

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291833** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.10.05

(51) Int. Cl. **C07K 16/28 (2006.01)**
C07K 16/42 (2006.01)

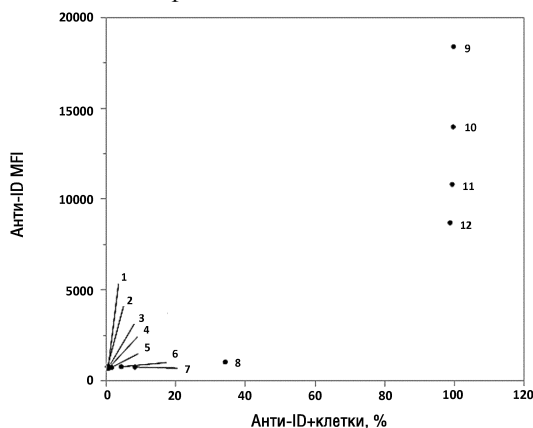
(22) Дата подачи заявки
2020.12.04

(54) АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К НАЦЕЛЕННЫМ НА ВСМА СВЯЗЫВАЮЩИМ ДОМЕНАМ И ОТНОСЯЩИЕСЯ К НИМ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ

(31) **62/945,065; 63/061,763; 63/109,839**
(32) **2019.12.06; 2020.08.05; 2020.11.04**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/063492**
(87) **WO 2021/113776 2021.06.10**
(71) Заявитель:
ДЖУНО ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Хоскинс Коллин, Харрингтон
Кимберли (US)
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Представлены антиидиотипические антитела, которые специфически распознают компоненты анти-ВСМА антител, в частности компоненты анти-ВСМА антител, присутствующие в рекомбинантных рецепторах, включая химерные антигенные рецепторы (CAR). Кроме того, изобретение относится к применению антиидиотипических антител для специфической идентификации и/или отбора клеток, экспрессирующих такие рекомбинантные рецепторы, таких как анти-ВСМА CAR Т-клетки. Кроме того, изобретение относится к применению антиидиотипических антител для специфической активации таких клеток.



A1

202291833

202291833

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-574644EA/032

АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К НАЦЕЛЕННЫМ НА ВСМА СВЯЗЫВАЮЩИМ ДОМЕНАМ И ОТНОСЯЩИЕСЯ К НИМ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США 62/945,065, поданной 6 декабря 2019 г. и озаглавленной «АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К НАЦЕЛЕННЫМ НА ВСМА СВЯЗЫВАЮЩИМ ДОМЕНАМ И ОТНОСЯЩИЕСЯ К НИМ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ», предварительной заявки США 63/061,763, поданной 5 августа 2020 г., озаглавленной «АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К НАЦЕЛЕННЫМ НА ВСМА СВЯЗЫВАЮЩИМ ДОМЕНАМ И ОТНОСЯЩИЕСЯ К НИМ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ», и предварительной заявки США 63/109,839, поданной 4 ноября 2020 г., озаглавленной «АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К НАЦЕЛЕННЫМ НА ВСМА СВЯЗЫВАЮЩИМ ДОМЕНАМ И ОТНОСЯЩИЕСЯ К НИМ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ», содержание которых включено в настоящее описание во всей полноте посредством ссылки для всех целей.

ВКЛЮЧЕНИЕ СПИСКА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

[0002] Настоящая заявка подана вместе со списком последовательностей в электронном виде. Список последовательностей представлен в виде файла под названием 735042017940SeqList.txt, созданного 21 ноября 2020 г. и имеющего размер 84302 байта. Информация в Списке последовательностей, представленная в электронном виде, включена во всей полноте посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0003] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к антиидиотипическим антителам, которые связывают или распознают компоненты анти-ВСМА антител, в частности компоненты анти-ВСМА антител, присутствующие в рекомбинантных рецепторах, включая химерные антигенные рецепторы (CAR). Кроме того, изобретение относится к применению антиидиотипических антител для специфической идентификации, детектирования или отбора клеток, экспрессирующих такие рекомбинантные рецепторы, таких как анти-ВСМА CAR T-клетки. Изобретение также относится к применению антиидиотипических антител для специфической активации таких клеток.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Существуют способы адоптивной клеточной терапии, в которых используются сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы, такие как химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий внеклеточные антигенсвязывающие домены антитела. Известны различные стратегии для оценки

активности таких клеток у субъекта либо *in vitro*, либо *in vivo*. Имеется потребность в улучшенных способах специфической оценки активности CAR-экспрессирующих клеток. Представлены реагенты, композиции и изделия, отвечающие таким потребностям.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] В настоящем описании представлены агенты, которые связывают или распознают антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, включая фрагменты антител, такие как scFv, и химерные молекулы, содержащие их, такие как химерные антигенные рецепторы. Также представлены композиции и изделия, содержащие такие агенты, в том числе композиции и изделия, которые включают поверхность, с которой связан агент, такую как твердая поверхность, например планшет или гранула. В некоторых вариантах осуществления также представлены применения и способы применения таких агентов, композиций и изделий, в том числе для детектирования, применения клеток или терапевтических средств, содержащих или предположительно содержащих антитело или химерную молекулу, для манипуляции ими и/или для стимуляции их, например, при детектировании, стимуляции или применении CAR-экспрессирующих клеток.

[0006] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает: VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84 или 114; и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85 или 115.

[0007] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит: VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

[0008] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также предоставлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит: VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82 или

112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

[0009] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит: VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

[0010] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82 или 112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

[0011] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76; и VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83.

[0012] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85.

[0013] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:106; и VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:113.

[0014] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

[0015] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115.

[0016] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

[0017] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117.

[0018] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:87. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:117.

[0019] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный

между VH-областью и VL-областью. В некоторых из таких вариантов осуществления гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой одноцепочечный варибельный фрагмент (scFv). В некоторых из таких вариантов осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

[0020] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR целевого антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

[0021] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR.

[0022] В некоторых из таких вариантов осуществления scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсер представляет собой иммуноглобулиновый спейсер. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50. В некоторых из таких вариантов осуществления трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28. В некоторых из таких вариантов осуществления трансмембранная часть CD28 представляет собой человеческий CD28. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене CAR.

[0023] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или не связывает специфически CD28 или его часть. В некоторых из таких вариантов осуществления CD28 или его часть представляет собой человеческий CD28.

[0024] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-домене. В некоторых из таких вариантов осуществления Fc-домен представляет собой Fc-домен человеческого IgG1.

[0025] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает человеческий BCMA.

[0026] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не вступает в перекрестную реакцию с другим анти-BCMA антителом. В некоторых из таких вариантов осуществления другое анти-BCMA антитело содержится во внеклеточном антигенсвязывающем домене другого CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления другое анти-BCMA антитело содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, на менее чем 90%, и/или VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26, на менее чем 90%. В некоторых из таких вариантов осуществления другое анти-BCMA антитело содержит scFv, последовательность которого идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13, на менее чем 90%. В некоторых из таких вариантов осуществления другое анти-BCMA антитело содержит CDR-H1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO:15, и/или CDR-H2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO:16, и/или CDR-H3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO:17, и/или CDR-L1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO:22, и/или CDR-L2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO:23, и/или CDR-L3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO:24. В некоторых из таких вариантов осуществления другое анти-BCMA антитело связывает или распознает эпитоп человеческого BCMA, который не является тем же самым эпитопом человеческого BCMA, с которым связывается или который распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0027] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, содержащего целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда находится в растворенной

форме. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе. В некоторых из таких вариантов осуществления подложка или стационарная фаза представляет собой планшет или гранулу.

[0028] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0029] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело имеет аффинность связывания (EC_{50}) и/или константу диссоциации с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которая составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело имеет константу диссоциации с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которая составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ.

[0030] В некоторых из таких вариантов осуществления связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом не блокируется человеческим BCMA или человеческим BCMA-Fc.

[0031] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит: VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39 или 63. Целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или целевого антитела 2, или включает VH и VL с CDR целевого антитела 1 или целевого антитела 2, как раскрыто в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает как первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, так и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 1, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL

целевого антитела 2 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 2.

[0032] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит: VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63. Целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или целевого антитела 2, или включает VH и VL с CDR целевого антитела 1 или целевого антитела 2, как раскрыто в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает как первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, так и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 1, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 2 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 2.

[0033] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также предложено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит: VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61. Целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или целевого антитела 2 или включает VH и VL с CDR целевого антитела 1 или целевого антитела 2, как раскрыто в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает как первое целевое анти-BCMA антитело и его антигенсвязывающий фрагмент, так и второе целевое анти-BCMA

антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 1, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 2 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 2.

[0034] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63. Целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или целевого антитела 2 или включает VH и VL с CDR целевого антитела 1 или целевого антитела 2, как раскрыто в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает как первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, так и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 1 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 1, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает последовательности VH и VL целевого антитела 2 или включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 2.

[0035] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область представленного антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2 содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61.

[0036] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область представленного антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента

представленного антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39 или 63.

[0043] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область представленного антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39. В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область представленного антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63.

[0044] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40 или 64; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41 или 65.

[0045] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65.

[0046] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40 или 64; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41 или 65. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:65.

[0047] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях первое целевое

анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представляет собой одноцепочечный фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью. В некоторых из таких вариантов осуществления гибкий линкер представляет собой или содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (в некоторых случаях первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) представляет собой одноцепочечный фрагмент, который представляет собой scFv. В некоторых из таких вариантов осуществления scFv имеет или содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых вариантах осуществления изобретения антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv), которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых вариантах осуществления изобретения антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv), которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антигенсвязывающий домен, который содержится внутри или включен в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR, представляет собой scFv. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает, например связывает или распознает человеческий BCMA. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает, например, специфически связывает или распознает человеческий BCMA.

[0048] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях второе целевое

анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представляет собой одноцепочечный фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью. В некоторых из таких вариантов осуществления гибкий линкер представляет собой или содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14. В некоторых из любых таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (в некоторых случаях второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) представляет собой scFv. В некоторых из таких вариантов осуществления scFv имеет или содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых вариантах осуществления изобретения антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv), которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых вариантах осуществления изобретения антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv), которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антигенсвязывающий домен, который находится внутри или включен во внеклеточную часть CAR, представляет собой scFv. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает scFv, который находится внутри или включен во внеклеточную часть CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает, например связывает или распознает человеческий BCMA. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых случаях второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает, например специфически связывает, или распознает человеческий BCMA.

[0049] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает эпитоп, который находится внутри включает всю или часть CDR целевого анти-BCMA антитела или

антигенсвязывающего фрагмента (в некоторых случаях первого целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или второго целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента). В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает: эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR первого целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает: эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR второго целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления эпитопы, распознаваемые антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом в первом целевом анти-BCMA антителе или антигенсвязывающем фрагменте и во втором целевом анти-BCMA антителе или антигенсвязывающем фрагменте, являются одинаковыми или перекрываются.

[0050] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv) содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR (также называемого целевым CAR). В некоторых из таких вариантов осуществления как первое, так и второе целевые анти-BCMA антитела или их антигенсвязывающие фрагменты (например, scFv) содержатся внутри или включены в антигенсвязывающий домен внеклеточной части первого CAR и второго CAR, соответственно (также называемые первым целевым CAR и вторым целевым CAR). В некоторых вариантах осуществления CAR содержит внеклеточный домен, содержащий антигенсвязывающий домен, который представляет собой или включает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, такой как scFv, например представленный в SEQ ID NO:13 или SEQ ID NO:27; трансмембранный домен и внутриклеточный домен, содержащий сигнальный домен CD3-дзета и костимулирующий сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления костимулирующий сигнальный домен представляет собой внутриклеточный сигнальный домен CD28, такого как человеческий CD28. В некоторых вариантах осуществления костимулирующий сигнальный домен представляет собой внутриклеточный сигнальный домен 4-1BB, такого как человеческий 4-1BB. В некоторых из таких вариантов осуществления CAR или первый и второй CAR по отдельности дополнительно содержат трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер, и внутриклеточную сигнальную область, содержащую ITAM-содержащий сигнальный домен, и внутриклеточный сигнальный домен из костимулирующего рецептора. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен представляет собой сигнальный домен CD3-дзета. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен костимулирующего рецептора представляет собой сигнальный домен 4-1BB. В некоторых из таких вариантов осуществления спейсер целевого CAR или первого CAR и/или второго CAR по отдельности представляет собой

иммуноглобулиновый спейсер. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитопом в спейсерном домене CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитопом в спейсерном домене первого CAR и/или второго CAR. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене первого CAR и второго CAR.

[0051] В некоторых из таких вариантов осуществления трансмембранный домен CAR или первый CAR и/или второй CAR по отдельности содержат трансмембранную часть CD28. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен представляет собой трансмембранный домен человеческого CD28. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или не связывает специфически CD28 или его часть, который необязательно является человеческим CD28. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или не связывает специфически человеческий CD28 или его часть.

[0052] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-домене. В некоторых из таких вариантов осуществления Fc-домен представляет собой Fc-домен человеческого IgG1.

[0053] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антитело-агонист целевого CAR, в некоторых случаях первого целевого CAR или второго целевого CAR. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR, содержащего первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и/или является агонистом второго CAR, содержащего второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом, когда находится в растворенной форме. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе, например где подложка или стационарная фаза представляет собой планшет или гранулу.

[0054] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-

BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0055] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело имеет аффинность связывания (EC50) и/или константу диссоциации с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которая составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело имеет константу диссоциации с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которая составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания (EC50) и/или константа диссоциации антиидиотипического антитела является той же самой или практически той же самой при связывании первого целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и второго целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0056] В некоторых из таких вариантов осуществления связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, или первым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и/или вторым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, не блокируется человеческим BCMA или человеческим BCMA-Fc.

[0057] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является гуманизированным. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является рекомбинантным. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является моноклональным. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления антигенсвязывающий фрагмент выбирают из Fab-фрагментов, F(ab')₂-фрагментов, Fab'-фрагментов, Fv-фрагментов, scFv и однодоменного антитела. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина. В некоторых из таких вариантов осуществления по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина содержит Fc-область или часть Fc, содержащую домены CH2 и CH3. В некоторых из таких вариантов осуществления константная область происходит от человеческого IgG.

[0058] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое

антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи и/или легкой цепи иммуноглобулина. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит константную область тяжелой цепи, содержащую Fc-область, или часть Fc, содержащую домены CH2 и CH3, и/или константную область легкой цепи, содержащую CL-домен. В некоторых из таких вариантов осуществления константная область происходит от IgG, необязательно IgG1. В некоторых из таких вариантов осуществления константная область происходит от IgG1. В некоторых из таких вариантов осуществления константная область легкой цепи происходит от легкой каппа-цепи.

[0059] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело.

[0060] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен конъюгат, содержащий антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с любым из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании, и гетерологичную молекулу или компонент. В некоторых из таких вариантов осуществления гетерологичная молекула или компонент представляет собой метку. В некоторых из любых таких вариантов осуществления метку выбирают из флуоресцентного красителя, флуоресцентного белка, радиоизотопа, хромофора, иона металла, частицы золота, частицы серебра, магнитной частицы, полипептида, фермента, стрептавидина, биотина, люминесцентного соединения и олигонуклеотида. В некоторых из таких вариантов осуществления гетерологичная молекула или компонент представляет собой белок, пептид, нуклеиновую кислоту или малую молекулу, которая необязательно представляет собой или содержит токсин или Strep-метку. В некоторых из таких вариантов осуществления гетерологичная молекула или компонент представляет собой Strep-метку.

[0061] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлена(ы) молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) тяжелую цепь и/или легкую цепь антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в соответствии с любым из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании. В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:62, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:62; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:63, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:63; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0062] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:84, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:85, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0063] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:114, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:114; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:115, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0064] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:38, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:38; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:39, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0065] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:64, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:65, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0066] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:86, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86; или (iii) вырожденную

последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:87, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0067] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:116, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:117, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0068] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:40, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:40; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:41, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:41; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

[0069] В некоторых из таких вариантов осуществления нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую цепь и/или легкую цепь, содержит сигнальную последовательность.

[0070] В некоторых из таких вариантов осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO:42, 43, 48, 49, 66-69, 88-91 и 118-121.

[0071] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен вектор, содержащий молекулу(ы) нуклеиновой кислоты в соответствии с любым из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании.

[0072] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлена клетка, содержащая антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с любым из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании, молекулу нуклеиновой кислоты в соответствии с любым из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании, или вектор в соответствии с любым из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании.

[0073] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий экспрессию тяжелой и/или легкой цепи, кодируемой молекулой(ами) нуклеиновой кислоты в соответствии с любым из таких

вариантов осуществления или вектором в соответствии с любым из таких вариантов осуществления в подходящей клетке-хозяине, и извлечение или выделение антитела.

