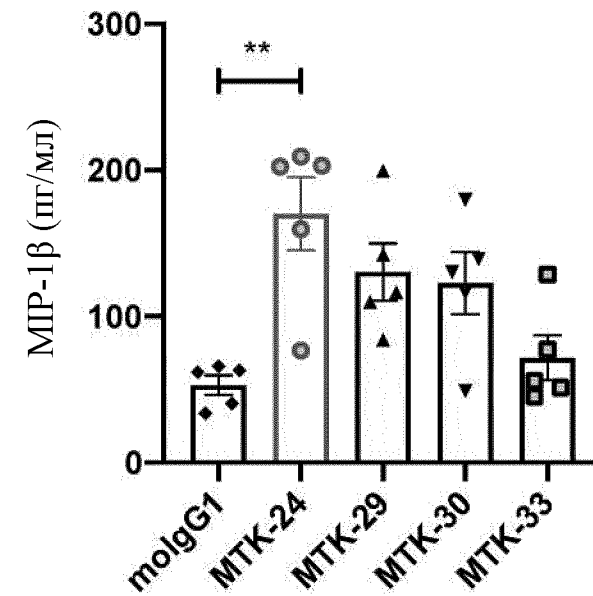
Фиг. 17В



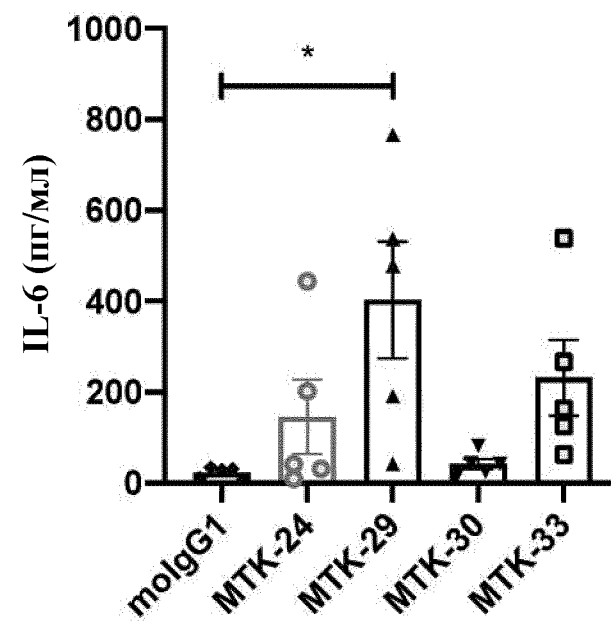
Фиг. 17С



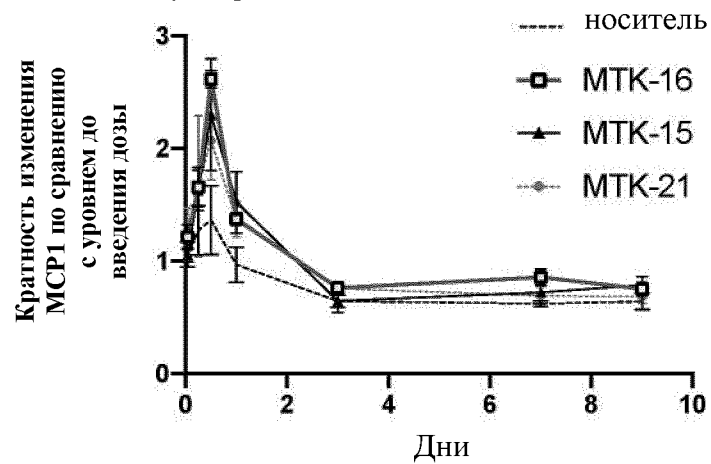
Фиг. 17D



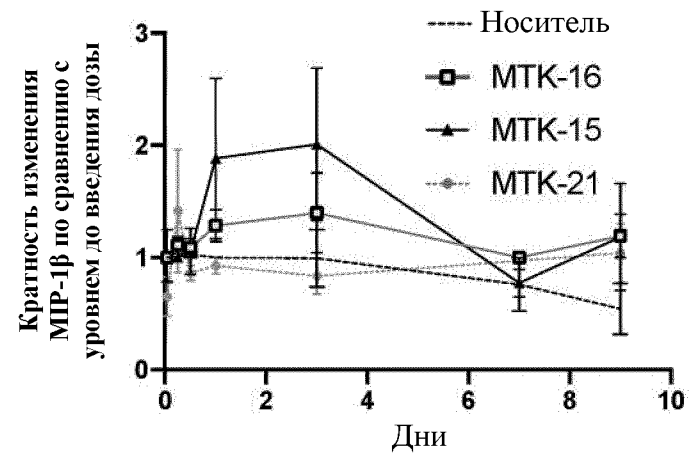