[0074] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий культивирование клетки в соответствии с любым из таких вариантов осуществления в условиях, в которых экспрессируются тяжелая цепь и/или легкая цепь, и извлечение или выделение антитела.

[0075] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, полученное способом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления.

[0076] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлена композиция, содержащая антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, конъюгат в соответствии с любым из таких вариантов осуществления или клетку в соответствии с любым из таких вариантов осуществления.

[0077] В некоторых из таких вариантов осуществления композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

[0078] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен набор, содержащий одно или более антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, конъюгат в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, молекулу(ы) нуклеиновой кислоты в соответствии с любым из таких вариантов осуществления и, необязательно, инструкции по применению.

[0079] В некоторых из таких вариантов осуществления набор дополнительно содержит реагент или подложку для иммобилизации антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или конъюгата, где указанный реагент или подложка представляет собой гранулу, колонку, микролунку, палочку, фильтр, полоску или растворимый олигомерный реагент мутеина стрептавидина.

[0080] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также предложен способ детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий: (а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, или конъюгатом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и (b) детектирование антиидиотипического антитела, связанного с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связаны с клеткой или экспрессируются на поверхности клетки, и детектирование в (b) включает детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим

антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых из таких вариантов осуществления клетка экспрессирует на своей поверхности CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0081] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также предложен способ детектирования CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий: (а) приведение клетки, экспрессирующей CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления или конъюгатом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и (b) детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент непосредственно или опосредованно метят с целью детектирования.

[0082] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен способ отбора клеток из клеточной популяции, включающий: (а) приведение популяции клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или клетки, связанной с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления или конъюгатом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и (b) отбор клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых из таких вариантов осуществления клетки, связанные с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, отбирают путем разделения по аффинности. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности осуществляют методом проточной цитометрии. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности осуществляют посредством магнитно-активируемой сортировки клеток. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности включает аффинную хроматографию. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обратимо связаны или иммобилизованы на подложке или стационарной фазе.

[0083] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен способ стимуляции клеток, включающий инкубацию исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с антиидиотипическим антителом или его

антигенсвязывающим фрагментом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления или конъюгатом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, которое специфически связывает целевой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, тем самым генерируя выходную композицию, содержащую стимулированные клетки.

[0084] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен способ получения клеточной композиции, включающий: (a) введение в клетки молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты, кодирующей(их) CAR, тем самым создавая исходную композицию; и (b) инкубацию исходной композиции с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления или конъюгатом в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, которое специфически связывает антигенный рецептор CAR, с получением таким образом клеточной композиции.

[0085] В некоторых из любых таких вариантов осуществления введение в (a) включает введение молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки посредством вирусной трансдукции, транспозиции, электропорации или химической трансфекции.

[0086] В некоторых из таких вариантов осуществления введение в (a) включает введение молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки путем трансдукции вирусным вектором, содержащим молекулу(молекулы) нуклеиновой кислоты, причем необязательно вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор.

[0087] В некоторых из таких вариантов осуществления введение в (a) включает введение молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки путем транспозиции транспозона, содержащего молекулу(ы) нуклеиновой кислоты.

[0088] В некоторых из таких вариантов осуществления введение в (a) включает введение молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки путем электропорации или трансфекции вектора, содержащего молекулу(ы) нуклеиновой кислоты.

[0089] В некоторых из таких вариантов осуществления способ дополнительно включает этап активации клеток перед этапом (a). В некоторых из таких вариантов осуществления этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с агонистом CD3 и необязательно с агонистом CD28. В некоторых из таких вариантов осуществления этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с агонистом CD3. В некоторых из таких вариантов осуществления этап активации клеток дополнительно включает приведение клеток в контакт с агонистом CD28. В некоторых из таких вариантов осуществления этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с реагентом, содержащим агонистические анти-CD3 и анти-CD28 антитела.

[0090] В некоторых из таких вариантов осуществления инкубацию выполняют в условиях, в которых антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CAR, тем самым индуцируя или модулируя сигнал в одной или более

клетках в исходной композиции.

[0091] В некоторых из таких вариантов осуществления клетки включают Т-клетки. В некоторых из таких вариантов осуществления Т-клетки включают CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клетки.

[0092] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизовано на твердой подложке, которая необязательно содержит или конъюгирована с реагентом, содержащим множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0093] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизовано на растворимом реагенте, который необязательно представляет собой или содержит множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых из таких вариантов осуществления реагент содержит мутеин стрептавидина. В некоторых из таких вариантов осуществления инкубация составляет по меньшей мере или примерно по меньшей мере 5 минут, 10 минут, 30 минут, 60 минут, 2 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часов, 36, 48 часов, 72 часов или 96 часов.

[0094] В некоторых из таких вариантов осуществления исходная композиция содержит менее или менее примерно 60%, менее или менее примерно 50%, менее или менее примерно 40%, менее или менее примерно 30%, менее или менее примерно 20% или менее или менее примерно 10% CAR-экспрессирующих клеток относительно общего количества клеток в композиции. В некоторых из таких вариантов осуществления количество CAR-экспрессирующих клеток в выходной композиции увеличивается более чем в 1,2, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 10 раз или более по сравнению с количеством CAR-экспрессирующих клеток в исходной композиции. В некоторых из любых таких вариантов осуществления процент CAR-экспрессирующих клеток в выходной композиции по сравнению с общим количеством клеток в композиции увеличивается более чем на 10%, 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более.

[0095] В некоторых из таких вариантов осуществления перед введением и/или инкубацией клетки не отбирают на клетки, экспрессирующие CAR, или не обогащают клетками, экспрессирующими CAR.

[0096] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен способ очистки антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий: (а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из таких вариантов осуществления или конъюгатом по любому из таких вариантов осуществления, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и (b) выделение комплексов, содержащих

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0097] В некоторых из таких вариантов осуществления комплексы, содержащие антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выделяют путем разделения по аффинности. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности представляет собой разделение в магнитном поле. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности включает аффинную хроматографию.

[0098] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлен способ истощения клеток, включающий введение субъекту композиции, содержащей антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из таких вариантов осуществления, или конъюгат по любому из таких вариантов осуществления, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, причем субъекту вводят клетку, экспрессирующую CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0099] В некоторых из таких вариантов осуществления истощение происходит посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

[0100] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент содержит scFv. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент представляет собой scFv.

[0101] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

[0102] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером. В некоторых из таких вариантов осуществления гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

[0103] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

[0104] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером. В некоторых из таких вариантов осуществления гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

[0105] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено готовое изделие, содержащее антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с любым из таких вариантов осуществления или конъюгат в соответствии с любым из таких вариантов осуществления, и инструкции по применению антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и/или отбора из клеточной популяции сконструированных клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или обогащения такими клетками; и/или стимуляции исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0106] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании также представлено готовое изделие, содержащее: связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где указанный внеклеточный домен или его часть содержит целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент в соответствии с любым из таких вариантов осуществления или конъюгат в соответствии с любым из таких вариантов осуществления.

[0107] В некоторых из таких вариантов осуществления связывающий реагент представляет собой первый связывающий реагент, и изделие дополнительно содержит второй связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR или его часть. В некоторых из таких вариантов осуществления внеклеточные домены CAR или его части в первом и втором связывающих реагентах являются одинаковыми.

[0108] В некоторых из любых таких вариантов осуществления готовое изделие дополнительно содержит инструкции по применению связывающего реагента, необязательно первого и второго связывающих реагентов, для анализа образца на наличие или отсутствие молекулы, которая связывается со связывающим реагентом, с помощью иммуноанализа, где необязательно иммуноанализ представляет собой мостиковый или сэндвич-иммуноанализ, и где необязательно образец получен от субъекта, получившего клеточную терапию, включающую сконструированные клетки, содержащие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления связывающий реагент, необязательно первый и/или второй связывающий реагент, является меченным детектируемой меткой или способен генерировать детектируемый сигнал. В некоторых из таких вариантов осуществления один из первого и второго связывающих реагентов присоединен к твердой подложке или может быть присоединен к твердой подложке, и другой из первого и второго связывающих реагентов представляет собой детектируемую метку или способен генерировать детектируемый сигнал.

[0109] В некоторых из таких вариантов осуществления, готовое изделие

дополнительно содержит твердую подложку, на которой необязательно один из первого и второго связывающих реагентов непосредственно или опосредованно связан с биотином, и твердая подложка имеет поверхность, покрытую стрептавидином.

[0110] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент содержит scFv. В некоторых из таких вариантов осуществления одноцепочечный фрагмент представляет собой scFv.

[0111] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

[0112] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером. В некоторых из таких вариантов осуществления гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

[0113] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

[0114] В некоторых из таких вариантов осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером. В некоторых из таких вариантов осуществления гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0115] На фиг. 1 представлены результаты анализа, в котором анти-ID антитела оценивали на способность специфически связываться с сконструированными Т-клетками, содержащими анти-BCMA CAR 1, путем инкубации анти-ID антител с сконструированными Т-клетками, содержащими анти-BCMA CAR 1, с последующим определением уровня связывания.

[0116] На фиг. 2 представлены результаты анализа, в котором анти-ID антитела оценивали на способность специфически связываться с сконструированными Т-клетками, содержащими анти-BCMA CAR 1 или анти-BCMA CAR 2, путем инкубации анти-ID антител с сконструированными Т-клетками, содержащими анти-BCMA CAR 1 или анти-BCMA CAR 2, с последующим определением уровня связывания. Клетки Jurkat, экспрессирующие анти-BCMA CAR, также окрашивали слитым полипептидом рекомбинантного BCMA с Fc (растворимый человеческий BCMA, слитый на С-конце с Fc-областью IgG), который способен связываться как с анти-BCMA CAR 1, так и с анти-

BCMA CAR 2, использованным в качестве контроля.

[0117] На фиг. 3А и 3В представлены результаты анализа, в котором анти-ID антитела оценивали на способность специфически связываться с сконструированными Т-клетками, содержащими анти-BCMA CAR 1 или анти-BCMA CAR 2, путем инкубации анти-ID антител с сконструированными Т-клетками, содержащими анти-BCMA CAR 1 или анти-BCMA CAR 2, с последующим определением уровня связывания. Клетки также окрашивали рекомбинантным BCMA-Fc, который способен связываться как с анти-BCMA CAR 1, так и с анти-BCMA CAR 2, использованным в качестве контроля.

[0118] На фиг. 4А и 4В представлены результаты анализа, в котором оценивали способность рекомбинантный BCMA-Fc слитого полипептида блокировать связывание некоторых анти-ID антител (клоны 15, 19 и 23) с анти-BCMA CAR 2.

[0119] На фиг. 5А-5С представлены результаты анализа, в котором тестировали агонистическую активность некоторых анти-ID антител в отношении стимуляции Т-клеток, используя репортерную клеточную линию, которую инкубировали с растворимым анти-ID антителом или анти-ID антителом, иммобилизованным на планшете.

[0120] На фиг. 6 показана средняя кривая роста (средний % конфлюэнтности клеточного слоя) CAR Т-клеток, экспрессирующих анти-BCMA CAR 2, во время инкубации и стимуляции клоном 16 анти-ID антитела, иммобилизованном на планшете. Планки погрешностей представляют собой стандартную ошибку среднего значения.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0121] В настоящем описании представлены агенты, такие как антиидиотипические антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают компоненты анти-BCMA антитела (такие как компоненты анти-BCMA антитела, присутствующие в рекомбинантных рецепторах, включая химерные антигенные рецепторы). Также представлены применение и способы применения, а также композиции и готовые изделия, включающие такие агенты, в том числе для специфической идентификации, отбора и/или стимуляции, и/или активации клеток, которые экспрессируют или включают целевые антитела или их фрагменты, такие как анти-BCMA CAR Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела можно использовать для специфической идентификации и/или отбора различных анти-BCMA CAR, таких как CAR, связанных с клеточной поверхностью или экспрессируемых на ней, их также можно использовать для специфической активации клеток, экспрессирующих целевые CAR, например CAR Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления представлены антитела, специфичные к анти-BCMA антителу, обозначенному как целевое антитело 1, или полученному из него фрагменту антитела, включая антитела и CAR, содержащие переменные области, полученные из таких антител, и/или антителу, содержащему находящийся в нем идиотоп. В некоторых вариантах осуществления представлены антитела, специфичные к анти-BCMA антителу, обозначенному как целевое антитело 2, или полученному из него фрагменту, включая антитела и CAR, содержащие переменные области, полученные из таких антител, и/или антителу, содержащему

находящийся в нем идиотоп. В некоторых вариантах осуществления представлены антитела, специфичные как к анти-ВСМА антителу, обозначенному как целевое антитело 1, или полученному из него фрагменту антитела, так и к анти-ВСМА антителу, обозначенному как целевое антитело 2, или к полученному из него фрагменту антитела, включая антитела и CAR, содержащие переменные области, полученные из таких антител, и/или антителу, содержащему находящийся в нем идиотоп.

[0122] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые являются специфичными к анти-ВСМА антителу или полученному из него фрагменту антитела, включая анти-ВСМА антитела и CAR, содержащие переменные области, полученные из таких анти-ВСМА антител, и/или анти-ВСМА антителу, содержащему находящийся в нем идиотоп. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, специфичные к анти-ВСМА антителу, обозначенному как целевое антитело 1, или полученному из него фрагменту антитела, включая анти-ВСМА антитела и CAR, содержащие переменные области, полученные из таких анти-ВСМА антител, и/или анти-ВСМА антителу, содержащему находящийся в нем идиотоп. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, специфичные к анти-ВСМА антителу, обозначенному как целевое антитело 2, или полученному из него фрагменту антитела, включая анти-ВСМА антитела и CAR, содержащие переменные области, полученные из таких анти-ВСМА антител, и/или анти-ВСМА антителу, содержащему находящийся в нем идиотоп. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, специфичные к анти-ВСМА антителу, обозначенному как целевое антитело 1, или фрагменту антитела, полученному из него, и анти-ВСМА антителу, обозначенному как целевое антитело 2, или фрагменту антитела, полученному из него, включая анти-ВСМА антитела и CAR, содержащие переменные области, полученные из таких анти-ВСМА антител, и/или анти-ВСМА антителу, содержащему находящийся в нем идиотоп.

[0123] Представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты можно использовать в качестве реагента для различных целей, в том числе с учетом способности детектировать, опознавать или отбирать, или идентифицировать целевое антитело, присутствующее в рекомбинантном рецепторе (например, CAR); для стимуляции активности сконструированных клеток, которые содержат или экспрессируют рекомбинантный рецептор (например, CAR) с внеклеточным доменом, содержащим целевое антитело и внутриклеточный сигнальный домен; или для противодействия или блокирования связывания целевого антитела, например, присутствующего в рекомбинантном рецепторе, экспрессируемом сконструированной клеткой, с целевым антигеном.

[0124] В некоторых вариантах осуществления представлены применения и способы применения, а также композиции и готовые изделия, включающие такие антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, в том числе для

специфического детектирования, идентификации или отбора сконструированных клеток, которые экспрессируют или включают целевые антитела или их фрагменты как часть рекомбинантного рецептора (например, CAR), экспрессируемого такими клетками или находящегося на таких клетках, например, анти-BCMA CAR T-клетках. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты можно использовать для специфической идентификации и/или отбора различных анти-BCMA CAR, таких как CAR, связанных с клеточной поверхностью или экспрессируемых такими клетками.

[0125] В некоторых вариантах осуществления представлены применения и способы применения, а также композиции и готовые изделия, включающие такие антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, для возбуждения, стимуляции или активации сконструированных клеток, которые содержат или экспрессируют рекомбинантный рецептор (например, CAR), содержащий внеклеточный домен, содержащий целевое анти-BCMA антитело, и внутриклеточный сигнальный домен. В таких вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела и их антигенсвязывающие фрагменты включают антиидиотипические антитела и антигенсвязывающие фрагменты, связывание которых с целевым антителом или фрагментом, содержащимся в составе внеклеточного домена рекомбинантного рецептора (например, CAR), экспрессируемого сконструированной клеткой или находящегося на ее поверхности, приводит к агонистической активности, стимулируя или активируя сконструированную клетку. В некоторых вариантах осуществления связывание с целевым антителом, входящим в состав рекомбинантного рецептора, активирует сигнальный домен рекомбинантного рецептора, иницируя или опосредуя последующую передачу сигналов, приводящую к активации транскрипционных факторов или других сигнальных молекул в клетке, пролиферации сконструированной клетки, продуцированию цитокинов, проявлению цитотоксической активности или других эффекторных активностей. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела можно использовать для специфической стимуляции или активации клеток, экспрессирующих целевые CAR, таких как CAR T-клетки.