Фиг. 17Е



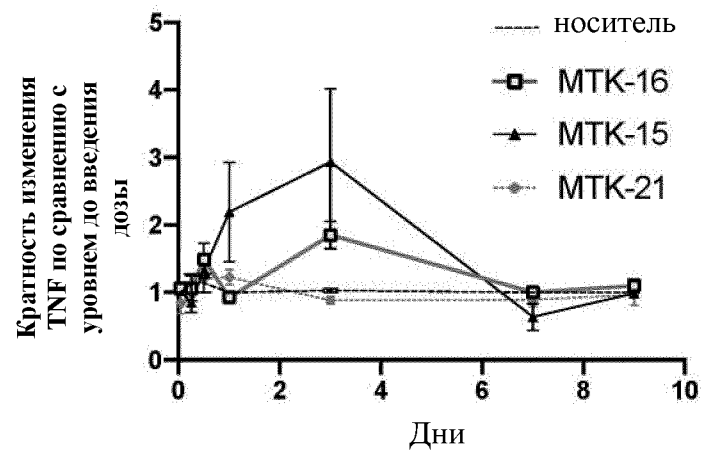
Фиг. 18А



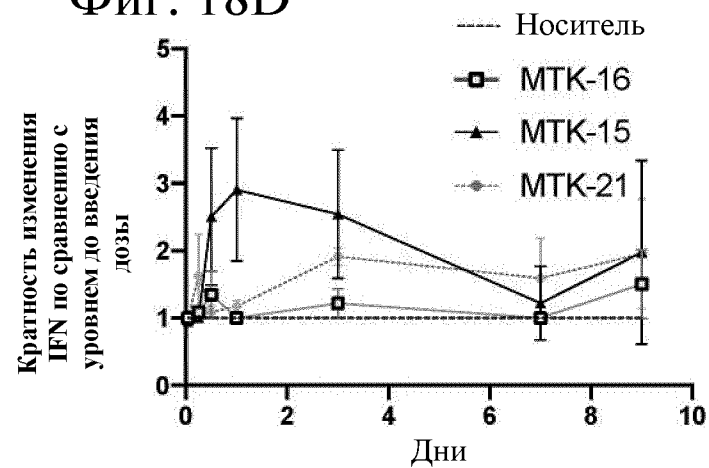
Фиг. 18В



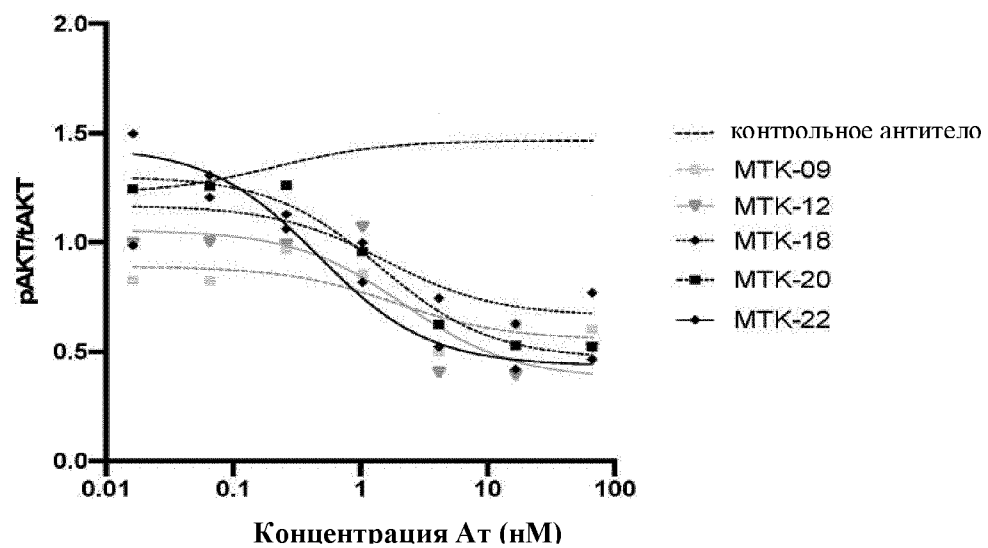
Фиг. 18С



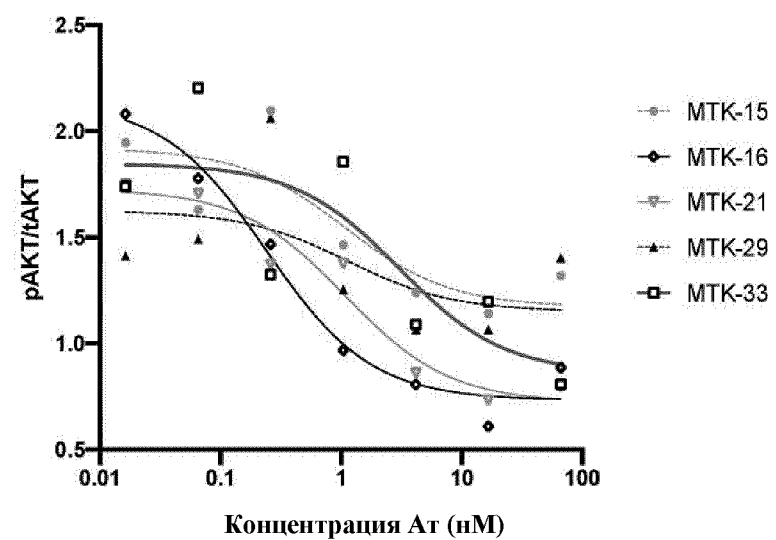