[0126] В некоторых аспектах представленные антиидиотипические антитела имеют преимущества по сравнению с обычными реагентами, используемыми для обнаружения, идентификации, манипулирования и/или воздействия и/или конструирования клеток, экспрессирующих CAR и, в частности, CAR, содержащий внеклеточный домен scFv анти-BCMA антитела или распознаваемый идиотип. В некоторых доступных методах детектирование наличия или отсутствия или количественного определения CAR или CAR-экспрессирующих клеток (и/или стимуляции или манипулирования CAR) в образце происходит путем оценки наличия или отсутствия или количества суррогатной молекулы, такой как молекула, включенная в конструкцию, кодирующую CAR и, таким образом, служащая косвенным или суррогатным маркером для его экспрессии. В некоторых доступных методах детектирование происходит с помощью реагента-дженерика антитела

и/или реагента, который не является специфичным к конкретному оцениваемому CAR, например, относительно других CAR, которые могут иметь аналогичные или идентичные домены, отличные от антигенсвязывающей области; например, такие антитела могут включать антивидовые антитела, распознающие спейсерные или другие домены видов, от которых был получен домен CAR, и/или антитела, распознающие конкретные компоненты, используемые в спейсерных областях мишени, а также другие химерные рецепторы. В некоторых доступных методах, предназначенных для детектирования наличия или отсутствия CAR, детектирование происходит с помощью агента, распознающего константную область CAR. В некоторых случаях реагенты к суррогатной молекуле или маркеру также могут не подходить для специфической стимуляции или индукции активации сконструированных клеток (например, CAR T-клеток) либо потому, что суррогатный маркер или молекула не содержит сигнального домена, либо потому, что сигнальный домен опосредует передачу сигналов через сигнальный путь, отличный от CAR. В некоторых доступных методах CAR клетки стимулируют с помощью обычных реагентов, таких как анти-CD3/CD28 распознающие агенты. В некоторых методах используется рекомбинантный лиганд CAR (например, BCMA-Fc). Такие методы в определенном контексте могут оказаться не вполне подходящими и/или иметь определенные ограничения. В некоторых случаях лиганды CAR, такие как BCMA, не всегда могут быть полностью эффективными, например, для использования в сложных панелях в случае проточной цитометрии или в случаях, когда необходима опосредованная агонистами стимуляция с использованием растворимых реагентов. В некоторых случаях лиганды CAR, такие как BCMA или BCMA-Fc, не всегда могут быть полностью эффективными, например, потому что аффинность лиганда к CAR или его формат, или структура могут быть не оптимальными для определенных применений, например, для использования в сложных панелях в случае проточной цитометрии или в случаях, когда необходима опосредованная агонистами стимуляция с использованием растворимых реагентов. Необходимы улучшенные методы и агенты, в том числе обеспечивающие повышенную чувствительность и/или селективность. В настоящем описании представлены варианты осуществления, отвечающие таким потребностям.

[0127] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела и антигенсвязывающие фрагменты позволяют решить одну или более из этих проблем, включая проблемы, связанные с низкой аффинностью связывания, ассоциированной с лигандами целевых антител, и/или неспецифическим связыванием, ассоциированным с реагентами-антителами, направленными на константные области целевых антител. Представленные антиидиотипические антитела включают антитела, которые обеспечивают реагент как с высокой аффинностью, так и специфичностью к целевому антителу или его антигенсвязывающему фрагменту. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела демонстрируют более высокую специфичность и аффинность связывания с целевыми антителами или антигенсвязывающими фрагментами, такими как анти-BCMA антитело, обозначенное как

целевое антитело 1, и/или анти-BCMA антитело, обозначенное как целевое антитело 2, по сравнению с BCMA-Fc и другими реагентами, доступными в настоящее время для детектирования или идентификации CAR.

[0128] В некоторых вариантах осуществления представленные способы и применения включают способы и применения *in vitro* или *ex vivo*, в том числе для детектирования или количественной оценки экспрессии сконструированными клетками рекомбинантного рецептора (например, CAR), содержащего целевое анти-BCMA антитело в составе внеклеточного антигенсвязывающего домена, или для оценки или мониторинга функциональной активности сконструированных клеток, экспрессирующих рекомбинантный рецептор (например, CAR). В некоторых вариантах осуществления представленные способы и применения включают способы и применения *in vivo*, включающие введение антиидиотипического антитела субъекту, которому вводили или будут вводить сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор (например, CAR) с внеклеточным доменом, в который включено целевое анти-BCMA антитело, в том числе способы детектирования таких сконструированных клеток у субъекта; для стимуляции или активации таких сконструированных клеток *in vivo* у субъекта; или, в некоторых случаях, для абляции или уничтожения сконструированных клеток *in vivo* у субъекта. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела и антигенсвязывающие фрагменты, представленные в настоящем описании, включают такие антитела и фрагменты, которые выбраны в качестве агонистов или антагонистов химерных рецепторов, содержащих целевые антитела или антигенсвязывающие фрагменты, что обеспечивает селективное детектирование, выделение, абляцию и/или истощение (например, уничтожение посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности, ADCC), и/или стимуляцию или активацию клеток с такими химерными рецепторами, связанными с этими клетками или экспрессируемыми на их поверхности. В настоящем описании представлены агонисты антиидиотипических антител, которые проявляют активность в отношении стимуляции, такой как активация CAR, содержащего внеклеточный связывающий домен, полученный из анти-BCMA антитела, обозначенного как целевое антитело 1 или целевое антитело 2. В настоящем описании представлены антиидиотипические антитела, которые проявляют антагонистическую активность, которая инактивирует CAR, содержащий внеклеточный связывающий домен, полученный из анти-BCMA антитела, обозначенного как целевое антитело 1 или целевое антитело 2. В некоторых аспектах такие антитела можно использовать в способах стимуляции и экспансии клеток, экспрессирующих специфический CAR, в том числе в процессах создания и получения CAR-экспрессирующих клеток.

[0129] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, представленные в настоящем описании, включают антитела и фрагменты, которые выбраны в качестве агонистов рекомбинантного рецептора, такого как CAR с внеклеточным доменом,

содержащим целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, что обеспечивает селективную стимуляцию или активацию клеток с такими рекомбинантными рецепторами (например, CAR), связанными с этими клетками или экспрессируемыми на их поверхности. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлены антиидиотипические антитела, которые являются агонистами, проявляющими активность в отношении стимуляции, такой как активация CAR, содержащего внеклеточный связывающий домен, происходящий от анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых аспектах такие антитела можно использовать в способах специфической стимуляции или активации клеток, экспрессирующих CAR. В конкретных вариантах осуществления рекомбинантный рецептор (например, CAR) содержит сигнальный домен, который при взаимодействии с агонистическим антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом способен индуцировать или активировать в сконструированных клетках один или более расположенных ниже сигнальных каскадов, что приводит к повышенной активации факторов транскрипции, изменению экспрессии эффекторных генов или активации или ингибированию целевого белка, событиям фосфорилирования или дефосфорилирования в клетках или проявлению одной или более эффекторных функций. Например, представленные рекомбинантные рецепторы, содержащие целевое анти-BCMA антитело, включают анти-BCMA CAR, которые содержат внутриклеточный домен с сигнальным доменом CD3-дзета и, в некоторых случаях, костимулирующий сигнальный домен (например, сигнальный домен 4-1BB). В некоторых вариантах осуществления связывание представленного агонистического антиидиотипического антитела или антигенсвязывающего фрагмента с CAR, экспрессируемым на Т-клетках, приводит к активации одного или более NF-κB, усилению экспрессии Nur77, индукции продуцирования воспалительных цитокинов (например, IFN-гамма, TNF-альфа), пролиферации Т-клеток и/или цитотоксической активности. Например, как показано в примерах в настоящем описании, некоторые антиидиотипические антитела или антигенсвязывающие фрагменты проявляют агонистическую активность в отношении стимуляции или активации CAR Т-клеток, содержащих целевой анти-BCMA антигенсвязывающий домен, включая способность индуцировать экспрессию Nur77 (например, основанную на экспрессии репортера в репортерном анализе), пролиферацию и/или продуцирование цитокинов. В некоторых вариантах осуществления способы стимуляции или активации являются зависимыми от рекомбинантного рецептора (например, CAR) или специфичными для такого рецептора. В некоторых вариантах осуществления способы стимуляции или активации сконструированных клеток, содержащих рекомбинантный рецептор (например, CAR), могут осуществляться *in vitro* или *ex vivo*, например, в способах специфической стимуляции и экспансии клеток, экспрессирующих CAR, в том числе в процессах создания и получения CAR-экспрессирующих клеток. В некоторых вариантах осуществления способы стимуляции или активации могут осуществляться *in vivo* в организме субъекта, которому ранее

вводили сконструированные клетки, содержащие рекомбинантный рецептор (например, CAR), например, для повторной активации или индукции экспансии сконструированных клеток *in vivo* в организме субъекта, например, когда у субъекта наблюдается или обнаружено пиковое количество сконструированных клеток или после него.

[0130] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, представленные в настоящем описании, включают антитела и фрагменты, которые можно использовать в способах индукции или уничтожения клеток у субъекта. В конкретных аспектах таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой антитело, содержащее Fc-область, например, представляет собой интактное полноразмерное антитело. Как правило, Fc-область отвечает за эффекторные функции посредством связывания Fc с активирующим Fc-рецептором (например, FcγRIII), таким как экспрессируемый на NK-клетках, который способен опосредовать антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC). В некоторых вариантах осуществления связывание целевого антитела рекомбинантного рецептора (например, CAR), экспрессируемого на сконструированных клетках, представленным антиидиотипическим антителом приводит к абляции и/или истощению сконструированных клеток *in vivo*, например, путем уничтожения, опосредованного антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичностью (ADCC). В некоторых вариантах осуществления такие способы или применения могут осуществляться *in vivo* после введения субъекту антиидиотипического антитела или антигенсвязывающего фрагмента, например, через некоторое время после введения субъекту сконструированных клеток. В некоторых вариантах осуществления представленное антиидиотипическое антитело можно вводить субъекту, когда субъекту больше не требуется активность сконструированных клеток (например, Т-клеток CAR), например, если у субъекта проявлен один или более признаков или симптомов тяжелой токсичности, которые не могут быть устранены другими противовоспалительными средствами или стероидами.

[0131] Также в настоящем описании представлены нуклеиновые кислоты, кодирующие представленные антиидиотипические антитела и их фрагменты, и клетки, такие как рекомбинантные клетки, экспрессирующие и продуцирующие эти антиидиотипические антитела и фрагменты. Также представлены способы получения и применения антиидиотипических антител и фрагментов, а также клеток, экспрессирующих или содержащих антиидиотипические антитела и фрагменты.

[0132] Все публикации, включая патентные документы, научные статьи и базы данных, упомянутые в настоящей заявке, полностью включены посредством ссылки для всех целей в той степени, как если бы каждая отдельная публикация была включена отдельно посредством ссылки. Если определение, приведенное в настоящем описании, противоречит или иным образом несовместимо с определением, изложенным в патентах, заявках, опубликованных заявках и других публикациях, которые включены в настоящее описание посредством ссылки, определение, приведенное в настоящем описании, имеет преимущественную силу над определением, которое включено в настоящее описание.

посредством ссылки.

[0133] Заголовки разделов, используемые в настоящем описании, предназначены только для целей организации и не должны быть истолкованы как ограничивающие описываемый объект изобретения.

I. АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА

[0134] В некоторых аспектах представлены связывающие молекулы, такие как антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты («анти-ID»), которые связывают или распознают компонент целевого анти-BCMA антитела. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела связывают или распознают более чем одно целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, например компонент на первом целевом анти-BCMA антителе или его антигенсвязывающем фрагменте и компонент на втором целевом анти-BCMA антителе или его антигенсвязывающем фрагменте.

[0135] В некоторых вариантах осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, как описано в опубликованной международной заявке РСТ № WO 2019/090003 или WO 2016/090320.

[0136] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой или является производным целевого антитела, упоминаемого в настоящем описании как «целевое антитело 1», или является его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела связывают или распознают целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий такие же CDR, что и целевое антитело 1. Целевое антитело 1 представляет собой анти-BCMA антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12. Целевое антитело 1 содержит определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (CDR-H1) с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:1, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:2, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:3; и определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:8, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:9, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 1 представляет собой одноцепочечный фрагмент, где VH-область и VL-область одноцепочечного фрагмента соединены гибким линкером, содержащим аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 1 представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), содержащий аминокислотную последовательность с SEQ

ID NO:13.

[0137] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, представляющее собой или являющееся производным целевого антитела, упоминаемого в настоящем описании как «целевое антитело 2», или является его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий такие же CDR, что и целевое антитело 2. Целевое антитело 2 содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и переменная область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26. Целевое антитело 2 содержит CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:15, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:16, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:17; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:22, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:24. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 2 представляет собой одноцепочечный фрагмент, где VH-область и VL-область одноцепочечного фрагмента соединены гибким линкером, содержащим аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 2 представляет собой scFv, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

[0138] В некоторых вариантах осуществления представленные антитела распознают первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12, и распознают второе целевое анти-BCMA антитело, которое содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела распознают первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:1, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:2, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:3; и определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:8, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:9, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:10, и распознают второе целевое анти-BCMA антитело, содержащее CDR-H1 с аминокислотной

последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:15, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:16, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:17; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:22, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:24. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела распознают первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13, и распознают второе целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

[0139] В некоторых вариантах осуществления представленные антитела распознают второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12, и распознают первое целевое анти-BCMA антитело, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела распознают второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое содержит CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:1, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:2, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:3; и определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (CDR-L1) с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:8, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:9, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:10, и распознают первое целевое анти-BCMA антитело, содержащее CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:15, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:16, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:17; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:22, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:24. В некоторых вариантах осуществления представленные антитела распознают второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13, и распознают первое целевое анти-BCMA антитело,

которое представляет собой scFv, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

[0140] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела включают антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают переменный домен (Fv), такой как одноцепочечный Fv (scFv), происходящий от целевого антитела 1 или целевого антитела Антитело 2. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела связывают или распознают конкретный эпитоп или область Fv, как правило эпитоп или область, содержащие одну или более определяющих комплементарность областей. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела связывают или распознают эпитоп или область, перекрывающуюся с паратопом Fv.

[0141] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела включают антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связывают переменный домен (Fv), такой как одноцепочечный Fv (scFv), происходящим от целевого антитела 1 или целевого антитела 2.

[0142] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела включают антитела, которые связывают или распознают компонент анти-BCMA, составляющий внеклеточный домен целевого химерного антигенного рецептора (CAR). В некоторых вариантах осуществления целевой CAR содержит антигенсвязывающую часть, которая содержит молекулу целевого антитела или антигенсвязывающий фрагмент или часть целевого антитела. В некоторых вариантах осуществления целевой CAR включает антигенсвязывающий домен, который представляет собой scFv, происходящий от цепей VH и VL целевого антитела. В некоторых вариантах осуществления представлено антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает анти-BCMA CAR, который содержит scFv, происходящий от целевого антитела. Приведенные в качестве примера признаки CAR описаны ниже. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают анти-BCMA CAR, содержащий scFv, происходящий от целевого антитела 1. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают анти-BCMA CAR, содержащий scFv, происходящий от целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают как анти-BCMA CAR, содержащий scFv, происходящий от целевого антитела 1, так и анти-BCMA CAR, содержащий scFv, происходящий от целевого антитела 2.

[0143] Термин «антитело» используется в настоящем описании в самом широком смысле и включает поликлональные и моноклональные антитела, в том числе интактные антитела и функциональные (антигенсвязывающие) фрагменты антител, включая фрагменты антигенсвязывающего фрагмента (Fab), F(ab')₂ фрагменты, Fab' фрагменты, Fv

фрагменты, фрагменты рекомбинантного IgG (rIgG), фрагменты одноцепочечных антител, включая одноцепочечные переменные фрагменты (scFv), и фрагменты однодоменных антител (например, sdAb, sdFv, нанотела). Этот термин включает генетически модифицированные и/или иным образом модифицированные формы иммуноглобулинов, такие как интратела, пептидные тела, химерные антитела, полностью человеческие антитела, гуманизированные антитела и гетероконъюгированные антитела, полиспецифические, например биспецифические, антитела, диатела, триатела и тетратела, тандемные ди-scFv, тандемный три-scFv. Если не указано иное, термин «антитело» следует понимать как включающий функциональные фрагменты антител. Этот термин также охватывает интактные или полноразмерные антитела, включая антитела любого класса или подкласса, включая IgG и его подклассы, IgM, IgE, IgA и IgD.