Фиг. 18D



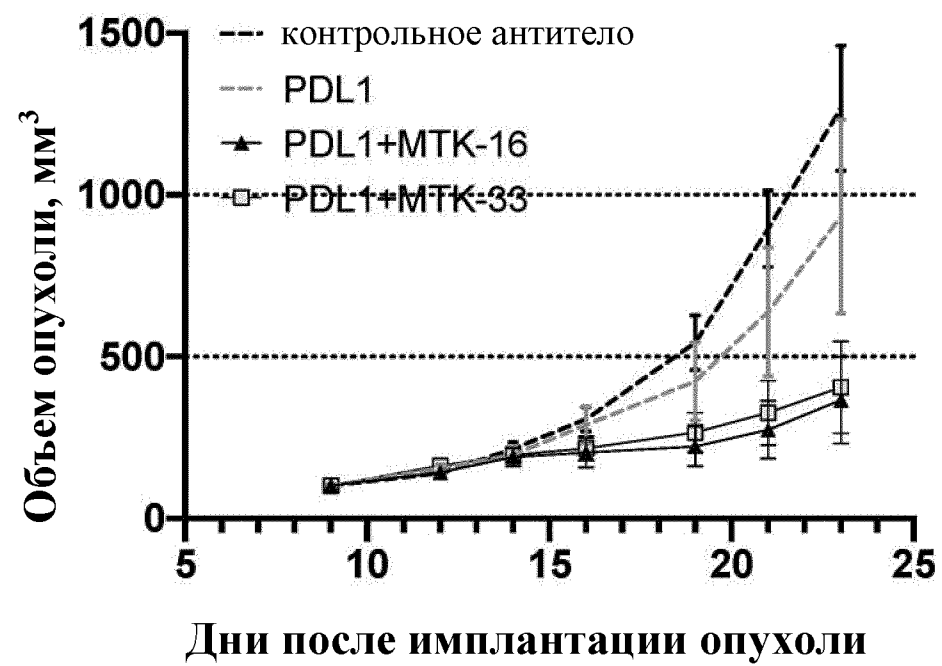
Фиг. 19А



Фиг. 19В



Фиг. 20А



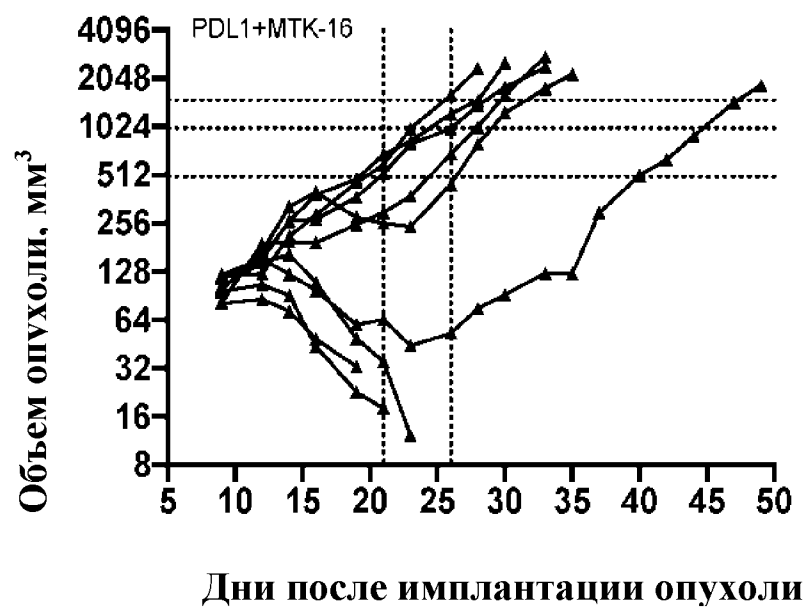
Фиг. 20В



Фиг. 20С



Фиг. 20D



Фиг. 20E



Фиг. 21