[0144] Термин «антиидиотипическое антитело» относится к антителу, включая его антигенсвязывающие фрагменты, которое распознает, нацелено на и/или связывает идиотоп антитела, такой как антигенсвязывающий фрагмент. Идиотопы антитела могут включать, но не обязательно ограничены, остатки в пределах одной или более определяющих комплементарность областей (CDR) антитела, переменные области антитела и/или неполные части или части таких переменных областей и/или таких CDR, и/или любую комбинацию вышеперечисленного. Может быть одна CDR или более, выбранные из группы, состоящей из CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3. Переменные области антитела могут представлять собой переменные области тяжелой цепи, переменные области легкой цепи или комбинацию переменных областей тяжелой цепи и переменных областей легкой цепи. Неполные фрагменты или части переменных областей тяжелой цепи и/или переменных областей легкой цепи антитела могут представлять собой фрагменты, включающие 2 или более, 5 или более или 10 или более смежных аминокислот, например, находится в диапазоне от примерно 2 до примерно 100, от примерно 5 до примерно 100, от примерно 10 до примерно 100, от примерно 2 до примерно 50, от примерно 5 до примерно 50 или от примерно 10 до примерно 50 смежных аминокислот в переменных областях тяжелой цепи или переменных областях легкой цепи антитела; причем идиотоп может включать несколько несмежных аминокислотных участков. Неполные фрагменты переменных областей тяжелой цепи и переменных областей легкой цепи антитела могут представлять собой фрагменты, включающие 2 или более, 5 или более или 10 или более смежных аминокислот, например, находится в диапазоне от примерно 2 до примерно 100, от примерно от 5 до примерно 100, от примерно 10 до примерно 100, от примерно 2 до примерно 50, от примерно 5 до примерно 50 или от примерно 10 до примерно 50 смежных аминокислот в переменных областях, и в некоторых вариантах осуществления содержат одну или более CDR или фрагментов CDR. Фрагменты CDR могут представлять собой последовательно расположенные или непоследовательно расположенные 2 или более или 5 или более аминокислот в CDR. Таким образом, идиотопы антитела могут состоять из от примерно 2 до примерно 100, от примерно 5 до примерно 100, от примерно 10 до

примерно 100, от примерно 2 до примерно 50, от примерно 5 до примерно 50 или от примерно 10 до примерно 50 смежных аминокислот, содержащих одну или более CDR или один или более фрагментов CDR в пределах вариабельных областей тяжелой цепи или вариабельных областей легкой цепи антитела. В другом варианте осуществления идиотопы могут представлять собой одну аминокислоту, расположенную в вариабельных областях антитела, например, сайтах CDR.

[0145] В некоторых вариантах осуществления идиотоп представляет собой любую одну антигенную детерминанту или эпитоп в вариабельной части антитела. В некоторых случаях он может перекрываться с фактическим антигенсвязывающим сайтом антитела, и в некоторых случаях он может включать последовательности вариабельной области, расположенные за пределами антигенсвязывающего участка антитела. В некоторых вариантах осуществления набор отдельных идиотопов антитела называется «идиотипом» такого антитела.

[0146] Термины «определяющая комплементарность область» и «CDR», синонимичные термину «гипервариабельная область» или «HVR», известны в данной области техники и относятся к несмежным последовательностям аминокислот в вариабельных областях антитела, которые придают антигену специфичность и/или аффинность связывания. Как правило, в каждой вариабельной области тяжелой цепи имеются три CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), и в каждой вариабельной области легкой цепи имеются три CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). В данной области техники известно, что «каркасные области» и «FR» относятся к не-CDR частям вариабельных областей тяжелой и легкой цепей. Как правило, в каждой полноразмерной вариабельной области тяжелой цепи имеются четыре FR (FR-H1, FR-H2, FR-H3 и FR-H4), и в каждой полноразмерной вариабельной области легкой цепи имеются четыре FR (FR-L1, FR-L2, FR-L3 и FR-L4).

[0147] Точные границы аминокислотной последовательности данного CDR или FR можно легко определить с помощью любой из нескольких хорошо известных схем, включая схемы, описанные Kabat et al. (1991), «Sequences of Proteins of Immunological Interest», 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (схема нумерации по Кабат), Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948 (схема нумерации по Чотиа), MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996), «Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography», J. Mol. Biol. 262, 732-745 (схема нумерации Контакт), Lefranc MP et al., «IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains», Dev Comp Immunol, 2003 Jan; 27(1): 55-77 (схема нумерации IMGT) и Honegger A and Plückthun A, «Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool», J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3): 657-70 (схема нумерации «Aho»).

[0148] Границы данной CDR или FR могут меняться в зависимости от схемы, используемой для идентификации. Например, схема нумерации по Кабат основана на структурных выравниваниях, тогда как схема нумерации по Чотиа основана на

структурной информации. Нумерация как по схеме Кабат, так и по схеме Чотиа основана на наиболее распространенных длинах последовательностей областей антител со вставками, указанными буквами вставок, например «30a», и делециями, которые появляются в некоторых антителах. В этих двух схемах определенные вставки и делеции («indel») размещены в разных положениях, что приводит к разнице в нумерации. Схема Контакт основана на анализе сложных кристаллических структур и во многом похожа на схему нумерации по Чотиа.

[0149] В приведенной ниже Таблице 1 приведены иллюстративные границы положений CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, определенные по схемам нумерации Кабат, Чотиа и Контакт, соответственно. Для CDR-H1 нумерация остатков указана с использованием схем нумерации Кабат и Чотиа. FR расположены между CDR, например с FR-L1, расположенной между CDR-L1 и CDR-L2, и так далее. Следует отметить, что, поскольку в показанной схеме нумерации по Кабат имеются вставки в H35A и H35B, положение конца петли CDR-H1 по Чотиа в случае нумерации согласно показанному соглашению нумерации по Кабат будет находиться в пределах между H32 и H34 в зависимости от длины петли.

Таблица 1

CDR	Кабат	Чотиа	Контакт
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (нумерация Кабат ¹)	H31--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
CDR-H1 (нумерация Чотиа ²)	H31--H35	H26--H32	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H93--H101

1 - Kabat et al. (1991), «Sequences of Proteins of Immunological Interest», 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948

[0150] Таким образом, если не указано иное, «CDR» или «определяющая комплементарность область» или отдельные указанные CDR (например, CDR-H1, CDR-H2) данного антитела или его области, такие как переменная область, охватывает любую (или конкретную) определяющую комплементарность область, определенную с помощью любой из вышеуказанных схем. Например, когда указано, что конкретная CDR (например, CDR-H3) содержит аминокислотную последовательность соответствующей CDR в данной аминокислотной последовательности V_H или V_L, подразумевается, что такая CDR имеет последовательность соответствующий CDR (например, CDR-H3) в пределах переменной

области, определенной с помощью любой из вышеуказанных схем. В некоторых вариантах осуществления указаны конкретные последовательности CDR.

[0151] Аналогичным образом, если не указано иное, FR или отдельная(ые) определенная(ые) FR (например, FR-H1, FR-H2) данного антитела или его области, такой как его переменная область, охватывают любую (или конкретную) каркасную область, определенную с помощью любой из известных схем. В некоторых случаях указана схема идентификации конкретной CDR, FR или нескольких FR или CDR, например CDR, определенной методом Кабат, Чотиа или Контакт. В других случаях приводится конкретная аминокислотная последовательность CDR или FR.

[0152] Термин «переменная область» или «переменный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи (V_H и V_L , соответственно) нативного антитела обычно имеют сходную структуру, при этом каждый домен содержит четыре консервативные каркасные области (FR) и три CDR. (См., например, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)). Одного домена V_H или V_L может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с помощью домена V_H или V_L из антитела, которое связывает антиген, чтобы осуществить скрининг библиотеки комплементарных доменов V_L или V_H , соответственно (см., например, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991)).

[0153] Представленные антитела включают фрагменты антител. «Фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, содержащей часть интактного антитела, которая связывает антиген, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают, без ограничения, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; диатела; линейные антитела; молекулы одноцепочечных антител (например, scFv); и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В конкретных вариантах осуществления антитела представляют собой фрагменты одноцепочечных антител, содержащие переменную область тяжелой цепи и/или переменную область легкой цепи, такие как scFv.

[0154] Однодоменные антитела представляют собой фрагменты антител, содержащие весь или часть переменного домена тяжелой цепи или весь или часть переменного домена легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой человеческое однодоменное антитело.

[0155] Фрагменты антител могут быть получены различными способами, включая, без ограничения, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой рекомбинантно продуцируемые фрагменты, такие как фрагменты, содержащие структуры, которые не встречаются в природе, например фрагменты с двумя или более областями или цепями антител, соединенными синтетическими линкерами, например пептидными линкерами, и/или те, которые не могут

быть получены ферментативным расщеплением природного интактного антитела. В некоторых аспектах фрагменты антител представляют собой scFv.

[0156] «Гуманизированное» антитело представляет собой антитело, в котором все или практически все аминокислотные остатки CDR происходят от CDR, отличных от человеческих, и все или практически все аминокислотные остатки каркасных областей (FR) происходят от человеческих FR. В некоторых вариантах осуществления гуманизированные формы отличного от человеческого антитела, например мышиног антитела, представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальные последовательности, полученные из отличного от человеческого иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления гуманизированные антитела представляют собой антитела не относящихся к человеку видов, имеющие одну или более определяющих комплементарность областей (CDR) из не относящихся к человеку видов и каркасную область (FR) из молекулы человеческого иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело необязательно может включать по меньшей мере часть константной области антитела, происходящую от человеческого антитела. «Гуманизированная форма» отличного от человеческого антитела относится к варианту отличного от человеческого антитела, которое подверглось гуманизации, как правило, для снижения иммуногенности у человека с сохранением специфичности и аффинности родительского отличного от человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR в гуманизированном антителе заменены соответствующими остатками из отличного от человеческого антитела (например, антитела, из которого получены остатки CDR), например, для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела. (См., например, Queen, патент США № 5,585,089 и Winter, патент США № 5,225,539). Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела могут быть получены методами рекомбинантной ДНК, известными в данной области.

[0157] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело представляет собой человеческий иммуноглобулин (реципиентное антитело), в котором остатки вариабельной области тяжелой цепи реципиента заменены остатками вариабельной области тяжелой цепи вида, отличного от человека (донорское антитело), такого как мышь, крыса, кролик или примат, не являющийся человеком, обладающего желаемой специфичностью, аффинностью и/или способностью. В некоторых случаях остатки FR человеческого иммуноглобулина заменены соответствующими остатками отличными от человеческих. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которых нет в реципиентном антителе или в донорском антителе. В некоторых вариантах осуществления последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие вариабельные области тяжелых цепей и вариабельные области легких цепей человека, изменены для замены одной или более последовательностей CDR человеческой (акцепторной) последовательности последовательностью, кодирующей соответствующую CDR в последовательности отличного от человеческого антитела (донорской

последовательности). В некоторых вариантах осуществления человеческая акцепторная последовательность может содержать FR, полученную из разных генов. В конкретных вариантах осуществления гуманизированное антитело может содержать практически все из по меньшей мере одного, и обычно двух переменных доменов, в которых все или практически все гиперпеременные петли соответствуют петлям отличного от человеческого иммуноглобулина, и все или практически все FR представляют собой последовательности человеческого иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело необязательно также будет содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, человеческого иммуноглобулина. Дополнительную информацию см., например, в Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); and Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). See also, e.g., Vaswani and Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurle and Gross, *Curr. Op. Biotech.* 5:428-433 (1994); и патентах США 6,982,321 и 7,087,409, которые включены в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлены гуманизированные антиидиотипические антитела.

[0158] В конкретных вариантах осуществления антитело, например, антиидиотипическое антитело, является гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления антитело гуманизировано любым подходящим известным способом. Например, в некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело может иметь один или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, который не является человеком. Эти отличные от человеческих аминокислотные остатки часто называют «импортными» остатками, которые обычно берут из «импортного» переменного домена. В конкретных вариантах осуществления гуманизация может быть выполнена, по существу, методом, разработанным Винтером с сотрудниками (Jones et al. (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann et al. (1988) *Nature* 332:323-327; Verhoeven et al. (1988) *Science* 239:1534-1536), например, путем замены последовательностей гиперпеременной области на соответствующие последовательности человеческого антитела. Соответственно, такие «гуманизированные» антитела представляют собой химерные антитела (патент США № 4816567), в которых существенно меньшая часть интактного человеческого переменного домена заменена соответствующей последовательностью вида, не относящегося к человеку. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело представляет собой человеческое антитело, в котором некоторые остатки гиперпеременной области и, возможно, некоторые остатки FR заменены остатками из аналогичных участков антител грызунов.

[0159] Последовательности, кодирующие полноразмерные антитела, могут быть впоследствии получены путем присоединения представленных последовательностей переменной области тяжелой и переменной легкой цепи к человеческим константным областям тяжелой цепи и легкой цепи. Подходящие последовательности человеческой

константной легкой цепи включают последовательности константной легкой каппа- и лямбда-цепей. Подходящие человеческие последовательности константной тяжелой цепи включают IgG1, IgG2 и последовательности, кодирующие мутанты IgG1, которые обладают иммуностимулирующими свойствами. Такие мутанты могут иметь сниженную способность к активации комплемент-зависимой и/или антитело-зависимой клеточной цитотоксичности и описаны в патенте США № 5,624,821; WO 99/58572, патенте США 6,737,056. Подходящая константная тяжелая цепь также включает IgG1, содержащий замены E233P, L234V, L235A, A327G, A330S, P331S и делецию остатка 236. В другом варианте осуществления полноразмерное антитело содержит последовательность IgA, IgD, IgE, IgM, IgY или IgW.

[0160] Подходящие человеческие донорские последовательности можно определить путем сравнения последовательностей пептидных последовательностей, кодируемых мышинными донорскими последовательностями, с группой человеческих последовательностей, предпочтительно с последовательностями, кодируемыми генами иммуноглобулина зародышевой линии человека или генами зрелого антитела. В качестве акцепторной последовательности для процесса гуманизации может служить человеческая последовательность с высокой степенью гомологии, предпочтительно с определенной наивысшей гомологией.

[0161] В дополнение к замене человеческих CDR мышинными CDR возможны дальнейшие манипуляции с человеческой донорской последовательностью для получения последовательности, кодирующей гуманизированное антитело с оптимизированными свойствами (такими как аффинность антигена).

[0162] Кроме того, измененные последовательности переменного домена человеческого акцепторного антитела также могут быть модифицированы для кодирования одной или более аминокислот (в соответствии с системой нумерации по Кабат) в положениях 4, 35, 38, 43, 44, 46, 58, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 73, 85, 98 легкой переменной области и положениях 2, 4, 36, 39, 43, 45, 69, 70, 74, 75, 76, 78, 92 тяжелой переменной области, соответствующей отличной от человеческой донорской последовательности (Carter and Presta, патент США № 6407213).

[0163] В конкретных вариантах осуществления как правило желательно, чтобы антитела были гуманизированы с сохранением высокой аффинности к антигену и других благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели в некоторых вариантах осуществления гуманизированные антитела получают в процессе анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с помощью трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов широко доступны и известны специалистам в данной области. Имеются компьютерные программы, которые визуализируют и отображают возможные трехмерные конформационные структуры выбранных последовательностей-кандидатов иммуноглобулина. Изучение изображений позволяет выполнить анализ вероятной роли остатков в функционировании последовательности-

кандидата иммуноглобулина, т.е. анализ остатков, влияющих на способность кандидата иммуноглобулина связываться со своим антигеном. Таким образом, из реципиентной последовательности могут быть выбраны остатки FR и объединены с импортируемой последовательностью с получением желаемой характеристики антитела, такой как повышенная аффинность к целевому(ым) антигену(ам). Как правило, остатки гипервариабельной области оказывают непосредственное и наиболее существенное влияние на связывание антигена.

[0164] В конкретных вариантах осуществления выбор человеческих переменных доменов как легких, так и тяжелых цепей для использования при получении гуманизированных антител может иметь важное значение для снижения антигенности. В соответствии с так называемым методом «наилучшего соответствия» последовательность переменного домена антитела грызунов подвергают скринингу в отношении всей библиотекой известных человеческих последовательностей переменных доменов. Затем в качестве человеческого каркаса для гуманизированного антитела принимают человеческую последовательность, наиболее близкую к последовательности грызуна. См., например, Sims et al. (1993) *J. Immunol.* 151:2296; Chothia et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901. В другом методе используется конкретный каркас, полученный из консенсусной последовательности всех человеческих антител конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Один и тот же каркас можно использовать для нескольких различных гуманизированных антител. См., например, Carter et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; Presta et al. (1993) *J. Immunol.*, 151:2623.

[0165] Представленные антитела включают человеческие антитела. «Человеческое антитело» представляет собой антитело с аминокислотной последовательностью, соответствующей аминокислотной последовательности антитела, продуцируемого человеком или человеческой клеткой, или отличным от человеческого источником, в котором используются репертуары человеческих антител или другие последовательности, кодирующие человеческие антитела, включая библиотеки человеческих антител. Термин исключает гуманизированные формы отличных от человеческих антител, содержащих отличные от человеческих антигенсвязывающие области, такие как те, в которых все или практически все CDR являются отличными от человеческих.

[0166] Человеческие антитела могут быть получены путем введения иммуногена трансгенному животному, которое было модифицировано для продуцирования интактных человеческих антител или интактных антител с человеческими переменными областями в ответ на антигенную стимуляцию. Такие животные обычно содержат все или часть локусов человеческих иммуноглобулинов, которые заменяют эндогенные локусы иммуноглобулинов, или которые присутствуют внехромосомно или случайным образом интегрированы в хромосомы животного. У таких трансгенных животных локусы эндогенного иммуноглобулина обычно инактивированы. Человеческие антитела также могут быть получены из библиотек человеческих антител, включая библиотеки фагового дисплея и бесклеточные библиотеки, содержащие кодирующие антитела

последовательности, происходящие от человеческого репертуара.

[0167] Представленные антитела включают моноклональные антитела, включая фрагменты моноклональных антител. Термин «моноклональное антитело», в контексте настоящего описания, относится к антителу, полученному из популяции или в популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных вариантов, содержащих мутации, встречающиеся в природе или возникающие при получении препарата моноклональных антител; такие варианты обычно присутствуют в незначительных количествах. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных эпитопов, каждое моноклональное антитело в препарате моноклональных антител направлено против одного эпитопа на антигене. Этот термин не следует толковать как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Моноклональное антитело может быть получено различными способами, включая, без ограничения, получение из гибридомы, методы рекомбинантной ДНК, фаговый дисплей и другие методы отображения антител.

А. Анти-ID антитела к целевому антителу 2

[0168] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое является целевым антителом 2 или получено из него или является его антигенсвязывающим фрагментом, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые специфически связывают целевое анти-BCMA антитело, которое является целевым антителом 2 или получено из него. Примеры антител или антигенсвязывающих фрагментов представлены ниже.

[0169] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и VL-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:25, и VL-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:26.

[0170] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и VL-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:25, и VL-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:26.

[0171] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают scFv, который включает аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:27.

[0172] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv, который включает аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:27.

[0173] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:15, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:16, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:17; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:22, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:24.

[0174] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:15, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:16, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:17; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:22, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23, и CDR-L3 с аминокислотной

последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:24.

[0175] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое имеет тот же идиотип, что и целевое антитело 2.

[0176] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела конкурируют за связывание целевого антитела 2 с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое включает VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела конкурируют за связывание целевого антитела 2 с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое включает VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

[0177] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 2.

[0178] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, который содержится в CAR. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, содержащегося в CAR. В некоторых вариантах осуществления CAR является любым, как описано в Разделе II.

[0179] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, последовательность которой по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности VH-области, приведенной в SEQ ID NO:84, например идентична на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%; и VL-область, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности VL-области, приведенной в SEQ ID NO:85, например, идентична на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%.

[0180] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или

их антигенсвязывающие фрагменты включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:77, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:78, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:79, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:80, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83.

[0181] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности VH-области, приведенной в SEQ ID NO:84; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности VL-области, приведенной в SEQ ID NO:85.

[0182] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:84. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:84. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:84.

[0183] В некоторых из таких вариантов осуществления VL-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%,

98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:85.

[0184] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:84, и VL-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:84, и VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:85. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91% 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:84, и VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:85.

[0185] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84. В некоторых из таких вариантов осуществления VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85. В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85.

[0186] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2 или его антигенсвязывающему фрагменту, представляет собой фрагмент одноцепочечного антитела, такой как scFv или диатело. В некоторых вариантах осуществления одноцепочечное антитело включает один или более линкеров, соединяющих два домена или области антитела, такие как переменная область тяжелой цепи (VH) и переменная область легкой цепи (VL). Линкер обычно

представляет собой пептидный линкер, например гибкий и/или растворимый пептидный линкер. Линкеры включают линкеры, богатые глицином и серином и/или в некоторых случаях треонином. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают заряженные остатки, такие как лизин и/или глутамат, которые могут улучшать растворимость. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают один или более пролинов.

[0187] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления анти-ID может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, такую как один или более доменов константной области. В некоторых вариантах осуществления константные области включают константную область легкой цепи (CL) и/или константную область 1 тяжелой цепи (CH1). В некоторых вариантах осуществления анти-ID включает домен CH2 и/или CH3, такой как Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область человеческого IgG, такого как IgG1 или IgG4.

[0188] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86, и константную область легкой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи, которая на по меньшей мере 90% идентична последовательности константной области тяжелой цепи, содержащейся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86, и константную область легкой цепи, которая на по меньшей мере 90% идентична последовательности константной области легкой цепи, содержащейся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87.

[0189] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87.

[0190] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:87.

[0191] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности VH-области, приведенной в SEQ ID NO:114, например идентична на

по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%; и VL-область, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности VL-области, приведенной в SEQ ID NO:115, например, идентична на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%.

[0192] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:106; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:113. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:107, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:108, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:106; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:113. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:109, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:110, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:106; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:113.

[0193] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности VH-области, приведенной в SEQ ID NO:114; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности VL-области, приведенной в SEQ ID NO:115.

[0194] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:114. В некоторых вариантах

98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:115.

[0197] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114. В некоторых из таких вариантов осуществления VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115. В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

[0198] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2 или его антигенсвязывающему фрагменту, представляет собой фрагмент одноцепочечного антитела, такой как scFv или диатело. В некоторых вариантах осуществления одноцепочечное антитело включает один или более линкеров, соединяющих два домена или области антитела, такие как переменная область тяжелой цепи (VH) и переменная область легкой цепи (VL). Линкер обычно представляет собой пептидный линкер, например гибкий и/или растворимый пептидный линкер. Линкеры включают линкеры, богатые глицином и серином и/или в некоторых случаях треонином. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают заряженные остатки, такие как лизин и/или глутамат, которые могут улучшать растворимость. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают один или более пролинов.

[0199] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления анти-ID может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, такую как один или более доменов константной области. В некоторых вариантах осуществления константные области включают константную область легкой цепи (CL) и/или константную область 1 тяжелой цепи (CH1). В некоторых вариантах осуществления анти-ID включает домен CH2 и/или CH3, такой как Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область человеческого IgG, такого как IgG1 или IgG4.

[0200] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116, и константную область легкой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности константной области тяжелой цепи, содержащейся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116, и константную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности константной области легкой цепи, содержащейся в аминокислотной

последовательности SEQ ID NO:117.

[0201] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117.

[0202] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:117.

[0203] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент выбирают из группы, состоящей из фрагментов антигенсвязывающих фрагментов (Fab), F(ab')₂-фрагментов, Fab'-фрагментов, Fv-фрагментов, одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv) или одинодоменного антитела.

[0204] Соответственно, представлены фрагменты одноцепочечных антител, такие как scFv и диатела, в частности, фрагменты человеческих одноцепочечных антител, обычно содержащие линкер(ы), соединяющий(ие) два домена или области антиидиотипического антитела, такие как домены V_H и V_L. Линкер обычно представляет собой пептидный линкер, например, гибкий и/или растворимый пептидный линкер, такой как линкер, богатый глицином и серином.

[0205] В некоторых аспектах линкеры, богатые глицином и серином (и/или треонином), включают по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% такой(их) аминокислоты(аминокислот). В некоторых вариантах осуществления они включают по меньшей мере или примерно 50%, 55%, 60%, 70% или 75% глицина, серина и/или треонина. В некоторых вариантах осуществления линкер практически полностью состоит из глицина, серина и/или треонина. Линкеры обычно имеют в длину от примерно 5 до примерно 50 аминокислот, обычно от примерно 10 до примерно 30, например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислот, а в некоторых примерах от 10 до 25 аминокислот.

[0206] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела включают выделенные антитела. В некоторых вариантах осуществления анти-ID является гуманизированным, рекомбинантным и/или моноклональным. В некоторых вариантах осуществления анти-ID является человеческим.

[0207] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, является гуманизированным. В конкретных вариантах осуществления все или практически все аминокислотные остатки CDR гуманизированного антиидиотипического антитела, специфичного к целевому антителу 2,

происходят от отличающихся от человеческих CDR целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, включает по меньшей мере часть константной области антитела, полученную из человеческого антитела.

[0208] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, включает человеческий иммуноглобулин (антитело-реципиент), в котором остатки вариабельной области тяжелой цепи реципиента заменены остатками вариабельной области тяжелой цепи отличного от человеческого антиидиотипического антитела, специфичного к целевому антителу 2. В некоторых случаях остатки FR человеческого иммуноглобулина заменены соответствующими отличными от человеческих остатками. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит FR, происходящие от разных генов. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, содержит по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, человеческого иммуноглобулина.

[0209] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, содержит измененные последовательности вариабельного домена акцепторного человеческого антитела, которые были изменены для кодирования одного или более аминокислотных остатков в положениях 4, 35, 38, 43, 44, 46, 58, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 73, 85, 98 (Кабат) вариабельной области легкой цепи и положениях 2, 4, 36, 39, 43, 45, 69, 70, 74, 75, 76, 78, 92 (Кабат) вариабельной области тяжелой цепи соответствующей отличной от человеческой донорской последовательности.

[0210] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, является гуманизированным. В конкретных вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, содержит одну или более из областей CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, специфичного к целевому антителу 2. В некоторых вариантах осуществления некоторые или все области CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 содержат одну или более аминокислотных модификации. В некоторых вариантах осуществления модификации заменяют отличный от человеческого аминокислотный остаток человеческим остатком. В конкретных вариантах осуществления одна или более из CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 встроены в FR-области человеческого антитела. В конкретных вариантах осуществления CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела представляют собой CDR VH- и VL-областей с аминокислотными последовательностями, приведенными в SEQ ID NO:84 и 85, соответственно. В конкретных вариантах осуществления CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от

человеческого антиидиотипического антитела представляют собой CDR VH- и VL-областей с аминокислотными последовательностями, приведенными в SEQ ID NO:114 и 115, соответственно. В некоторых вариантах осуществления все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 антиидиотипического антитела, специфичного к целевому антителу 2, встроены в FR человеческого антитела. В конкретных вариантах осуществления области CDR и FR представляют собой области, идентифицированные по схемам Кабат, Чотиа, AbM и/или Контакт.

[0211] В конкретных вариантах осуществления одна или более, или все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, специфичного к целевому антителу 2, вставлены в каркасные области человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело представляет собой антитело IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. В конкретных вариантах осуществления человеческое антитело представляет собой один из подклассов человеческих IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, например, человеческого IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2. В некоторых вариантах осуществления одна или более, или все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, специфичного к целевому антителу 2, вставлены в каркасную область антигенсвязывающей области, которая получена из и/или происходит от человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент получен из и/или происходит от человеческого IgA, IgD, IgE, IgG и IgM антитела. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов человеческих иммуноглобулинов хорошо известны и описаны в общем виде, например, в Abbas et al. Cellular and Mol. Immunology, 4th ed. (WB Saunders, Co., 2000). В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может быть частью более крупной слитой молекулы, образованной посредством ковалентной или нековалентной связи человеческого антитела с одним или более другими белками или пептидами.

[0212] В некоторых вариантах осуществления одна или более, или все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, специфичного к целевому антителу 2, вставлены в каркасные области человеческого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего Fc-область полностью или ее часть. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 2, содержит Fc-область полностью или ее часть. В некоторых вариантах осуществления Fc-область имеет одну или более модификаций, таких как аминокислотная модификация (например, замена, вставка или делеция) в одном или более аминокислотных положениях. Такие модификации могут быть сделаны, например, для улучшения времени полужизни, изменения связывания с одним или более типами Fc-рецепторов и/или изменения эффекторных функций. В некоторых вариантах осуществления модифицированные Fc-области имеют измененное (например, сниженное) связывание с Fc α R по сравнению со

связыванием немодифицированной Fc-области. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело содержит всю или часть модифицированной Fc-области с измененным (например, сниженным) связыванием с Fc-рецептором относительно связывания немодифицированной Fc-области. Неограничивающие примеры модификаций Fc, которые изменяют ее связывание с Fc-рецепторами, описаны, например, в патентах США №№ 7,217,797 и 7,732,570; и заявках на патент США 2010/0143254 и 2010/0143254.

[0213] В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации (K_D) и/или скорость диссоциации (k_{off}) любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, ниже, чем у других реагентов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации и/или скорость диссоциации ниже, чем у ВСМА-Fc. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации и скорость диссоциации ниже, чем у ВСМА-Fc. В некоторых аспектах более низкая константа диссоциации обеспечивает более сильное связывание представленными антиидиотипическими антителами или их антигенсвязывающими фрагментами целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR. В некоторых аспектах более низкая скорость диссоциации обеспечивает более длительное связывание представленными антиидиотипическими антителами или их антигенсвязывающими фрагментами целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR. Таким образом, в некоторых аспектах детектирование, выделение и стимуляция целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR улучшаются за счет использования представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов по сравнению с использованием других реагентов (например, ВСМА-Fc). Например, использование представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов может обеспечить стабильное связывание целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR, тем самым улучшая детектирование и выделение этих мишеней. Аналогично, такое использование может обеспечить более постоянную стимуляцию указанных CAR и клеток, например Т-клеток, сконструированных для их экспрессии.

[0214] В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания (EC_{50}) и/или константа диссоциации любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, например, находится в диапазоне от примерно 1 нМ до или примерно 15 нМ, например, от примерно 5 до примерно 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления EC_{50} любого из представленных

антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ до или примерно до 15 нМ или, например, от примерно 5 до примерно 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации любого из предоставленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ до или примерно до 15 нМ или, например, от примерно 5 нМ до примерно 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления измеренная, например, с помощью радиоиммуноанализа (RIA) степень связывания любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, с компонентом, не относящимся к целевому анти-BCMA компоненту, меньше чем, составляет или составляет примерно 10% от связывания антитела с целевым анти-BCMA компонентом. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет.

[0215] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, когда находится в растворенной форме. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент и содержат VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115, являются агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, когда находятся в растворенной форме.

[0216] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, не блокируется при воздействии растворимого BCMA или BCMA-Fc. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает

целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент и содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:84, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:85, не блокируется при воздействии растворимого ВСМА или ВСМА-Fc.

[0217] Также представлены нуклеиновые кислоты, кодирующие представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент. Представленные нуклеиновые кислоты содержат такие, которые кодируют раскрытые в настоящем описании антиидиотипические антитела. Нуклеиновые кислоты могут включать природные и/или не встречающиеся в природе нуклеотиды и основания, например, включающие скелетные модификации.

[0218] В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи, содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую VH-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:90, и последовательность нуклеотидов, кодирующую VL-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:91. В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи, содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую тяжелую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:88, и последовательность нуклеотидов, кодирующую легкую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ NO: 89.

[0219] В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи, содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую VH-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:120, и последовательность нуклеотидов, кодирующую VL-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:121. В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи, содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую тяжелую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:118, и последовательность нуклеотидов, кодирующую легкую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:119.

[0220] Также представлены векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, клетки-хозяева, содержащие векторы, например, для продуцирования антител. Также представлены способы получения антител. В дополнительном варианте осуществления представлены один или более векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такую нуклеиновую кислоту. В дополнительном варианте осуществления представлена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В одном из таких вариантов осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована): (1) вектор,

содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела. В некоторых вариантах осуществления представлен способ получения антиидиотипического антитела, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, как указано выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и необязательно выделение антитела из клетки-хозяина (или среды для культивирования клеток-хозяев).

[0221] Примеры нуклеиновых кислот и векторов включают те, которые имеют последовательности, приведенные в одной или более из SEQ ID NO:88-91 и 118-121, и их части, кодирующие CDR, а также последовательности, являющиеся идентичными на по меньшей мере или примерно 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%. Нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, содержащую V_L , и/или аминокислотную последовательность, содержащую V_H антиидиотипического антитела (например, легкие и/или тяжелые цепи антитела).

В. Анти-ID антитела к целевому антителу 1 и/или целевому антителу 2

[0222] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают (1) целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 1 или представляет собой его антигенсвязывающий фрагмент, как описано выше, и/или (2) целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 2 или представляет собой его антигенсвязывающий фрагмент, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают (1) целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 1 или представляет собой его антигенсвязывающий фрагмент, как описано выше, и (2) целевое анти-BCMA антитело, которое является или получено из целевого антитела 2 или представляет собой его антигенсвязывающий фрагмент, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают (1) целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 1 или представляет собой его антигенсвязывающий фрагмент, как описано выше, или (2) целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 2 или представляет собой его антигенсвязывающий фрагмент, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое представляет собой или получено из целевого антитела 1, в большей степени, чем целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое представляет собой или получено из целевого

антитела 2. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают целевое анти-ВСМА антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое представляет собой или получено из целевого антитела 2, в большей степени, чем целевое анти-ВСМА антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое представляет собой или получено из целевого антитела 1. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые связывают или распознают более одного целевого анти-ВСМА антитела, например, два разных анти-ВСМА антитела, таких как целевое антитело 1 и целевое антитело 2. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые специфически связывают целевое анти-ВСМА антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 1, и специфически связывают целевое анти-ВСМА антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела, которые специфически связывают целевое анти-ВСМА антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 1, или специфически связывают целевое анти-ВСМА антитело, которое представляет собой или получено из целевого антитела 2. Примеры антител или их антигенсвязывающих фрагментов представлены ниже.

[0223] В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 1 упоминается как первое целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 2 упоминается как первое целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 1 упоминается как второе целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 2 упоминается как второе целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело 1 упоминается как первое целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и целевое антитело 2 упоминается как второе целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0224] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11, и VL-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12; и связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает область VH, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и VL-области, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:11, и VL-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:12; или связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:25, и VL-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:26.

[0227] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11, и VL-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12; или связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и VL-область, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:11, и VL-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:12; или связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает VH-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:25, и VL-область с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:26.

[0228] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают scFv, который включает аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13; и связывают или распознают scFv, который включает аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:13; и связывают или распознают scFv с аминокислотной

последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:27.

[0229] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv, включающий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13; и связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv, включающий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:13; и связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:27.

[0230] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают scFv, включающий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13; или связывают или распознают scFv, включающий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:13; и связывают или распознают scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:27.

[0231] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv, включающий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13; или связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv, включающий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:27. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:13; и связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело, которое представляет собой scFv с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:27.

последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:8, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:9, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:10; или связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:15, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:16, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:17; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:22, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23. SEQ ID NO:24.

[0235] В некоторых вариантах осуществления предоставленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:1, и CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:2, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:3; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:8, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:9, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:10; или связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое включает CDR-H1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:15, CDR-H2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:16, и CDR-H3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:17; и CDR-L1 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:22, CDR-L2 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:23, и CDR-L3 с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO:24.

[0236] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое имеет тот же идиотип, что и целевое антитело 1; и связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое имеет тот же идиотип, что и целевое антитело 2. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое имеет тот же идиотип что и целевое антитело 1; или связывают или распознают антитело его антигенсвязывающий фрагмент, которое имеет тот же идиотип, что и целевое антитело 2.

[0237] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое имеет тот же идиотип, что и целевое антитело 1; и связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое имеет тот же идиотип, что и целевое антитело 2.

NO:115.

[0242] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 1; и связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 1; или связывают или распознают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 2.

[0243] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 1; и связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий его фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 1; или связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за связывание целевого антитела 2.

[0244] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 1, которое содержится в CAR; и связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, которое содержится в CAR. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 1, которое содержится в CAR; или связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, которое содержится в CAR.

[0245] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 1, содержащегося в CAR; и связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, содержащегося в CAR. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 1, содержащегося в CAR; или связывают или распознают антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, содержащегося в CAR. В некоторых вариантах осуществления CAR является любым, как описано в разделе II.

[0246] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область с последовательностью, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной

последовательности VH-области, приведенной в SEQ ID NO:38, например идентична на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%; и область VL с последовательностью, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности VL-области, приведенной в SEQ ID NO:39, например, идентична на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. В некоторых из любых таких вариантов осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38. В некоторых из любых таких вариантов осуществления VL-область содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:39. В некоторых из любых таких вариантов осуществления VH-область содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:39.

[0247] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:31, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:32, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:33, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:34, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37.

[0248] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности VH-области, приведенной в SEQ ID NO:38; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно

аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности VL-области, приведенной в SEQ ID NO:39.

[0249] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:38. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:38.

[0250] В некоторых из таких вариантов осуществления VL-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:39. В некоторых вариантах осуществления VL-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:39.

[0251] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична FR1, FR2, FR3 и/или FR4 аминокислотной последовательности, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:38, и VL-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4 с последовательностью, которая на по меньшей мере 90% идентична FR1, FR2, FR3 и/или FR4 аминокислотной последовательности, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:39. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:38, и VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:39. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91% 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной

в SEQ ID NO:38, и VL-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:39.

[0252] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38. В некоторых из таких вариантов осуществления VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39. В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39.

[0253] В некоторых из таких вариантов осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37; VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38; VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39; тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41.

[0254] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент и целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, представляет собой фрагмент одноцепочечного антитела, такой как scFv или диатело. В некоторых вариантах осуществления одноцепочечное антитело включает один или более линкеров, соединяющих два домена или области антитела, такие как переменная область тяжелой цепи (VH) и переменная область легкой цепи (VL). Линкер обычно представляет собой пептидный линкер, например гибкий и/или растворимый пептидный линкер. Линкеры включают линкеры, богатые глицином и серином и/или в некоторых случаях треонином. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают заряженные остатки, такие как лизин и/или глутамат, которые могут улучшать растворимость. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают один или более пролинов.

[0255] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления анти-ID может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, такую как один или более доменов константной области. В

некоторых вариантах осуществления константные области включают константную область легкой цепи (CL) и/или константную область 1 тяжелой цепи (CH1). В некоторых вариантах осуществления анти-ID включает домен CH2 и/или CH3, такой как Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область человеческого IgG, такого как IgG1 или IgG4.

[0256] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40, и константную область легкой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи с последовательностью, которая на по меньшей мере 90% идентична константной области тяжелой цепи, содержащейся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40, и константную область легкой цепи с последовательностью, которая на по меньшей мере 90% идентична константной области легкой цепи, содержащейся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41.

[0257] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41.

[0258] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41.

[0259] Также представлены нуклеиновые кислоты, кодирующие представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают целевое антитело и целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты. Представленные нуклеиновые кислоты включают такие, которые кодируют раскрытые в настоящем описании антиидиотипические антитела. Нуклеиновые кислоты могут включать нуклеиновые кислоты, содержащие природные и/или не встречающиеся в природе нуклеотиды и основания, например, включающие скелетные модификации. В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи, содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую VH-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:48, и последовательность нуклеотидов, кодирующую VL-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:49. В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи,

содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую тяжелую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:42, и последовательность нуклеотидов, кодирующую легкую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:43.

[0260] Также представлены векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, клетки-хозяева, содержащие векторы, например, для продуцирования антител. Также представлены способы получения антител. В дополнительном варианте осуществления представлен один или более векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такую нуклеиновую кислоту. В дополнительном варианте осуществления представлена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В одном из таких вариантов осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела. В некоторых вариантах осуществления представлен способ получения антиидиотипического антитела, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, как указано выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и необязательно выделение антитела из клетки-хозяина (или среды для культивирования клеток-хозяев).

[0261] Примеры нуклеиновых кислот и векторов включают такие, которые имеют последовательности, приведенные в одной или более из SEQ ID NO:42, 43, 48 и 49, и их части, кодирующие CDR, а также последовательности, являющиеся идентичными на по меньшей мере или примерно 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%. Нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, содержащую V_L , и/или аминокислотную последовательность, содержащую V_H антиидиотипического антитела (например, легкие и/или тяжелые цепи антитела).

[0262] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают V_H -область, содержащую последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности V_H -области, приведенной в SEQ ID NO:62, например, идентична на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%; и V_L -область, содержащую последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности V_L -области, приведенной в SEQ ID NO:63, например, идентична на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%.

[0263] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают V_H -область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ

ID NO:52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:54; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:61. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:55, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:56, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:54; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:61. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты включают VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:57, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:58, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:54; и VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:61.

[0264] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности области VH, приведенной в SEQ ID NO:62; и CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности VL-области, приведенной в SEQ ID NO:63.

[0265] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:62. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:62. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, последовательность которой на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:62.

[0266] В некоторых из таких вариантов осуществления VL-область содержит каркасную область 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:63.

[0267] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:62, и VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 90% идентична FR1, FR2, FR3 и/или FR4 аминокислотной последовательности, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:62, и VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и/или FR4, которая на по меньшей мере 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и/или FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:63. В некоторых вариантах осуществления VH-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91% 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:62, и VL-область содержит последовательность каркасной области 1 (FR1), FR2, FR3 и FR4, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 98%, 99% идентична аминокислотной последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, соответственно, приведенной в SEQ ID NO:63.

[0268] В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62. В некоторых из таких вариантов осуществления VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63. В некоторых из таких вариантов осуществления VH-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62, и VL-область имеет аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63.

[0269] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, специфичное к целевому антителу 1 или его антигенсвязывающему фрагменту, представляет собой фрагмент одноцепочечного антитела, такой как scFv или диатело. В некоторых вариантах осуществления одноцепочечное антитело включает один или более линкеров, соединяющих два домена или области антитела, такие как переменная область тяжелой цепи (VH) и переменная область легкой цепи (VL). Линкер обычно представляет собой пептидный линкер, например гибкий и/или растворимый пептидный линкер. Линкеры включают линкеры, богатые глицином и серином и/или в некоторых случаях треонином. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают заряженные остатки, такие как лизин и/или глутамат, которые могут улучшать растворимость. В некоторых вариантах осуществления линкеры дополнительно включают один или более пролинов.

[0270] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления анти-ID может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина, такую как один или более доменов константной области. В некоторых вариантах осуществления константные области включают константную область легкой цепи (CL) и/или константную область 1 тяжелой цепи (CH1). В некоторых вариантах осуществления анти-ID включает домен CH2 и/или CH3, такой как Fc-область. В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область человеческого IgG, такого как IgG1 или IgG4.

[0271] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64, и константную область легкой цепи, содержащуюся в аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:65. В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают константную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична константной области тяжелой цепи, содержащейся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64, и константную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична константной области легкой цепи, содержащейся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65.

[0272] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65.

[0273] В некоторых вариантах осуществления представлены антиидиотипические

антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые включают тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:65.

[0274] Также представлены нуклеиновые кислоты, кодирующие представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент. Представленные нуклеиновые кислоты включают такие, которые кодируют раскрытые в настоящем описании антиидиотипические антитела. Нуклеиновые кислоты могут включать нуклеиновые кислоты, содержащие природные и/или не встречающиеся в природе нуклеотиды и основания, например, включающие скелетные модификации. В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи, содержит(ат) последовательность нуклеотидов, кодирующую VH-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:67, и последовательность нуклеотидов, кодирующую VL-область и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:68. В некоторых вариантах осуществления молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) антиидиотипические антитела и/или их части, например цепи, содержит последовательность нуклеотидов, кодирующую тяжелую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:66, и последовательность нуклеотидов, кодирующую легкую цепь и содержащую последовательность нуклеотидов с SEQ ID NO:69.

[0275] Также представлены векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, клетки-хозяева, содержащие векторы, например, для продуцирования антител. Также представлены способы получения антител. В дополнительном варианте осуществления представлен один или более векторов (например, векторов экспрессии), содержащих такую нуклеиновую кислоту. В дополнительном варианте осуществления представлена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В одном из таких вариантов осуществления клетка-хозяин содержит (например, была трансформирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_L антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую V_H антитела. В некоторых вариантах осуществления представлен способ получения антиидиотипического антитела, включающий культивирование клетки-хозяина, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, как указано выше, в условиях, подходящих для экспрессии антитела, и необязательно выделение антитела из клетки-хозяина (или среды для культивирования клеток-хозяев).

[0276] Примеры нуклеиновых кислот и векторов включают такие, которые имеют последовательности, приведенные в одной или более из SEQ ID NO:66-69, и их части,

кодирующие CDR, а также последовательности, являющиеся идентичными на по меньшей мере или примерно 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99%. Нуклеиновая кислота может кодировать аминокислотную последовательность, содержащую V_L , и/или аминокислотную последовательность, содержащую V_H антиидиотипического антитела (например, легкие и/или тяжелые цепи антитела).

[0277] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент выбирают из группы, состоящей из фрагментов антигенсвязывающих фрагментов (Fab), $F(ab')_2$ -фрагментов, Fab'-фрагментов, Fv-фрагментов, одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv) или однодоменного антитела.

[0278] Соответственно, представлены фрагменты одноцепочечных антител, такие как scFv и антитела, в частности фрагменты человеческих одноцепочечных антител, обычно содержащие линкер(ы), соединяющий(ие) два домена или области антиидиотипического антитела, такие как домены V_H и V_L . Линкер обычно представляет собой пептидный линкер, например гибкий и/или растворимый пептидный линкер, такой как линкер, богатый глицином и серином.

[0279] В некоторых аспектах линкеры, богатые глицином и серином (и/или треонином), включают по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% такой(их) аминокислоты(аминокислот). В некоторых вариантах осуществления они включают по меньшей мере или примерно 50%, 55%, 60%, 70% или 75% глицина, серина и/или треонина. В некоторых вариантах осуществления линкер практически полностью состоит из глицина, серина и/или треонина. Линкеры обычно имеют длину от примерно 5 до примерно 50 аминокислот, обычно от примерно 10 до примерно 30, например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 аминокислот, а в некоторых примерах от 10 до 25 аминокислот.

[0280] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела включают выделенные антитела. В некоторых вариантах осуществления анти-ID является гуманизированным, рекомбинантным и/или моноклональным. В некоторых вариантах осуществления анти-ID является человеческим.

[0281] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, является гуманизированным. В конкретных вариантах осуществления все или практически все аминокислотные остатки CDR гуманизированного антиидиотипического антитела, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, происходят от 1/2 CDR анти-целевого антитела, отличных от человеческих. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, включает по меньшей мере часть константной области антитела, полученного из человеческого антитела.

[0282] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, включает человеческий иммуноглобулин (антитело-реципиент), в котором остатки вариабельной области тяжелой цепи реципиента заменены на остатки вариабельной области тяжелой цепи отличного от человеческого антиидиотипического антитела, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2. В некоторых случаях FR-остатки человеческого иммуноглобулина заменены соответствующими отличными от человеческих остатками. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит FR, происходящие от разных генов. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, содержит по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, человеческого иммуноглобулина.

[0283] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, содержит измененные последовательности вариабельного домена акцепторного человеческого антитела, которые были преобразованы для кодирования одного или более аминокислотных остатков в положениях 4, 35, 38, 43, 44, 46, 58, 62, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 73, 85, 98 (по Кабат) вариабельной области легкой цепи и положениях 2, 4, 36, 39, 43, 45, 69, 70, 74, 75, 76, 78, 92 (по Кабат) вариабельной области тяжелой цепи, соответствующих отличной от человеческой донорской последовательности.

[0284] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, является гуманизированным. В конкретных вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, содержит одну или более областей из CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2. В некоторых вариантах осуществления некоторые или все области из CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 содержат одну или более аминокислотных модификаций. В некоторых вариантах осуществления модификации заменяют отличный от человеческого аминокислотный остаток человеческим остатком. В конкретных вариантах осуществления одна или более из CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 встроены в FR-области человеческого антитела. В конкретных вариантах осуществления CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела представляют собой CDR VH- и VL-областей, имеющих аминокислотные последовательности, приведенные в SEQ ID NO:38 и 39, соответственно. В некоторых вариантах осуществления все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 антиидиотипического антитела, которое связывает или

распознает целевое антитело 1, встроены в FR человеческого антитела. В конкретных вариантах осуществления CDR и FR области представляют собой области, идентифицированные по схемам Кабат, Чотиа, AbM и/или Контакт.

[0285] В конкретных вариантах осуществления одна или более или все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, встроены в каркасные области человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело представляет собой антитело IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. В конкретных вариантах осуществления человеческое антитело представляет собой антитело из подклассов человеческих IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, например, человеческого IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2. В некоторых вариантах осуществления одна или более или все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, встроены в каркасные области антигенсвязывающей области, которая получена из и/или происходит от человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент получен из и/или происходит от человеческого IgA, IgD, IgE, IgG и IgM антитела. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов человеческих иммуноглобулинов хорошо известны и описаны в общем виде, например, в Abbas et al. Cellular and Mol. Immunol, 4th ed. (WB Saunders, Co., 2000). В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может быть частью более крупной слитой молекулы, образованной посредством ковалентной или нековалентной связи человеческого антитела с одним или более другими белками или пептидами.

[0286] В некоторых вариантах осуществления одну или более, или все CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 и CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 отличного от человеческого антиидиотипического антитела, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, встраивают в каркасные области человеческого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, содержащего Fc-область полностью или ее часть. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, содержит Fc-области полностью или ее часть. В некоторых вариантах осуществления Fc-область имеет одну или более модификаций, таких как аминокислотная модификация (например, замена, вставка или делеция) в одном или более аминокислотных положениях. Такие модификации могут быть сделаны, например, для улучшения времени полужизни, изменения связывания с одним или более типами Fc-рецепторов и/или изменения эффекторных функций. В некоторых вариантах осуществления модифицированные Fc-области имеют измененное (например, сниженное) связывание с Fc α R по сравнению со связыванием немодифицированной Fc-области. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антиидиотипическое антитело содержит всю или часть

модифицированной Fc-области с измененным (например, сниженным) связыванием с Fc-рецептором относительно связывания немодифицированной Fc-области. Неограничивающие примеры модификаций Fc, которые изменяют ее связывание с Fc-рецепторами, описаны, например, в патентах США №№ 7,217,797 и 7,732,570; и заявках на патент США 2010/0143254 и 2010/0143254.

[0287] В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации (K_D) и/или скорость диссоциации (k_{off}) любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, ниже, чем у других реагентов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации и/или скорость диссоциации ниже, чем у ВСМА-Fc. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации и скорость диссоциации ниже, чем у ВСМА-Fc. В некоторых аспектах более низкая константа диссоциации обеспечивает более сильное связывание представленными антиидиотипическими антителами или их антигенсвязывающими фрагментами целевого антитела 1 и/или целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR. В некоторых аспектах более низкая скорость диссоциации обеспечивает более длительное связывание представленными антиидиотипическими антителами или их антигенсвязывающими фрагментами целевого антитела 1 и/или целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR. Таким образом, в некоторых аспектах детектирование, выделение и стимуляция целевого антитела 1 и/или целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR улучшаются за счет использования представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов по сравнению с использованием других реагентов (например, ВСМА-Fc). Например, использование представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов может обеспечить стабильное связывание целевого антитела 1 и/или целевого антитела 2, его антигенсвязывающих фрагментов или содержащих его CAR, тем самым улучшая детектирование и выделение этих мишеней. Аналогично, такое использование может обеспечить более постоянную стимуляцию указанных CAR и клеток, например Т-клеток, сконструированных для их экспрессии.

[0288] В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания (EC_{50}) и/или константа диссоциации любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ до или примерно до 15 нМ, например, от

или примерно от 5 до или примерно до 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления ЕС50 любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, или их антигенсвязывающие фрагменты, составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ до или примерно до 15 нМ, например, от или примерно от 5 до или примерно до 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации любого из предоставленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, или их антигенсвязывающие фрагменты, составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ до или примерно до 15 нМ, например, от или примерно от 5 до или примерно до 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления измеренная, например, с помощью радиоиммуноанализа (RIA) степень связывания любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, с компонентом, не относящимся к целевому анти-BCMA компоненту (например, целевому антителу 1 или целевому антителу 2), меньше чем, составляет или составляет примерно 10% от связывания антитела с целевым анти-BCMA компонентом. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1 или целевого антитела 2, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, являются агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1 или целевого антитела 2, когда находятся в растворенной форме. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, не блокируется при воздействии растворимого BCMA или BCMA-Fc. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты и содержат

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39, являются агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1 или целевого антитела 2, когда находятся в растворенной форме. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты и содержат VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и область VL, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39, не блокируются при воздействии растворимого ВСМА или ВСМА-Fc.

С. Иллюстративные признаки

[0289] Антиидиотипические антитела, представленные в настоящем описании, могут быть идентифицированы, подвергнуты скринингу или охарактеризованы в отношении их физических/химических свойств и/или биологической активности с помощью различных известных анализов. В одном из аспектов антиидиотипическое антитело тестируют на его антигенсвязывающую активность, например, с помощью известных способов, таких как ELISA, вестерн-блоттинг и/или анализы методом проточной цитометрии, включая анализы связывания на основе клеток, например, путем оценки связывания антиидиотипического антитела (например, конъюгированного с флуоресцентным маркером или меченого) с клеткой, презентующей компонент целевого анти-ВСМА антитела, в некоторых случаях путем сравнения с результатами, полученными с использованием клеток, которые не экспрессируют компонент целевого анти-ВСМА антитела. Аффинность связывания может быть измерена в виде Kd или EC50.

[0290] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных антиидиотипических антител, например, любого из антител, представленных выше в Разделе А, компонент целевого анти-ВСМА антитела представляет собой целевое антитело 2 или антитело, полученное из целевого антитела 2.

[0291] В некоторых вариантах осуществления любого из представленных антиидиотипических антител, например любого из антител, представленных выше в Разделе В, компонент целевого анти-ВСМА антитела представляет собой (i) целевое антитело 1 или антитело, полученное из целевого антитела 1, и/или (ii) целевое антитело 2 или антитело, полученное из целевого антитела 2.

[0292] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевой анти-ВСМА фрагмент, представляет собой антитело, которое специфически связывает или предпочтительно связывает (используется взаимозаменяемо) целевой анти-ВСМА компонент. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-ВСМА антитело, представляет собой антитело, которое специфически связывает или предпочтительно связывает (используется взаимозаменяемо) целевое анти-ВСМА

антитело. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связывают целевое анти-BCMA антитело, включают антитела, обладающие определенной эпитопной специфичностью. В некоторых вариантах осуществления говорят, что антитело специфически связывает антиген, когда оно преимущественно распознает свой целевой антиген в сложной смеси белков и/или макромолекул. В некоторых вариантах осуществления изобретения говорят, что антитело специфически связывает или предпочтительно связывает антиген, когда равновесная константа диссоциации составляет $<10^{-7}$ или 10^{-8} М. В некоторых вариантах осуществления равновесная константа диссоциации может составлять $<10^{-9}$ М или $<10^{-10}$ М. В дополнительных вариантах осуществления равновесная константа диссоциации может составлять $<10^{-11}$ М или менее. В некоторых вариантах осуществления антитело специфически связывает или предпочтительно связывает мишень, если оно связывается с более высокой аффинностью, авидностью, легче и/или находится связанным дольше, чем с другими веществами. Например, антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически или предпочтительно связывает целевое анти-BCMA антитело, если оно реагирует или связывает его чаще, быстрее, находится связанным с целевым анти-BCMA антителом, например содержащимся в CAR, дольше и/или связывается с ним с более высокой аффинностью, чем с нецелевым антителом, например содержащимся в CAR. Понятно, что для специфического связывания или предпочтительного связывания не обязательно требуется (хотя может включать) исключительное связывание. Способы определения такого специфического или предпочтительного связывания включают иммуноанализы и другие анализы связывания.

[0293] Известно множество анализов для оценки аффинности связывания и/или определения специфичности связывания антитела с конкретным партнером по связыванию. Квалифицированный специалист может определить аффинность связывания антитела, например, с помощью любого из нескольких анализов связывания, хорошо известных в данной области. Известны различные анализы связывания, которые включают, без ограничения, например, ELISA K_D , KinExA, проточную цитометрию и/или устройства поверхностного плазмонного резонанса, включая раскрытые в настоящем описании. Такие способы включают, без ограничения, способы, включающие BIAcore®, Octet® или проточную цитометрию. Например, в некоторых вариантах осуществления прибор BIAcore® можно использовать для определения кинетики связывания и констант комплекса между двумя белками с помощью анализа методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (см., например, Scatchard et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 51:660, 1949; Wilson, Science, 295:2103, 2002; Wolff et al., Cancer Res., 53:2560, 1993; и патенты США №№ 5,283,173, 5,468,614 или эквивалент). SPR измеряет изменения концентрации молекул на поверхности сенсора по мере того, как молекулы связываются с поверхностью или диссоциируют от нее. Изменение сигнала SPR прямо пропорционально изменению массовой концентрации вблизи поверхности, что позволяет измерять кинетику связывания между двумя молекулами. Константу диссоциации комплекса можно

определить, наблюдая за изменениями показателя преломления в зависимости от времени при протекании буфера над чипом. Другие подходящие анализы для измерения связывания одного белка с другим включают, например, иммуноанализы, такие как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) и радиоиммуноанализ (RIA), или определение связывания путем наблюдения за изменением спектроскопических или оптических свойств белков посредством флуоресценции, УФ-поглощения, кругового дихроизма или ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Другие иллюстративные анализы включают, без ограничения, вестерн-блоттинг, ELISA, аналитическое ультрацентрифугирование, спектроскопию, проточную цитометрию, секвенирование и другие способы обнаружения связывания белков.

[0294] В конкретных вариантах осуществления антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, раскрытые в настоящем описании, предпочтительно связывают целевое анти-BCMA антитело по сравнению с нецелевым антителом, при этом аффинность связывания антител с целевым анти-BCMA антителом выше по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 100 раз или по меньшей мере в 1000 раз, чем аффинность связывания антител с нецелевыми антителами. Нецелевое антитело включает антитела к различным антигенам (например, отличным от BCMA) или может включать анти-BCMA антитела, которые содержат одну или более CDR, которые отличаются от CDR целевого анти-BCMA антитела, или которые связываются с другим эпитопом или сайтом связывания BCMA.

[0295] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело специфически связывает другие антитела с минимальной перекрестной реактивностью. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело не дает перекрестной реакции с компонентом антитела к антигену, отличному от компонента целевого анти-BCMA антитела.

[0296] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело не дает перекрестной реакции с компонентом анти-BCMA антитела, отличным от компонента целевого анти-BCMA антитела. В некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 1. В некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 1, и антиидиотипическое антитело не дает перекрестной реакции с компонентом анти-BCMA антитела, полученным из целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 2, и антиидиотипическое антитело не дает перекрестной реакции с компонентом анти-BCMA антитела, полученным из целевого антитела 1.

[0297] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело перекрестно реагирует с компонентом анти-BCMA антитела, отличным от компонента целевого анти-BCMA антитела. В некоторых вариантах осуществления компонент

целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 1, и антиидиотипическое антитело перекрестно реагирует с компонентом анти-BCMA антитела, полученным из целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 2, и антиидиотипическое антитело перекрестно реагирует с компонентом анти-BCMA антитела, полученным из целевого антитела 1.

[0298] В некоторых вариантах осуществления изобретения антиидиотипическое антитело связывает или распознает компонент целевого анти-BCMA антитела, который является частью слитого белка, такого как рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело не связывает ни один эпитоп в слитом белке, находящимся за пределами компонента целевого анти-BCMA антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела представляет собой или является частью антигенсвязывающего домена химерного антигенного рецептора (CAR), и антиидиотипическое антитело не связывает ни один эпитоп, находящийся за пределами антигенсвязывающего домена. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен CAR содержит scFv или состоит из него.

[0299] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело связывает или распознает компонент целевого анти-BCMA антитела, который представляет собой scFv, содержащийся в CAR. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело связывает или распознает эпитоп, перекрывающийся с одной или более определяющими комплементарность областями (CDR) целевого анти-BCMA scFv. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело не связывает ни один эпитоп в CAR, находящийся за пределами scFv; в некоторых вариантах осуществления оно не связывает эталонное антитело. В некоторых вариантах осуществления эталонное антитело связывает или распознает тот же антиген, что и целевое антитело, например BCMA, и/или содержит одну или более каркасных областей переменной области тяжелой и/или легкой цепи, которые на по меньшей мере 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичны соответствующей(им) каркасной(ым) области(ям) целевого антитела (в некоторых аспектах одна или более каркасных областей содержат FR1, FR2, FR3 и/или FR4 тяжелой и/или легкой цепи); и/или содержит такой же v-ген тяжелой и/или легкой цепи (или использует v-ген), что и целевое антитело, и/или получено из той же последовательности v-гена, что и целевое антитело. В некоторых аспектах эталонное антитело представляет собой целевое антитело 1. В некоторых аспектах эталонное антитело представляет собой целевое антитело 2.

[0300] В некоторых вариантах осуществления CAR, содержащий антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержит спейсер, связывающий scFv с его трансмембранным доменом, и антиидиотипическое антитело не связывает ни один эпитоп в спейсере. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой последовательность, полученную из CD28, такую как внеклеточная

часть CD28. В некоторых вариантах осуществления спейсер содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:50. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело не связывает ни один эпитоп в Fc-домене, таком как Fc-домен IgG1. В некоторых вариантах осуществления Fc-домен представляет собой Fc-домен IgG1 без шарнирной области.

[0301] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело не вступает в перекрестную реакцию с другим CAR. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело не вступает в перекрестную реакцию с другим анти-BCMA CAR. В некоторых вариантах осуществления изобретения антиидиотипическое антитело не вступает в перекрестную реакцию с компонентом анти-BCMA антитела, например эталонного антитела, имеющего один или более идиотопов, отличных от таковых целевого анти-BCMA scFv. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело связывает или распознает целевой анти-BCMA scFv CAR, полученный из целевого антитела 1. В некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 1, и антиидиотипическое антитело не вступает в перекрестную реакцию с CAR, содержащим компонент анти-BCMA антитела, полученный из целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело связывает или распознает целевой анти-BCMA scFv CAR, полученный из целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления компонент целевого анти-BCMA антитела происходит от целевого антитела 2, и антиидиотипическое антитело не вступает в перекрестную реакцию с CAR, содержащим компонент анти-BCMA антитела, полученный из целевого антитела 1.

[0302] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело является агонистом CAR. Говорят, что антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является «агонистом» CAR, содержащего во внеклеточном антигенсвязывающем домене целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, когда связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом усиливает активность клеток (например, Т-клеток), экспрессирующих CAR, например приводит к усиленной экспрессии Nur77, повышенной пролиферации, увеличенному продуцированию цитокинов (например, IFN-гамма или TNF-альфа), и/или повышенной цитотоксической активности или другой эффекторной активности клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом, содержащимся во внеклеточном антигенсвязывающем домене CAR, способно стимулировать или активировать CAR, тем самым индуцируя или опосредуют одну или более активностей клеток, экспрессирующих CAR.

[0303] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело является агонистом CAR в растворе, например, когда антиидиотипическое антитело находится в растворенном виде или не иммобилизовано на носителе, таком как гранула

или планшет. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов является агонистом CAR, содержащего в своем внеклеточном антигенсвязывающем домене целевое анти-BCMA антитело, когда антиидиотипическое антитело находится в растворе, например когда антиидиотипическое антитело растворено или не иммобилизовано на носителе, таком как гранула или планшет. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, является агонистом CAR, содержащего в своем внеклеточном антигенсвязывающем домене целевого анти-BCMA антитела, когда антиидиотипическое антитело находится в растворе, например, когда антиидиотипическое антитело является растворенным или не иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет.

[0304] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело является агонистом CAR. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело является агонистом CAR, когда находится в растворенной форме. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело является агонистом CAR, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 2, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1 или целевого антитела 2, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1 или целевого

антитела 2, когда иммобилизовано на подложке, такой как гранула или планшет. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела, когда находится в растворенной форме. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1, когда находится в растворенной форме. Говорят, что антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является «агонистом» CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, когда антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способно повышать активность CAR, например, при стимуляции Т-клеток, сконструированных для экспрессии CAR, путем связывания или иной ассоциации с CAR.

[0305] В некоторых вариантах осуществления активность клеток включает одну или более функций или фенотипов клеток, например Т-клеток, сконструированных с рекомбинантным рецептором (например, CAR). В конкретных вариантах осуществления клетки являются целевыми Т-клетками, экспрессирующими анти-BCMA CAR, и их активность включает одну или более функций или фенотипов Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления анализы функциональной активности Т-клеток включают, без ограничения, продуцирование цитокинов (например, с помощью ELISPOT или ELISA), окрашивание внутриклеточных цитокинов, клеточную пролиферацию или анализ цитотоксических лимфоцитов (CTL). В некоторых вариантах осуществления можно измерить пролиферативные ответы Т-клеток, например, путем включения ³H-тимидина, BrdU (5-бром-2'-дезоксинуридина) или 2'-дезокс-5-этилинуридина (EdU) в их ДНК или анализы с разбавлением красителя, такого как карбоксифлуоресцеин диацетат сукцинимидиловый эфир (CFSE), CellTrace Violet или мембранный краситель PKH26.

[0306] В некоторых вариантах осуществления изобретения оценка функциональной активности клеток, например Т-клеток, включает измерение продуцирования цитокинов Т-клетками после взаимодействия Т-клеток, экспрессирующих целевой анти-BCMA CAR, с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых случаях такие измеряемые цитокины могут включать, без ограничения, интерлеукин-2 (IL-2), интерферон-гамма (IFN γ), интерлейкин-4 (IL-4), TNF-альфа (ФНО α), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-10 (IL-10), интерлейкин-12 (IL-12), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), CD107a и/или TGF-бета (TGF β). Анализы для измерения цитокинов хорошо известны в данной области и включают, без ограничения, ELISA, внутриклеточное окрашивание цитокинов, цитометрических набор гранул, ОТ-ПЦР, ELISPOT, проточную цитометрию и биологические анализы, в которых клетки, реагирующие на соответствующий цитокин, тестируют на чувствительность (например, пролиферацию) в присутствии тестируемого

образца.

[0307] В некоторых вариантах осуществления, оценка функциональной активности клеток, например Т-клеток, включает оценку фенотипов клеток, например экспрессии конкретных маркеров клеточной поверхности, после взаимодействия Т-клеток, экспрессирующих целевой анти-BCMA CAR, с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки, например Т-клетки, вводимые для Т-клеточной терапии, оценивают на уровень экспрессии маркеров активации Т-клеток, маркеров истощения Т-клеток и/или маркеров дифференцировки Т-клеток. Маркеры активации Т-клеток, маркеры истощения Т-клеток и/или маркеры дифференцировки Т-клеток, используемые для оценки, включают любые маркеры, известные в данной области для конкретных подмножеств Т-клеток, например, CD25, CD38, человеческий лейкоцитарный антиген-DR (HLA-DR), CD69, CD44, CD137, KLRG1, CD62L^{low}, CCR7^{low}, CD71, CD2, CD54, CD58, CD244, CD160, белок 1 запрограммированной гибели клеток (PD-1), белок 3 гена активации лимфоцитов (LAG-3), белок 3, содержащий Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина (TIM-3), цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген-4 (CTLA-4), В- и Т-лимфоцитарный аттенуатор (BTLA) и/или иммуноглобулин Т-клеток и иммунорецепторного домена мотива ингибирования на основе тирозина (TIGIT) (см., например, Liu et al., Cell Death and Disease (2015) 6, e1792). В некоторых вариантах осуществления оцениваемый маркер клеточной поверхности представляет собой CD25, PD-1 и/или TIM-3. В некоторых вариантах осуществления оцениваемый маркер клеточной поверхности представляет собой CD25.

[0308] В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, не блокируется при воздействии растворимого BCMA или BCMA-Fc. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, является агонистом CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого антитела 1 или целевого антитела 2, когда находится в растворенной форме. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, не блокируется при воздействии растворимого BCMA или BCMA-Fc.

[0309] В некоторых вариантах осуществления связывание любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов с целевым анти-BCMA антителом не блокируется при воздействии растворимого BCMA или BCMA-Fc. В некоторых вариантах осуществления степень связывания (например, процент положительных клеток, средняя интенсивность флуоресценции или другой

параметр в качестве меры связывания) является практически таким же при связывании антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом или клеткой, сконструированной с рекомбинантным рецептором (например, CAR), содержащим целевое анти-BCMA антитело во внеклеточном связывающем домене, в присутствии растворимого BCMA или BCMA-Fc и в отсутствие растворимого BCMA или BCMA-Fc. В некоторых вариантах осуществления практически такое же связывание означает, что степень связывания в присутствии растворимого BCMA или BCMA-Fc (например, процент положительных клеток, средняя интенсивность флуоресценции или другой параметр в качестве меры связывания) сохраняется на уровне, например, не ниже 85%, 90%, 92%, 95%, 97% или 100% связывания в отсутствие растворимого BCMA или BCMA-Fc.

[0310] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело является антагонистом CAR. В некоторых вариантах осуществления связывание любого из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов с целевым анти-BCMA антителом блокируется при воздействии растворимого BCMA или BCMA-Fc. В некоторых вариантах осуществления степень связывания (например, процент положительных клеток, средняя интенсивность флуоресценции или другой параметр в качестве меры связывания) уменьшается или снижается, когда антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент контактируют с целевым анти-BCMA антителом или клеткой, сконструированной с рекомбинантным рецептором (например, CAR), содержащим целевое анти-BCMA антитело во внеклеточном связывающем домене, в присутствии растворимого BCMA или BCMA-Fc по сравнению с отсутствием растворимого BCMA или BCMA-Fc. В некоторых вариантах осуществления уменьшенное или сниженное связывание означает, что степень связывания в присутствии растворимого BCMA или BCMA-Fc (например, процент положительных клеток, средняя интенсивность флуоресценции или другой параметр в качестве меры связывания) снижается, например, составляет менее 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% или менее от связывания в отсутствие растворимого BCMA или BCMA-Fc.

[0311] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела способны связывать целевой компонент анти-BCMA, такой как целевое антитело 1 или целевое антитело 2, по меньшей мере с определенной аффинностью, измеренной любым из нескольких известных методов. В некоторых вариантах осуществления аффинность представлена равновесной константой диссоциации (K_D); в некоторых вариантах осуществления аффинность представлена EC_{50} . В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания (EC_{50}) и/или константа диссоциации антиидиотипического антитела с компонентом анти-BCMA составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ до или примерно до 15 нМ, например, от или

примерно от 5 нМ до или примерно до 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления ЕС50 антиидиотипического антитела к компоненту анти-ВСМА составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ до или примерно до 15 нМ, например, от или примерно от 5 нМ до или примерно до 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации антиидиотипического антитела с компонентом анти-ВСМА составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, или 1 нМ, например, находится в диапазоне от или примерно от 1 нМ или до или примерно до 15 нМ, например, от примерно или примерно от 5 до или примерно до 10 нМ. В одном из вариантов осуществления измеренная, например, с помощью радиоиммуноанализа (RIA) степень связывания антиидиотипического антитела с компонентом, не относящимся к целевому анти-ВСМА компоненту, меньше чем, составляет или составляет примерно 10% от связывания антитела с целевым анти-ВСМА компонентом.

[0312] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела способны связывать целевой анти-ВСМА компонент, такой как целевое антитело 1 или целевое антитело 2, с более высокой аффинностью и/или улучшенной кинетикой, чем другие реагенты, такие как ВСМА-Fc. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела имеют более низкую равновесную константу диссоциации, чем ВСМА-Fc. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела имеют более низкую скорость диссоциации, чем ВСМА-Fc. В некоторых вариантах осуществления равновесная константа диссоциации и скорость диссоциации у представленных антиидиотипических антител ниже, чем у ВСМА-Fc.

[0313] В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов не блокируется при воздействии растворимого ВСМА или ВСМА-Fc. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, не блокируется при воздействии растворимого ВСМА или ВСМА-Fc. В некоторых вариантах осуществления любое из представленных антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые связывают или распознают целевое антитело 1 и целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, не блокируется при воздействии растворимого ВСМА или ВСМА-Fc.

D. Способы получения антител

[0314] Также представлены способы получения антиидиотипического антитела,

такого как любое из представленных вариантов осуществления. В некоторых вариантах осуществления для рекомбинантного получения антиидиотипического антитела нуклеиновая кислота, кодирующая антитело, например, как описано выше, может быть выделена и встроена в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту можно легко выделить и секвенировать с помощью обычных процедур (например, с помощью олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела).

[0315] Соответственно, в настоящем описании представлены способы получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, такого как любое из вариантов осуществления, представленных в настоящем описании, включающие экспрессию тяжелой цепи и/или легкой цепи, кодируемой молекулой(ами) нуклеиновой кислоты или вектором, представленным в настоящем описании, в подходящей клетке-хозяине, и извлечение или выделение антитела.

[0316] Помимо прокариот, подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитела, являются эукариотические микробы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, включая штаммы грибов и дрожжей, чьи пути гликозилирования модифицированы для имитации или моделирования путей гликозилирования в клетках человека для продуцирования антител с частично или полностью человеческим типом гликозилирования. См. Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004) и Li et al., *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006).

[0317] Примеры эукариотических клеток, которые можно использовать для экспрессии полипептидов, включают, без ограничения, клетки COS, включая клетки COS 7; клетки 293, в том числе клетки 293-6E; клетки CHO, включая CHO-S, CHO клетки DG44.Lec13 и CHO клетки FUT8; клетки PER.C6®; и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления тяжелые цепи и/или легкие цепи антитела могут быть экспрессированы в дрожжах. См., например, публикацию США № 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления конкретную эукариотическую клетку-хозяина выбирают, исходя из ее способности осуществлять желаемые посттрансляционные модификации тяжелых цепей и/или легких цепей. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки CHO продуцируют полипептиды с более высоким уровнем сialiрирования по сравнению с тем же полипептидом, продуцируемым в клетках 293.

[0318] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело получают в бесклеточной системе. Примеры бесклеточных систем описаны, например, в Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498:229-44 (2009); Spirin, *Trends Biotechnol.* 22:538-45 (2004); Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21:695-713 (2003).

[0319] Представленные варианты осуществления дополнительно включают векторы и клетки-хозяева и другие системы экспрессии для экспрессии и продуцирования антител и других связывающих белков, включая эукариотические и прокариотические клетки-хозяева, в том числе бактерии, мицелиальные грибы и дрожжи, а также клетки

млекопитающих, такие как клетки человека, а также бесклеточные системы экспрессии.

[0320] Также предоставлены клетки-хозяева, содержащие любую из нуклеиновых кислот или векторов, раскрытых в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления представлена клетка-хозяин, которая экспрессирует антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, раскрытое в настоящем описании. Представленное антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент, экспрессированное в клетках-хозяевах, может быть очищено любым подходящим способом. Такие способы включают, без ограничения, использование аффинных матриц или хроматографии гидрофобного взаимодействия. Подходящие аффинные лиганды включают целевое анти-ВСМА антитело или агенты, которые связываются с Fc-областью. Например, для связывания Fc-области и очистки антиидиотипического антитела, содержащего Fc-область, можно использовать колонку с белком А, белком G, белком А/G или аффинную колонку с антителами. Гидрофобная интерактивная хроматография, например, бутиловая или фенильная колонка, также может быть подходящей для очистки некоторых полипептидов, таких как антитела. Ионообменная хроматография (например, анионообменная хроматография и/или катионообменная хроматография) также может быть подходящей для очистки некоторых полипептидов, таких как антитела. Хроматография в смешанном режиме (например, режиме обращенная фаза/анионный обмен, обращенная фаза/катионный обмен, гидрофильное взаимодействие/анионный обмен, гидрофильное взаимодействие/катионный обмен и т.д.) также может быть подходящей для очистки некоторых полипептидов, таких как антитела.

[0321] Антиидиотипические антитела или компоненты антител могут представлять собой гуманизированные антитела или человеческие антитела. «Гуманизированное» антитело представляет собой антитело, в котором все или практически все аминокислотные остатки CDR получены из отличных от человеческих CDR, и все или практически все аминокислотные остатки FR получены из человеческих FR. Гуманизированное антитело необязательно может включать по меньшей мере часть константной области антитела, происходящую от человеческого антитела. «Гуманизированная форма» отличного от человеческого антитела относится к варианту отличного от человеческого антитела, который подвергся гуманизации, как правило, для снижения иммуногенности по отношению к человеку, при сохранении специфичности и аффинности родительского отличного от человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR в гуманизированном антителе заменены соответствующими остатками отличного от человеческого антитела (например, антитела, из которого получены остатки CDR), например, для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела.

[0322] Представленные антиидиотипические антитела или компоненты антител включают человеческие антитела. «Человеческое антитело» представляет собой антитело с аминокислотной последовательностью, соответствующей аминокислотной последовательности, продуцируемой в человеческом организме или клеткой человека, или

отличным от человеческого источником, в котором используются репертуары человеческих антител или другие последовательности, кодирующие человеческие антитела, включая библиотеки человеческих антител. Этот термин исключает гуманизированные формы отличных от человеческих антител, которые содержат отличные от человеческих антигенсвязывающие области, такие как области, в которых все или практически все CDR являются отличными от человеческих.

[0323] Человеческие антитела могут быть получены путем введения иммуногена трансгенному животному, которое было модифицировано для получения интактных человеческих антител или интактных антител с человеческими вариabельными областями в ответ на антигенную стимуляцию. Такие животные обычно содержат все или часть локусов человеческих иммуноглобулинов, которые заменяют эндогенные локусы иммуноглобулинов, или которые присутствуют внехромосомно или случайным образом интегрированы в хромосомы животного. У таких трансгенных животных локусы эндогенного иммуноглобулина обычно инактивированы. Человеческие антитела также могут быть получены из библиотек человеческих антител, включая библиотеки фагового дисплея и бесклеточные библиотеки, содержащие последовательности, кодирующие антитела, полученные из человеческого репертуара.

Е. Иммуноконъюгаты

[0324] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой или является частью иммуноконъюгата (иммуноконъюгата антиидиотипического антитела), где антиидиотипическое антитело конъюгировано с одной или более гетерологичными молекулами, такими как, без ограничения, цитотоксический агент или визуализирующий агент. Цитотоксические агенты включают, без ограничения, радиоактивные изотопы (например, At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 и радиоактивные изотопы Lu); химиотерапевтические агенты (например, майтансиноиды, таксаны, метотрексат, адриамицин, алкалоиды барвинка (винкристин, винбластин, этопозид), доксорубин, мелфалан, митомицин С, хлорамбуцил, даунорубин или другие интеркалирующие агенты); ингибирующие рост агенты; ферменты и их фрагменты, такие как нуклеолитические ферменты; антибиотики; токсины, такие как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгировано с одним или более цитотоксическими агентами, такими как химиотерапевтические агенты или лекарственные средства, ингибирующие рост агенты, токсины (например, белковые токсины, ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или их фрагменты) или радиоактивные изотопы.

[0325] К иммуноконъюгатам антиидиотипического антитела относятся конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC), в которых антиидиотипическое антитело конъюгировано с одним или более лекарственными средствами, включая, помимо прочего, майтансиноид (см. патенты США №№ 5208020, 5416064 и Европейский патент EP 0425235 B1); ауристатин, такой как молекулы монометилауристатина DE и DF (MMAE

и MMAF) (см. патенты США №№ 5635483 и 5780588 и 7498298); доластатин; калихеамицин или их производное (см. патенты США 5,712,374, 5,714 586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,733,001 и 5,877,296; Hinman et al., *Cancer Res.*, 58:2925-2928 (1998)); антрациклин, такой как дауномицин или доксорубицин (см. Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006); Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006); Torgov et al., *Bioconj Chem.*, 16:717-721 (2005), Nagy et al., *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 97:829-834 (2000), Dubowchik et al., *Bioorg.& Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002), King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002) и патент США № 6,630,579); метотрексат; виндезин; таксан, такой как доцетаксел, паклитаксел, ларотаксел, тезетаксел и ортатаксел; трихотецин; и CC1065.

[0326] Иммуноконъюгаты антиидиотипического антитела также включают антитела, конъюгированные с ферментативно активным токсином или его фрагментом, включая, без ограничения, цепь А дифтерийного токсина, несвязывающиеся активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модецина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, белки диантина, белки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *Saponaia officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трикотецены.

[0327] Иммуноконъюгаты антиидиотипического антитела также включают иммуноконъюгаты, в которых антиидиотипическое антитело конъюгировано с радиоактивным атомом с образованием радиоконъюгата. Примеры радиоактивных изотопов включают At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} и радиоактивные изотопы Lu.

[0328] Конъюгаты антиидиотипического антитела и цитотоксического агента могут быть получены с помощью любого количества известных агентов, связывающих белки, например линкеров (см. Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987)), WO 94/11026. Линкер может быть «расщепляемым линкером», облегчающим высвобождение цитотоксического лекарственного средства в клетке, таким как кислотолабильные линкеры, расщепляемые пептидазой линкеры, фотоллабильные линкеры, диметиллинкеры и дисульфид-содержащие линкеры (Chari et al., *Cancer Res.* 52:127-131 (1992), патент США № 5,208,020).

[0329] Также представлены иммуноконъюгаты антиидиотипического антитела, содержащие антиидиотипическое антитело, прикрепленное к метке, например, детектируемой метке, которая может опосредованно или непосредственно генерировать детектируемый сигнал. Эти иммуноконъюгаты антиидиотипических антител можно использовать для исследований или диагностики. Метка предпочтительно способна опосредованно или непосредственно генерировать детектируемый сигнал. Например, метка может быть рентгеноконтрастной или радиоизотопной, такой как 3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I ; флуоресцентным (флуорофор) или хемилюминесцентным (хромофор) соединением, таким как изотиоцианат флуоресцеина, родамин или люциферин; ферментом, таким как щелочная фосфатаза, β -галактозидаза или пероксидаза хрена;

агентом визуализации; или ионом металла. В некоторых вариантах осуществления метка представляет собой радиоактивный атом для скинтиграфических исследований, например, ^{99}Tc или ^{123}I , или спиновую метку для визуализации методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (также известную как магнитно-резонансная томография, МРТ), такую как цирконий-89, йод-123, йод-131, индий-111, фтор-19, углерод-13, азот-15, кислород-17, гадолиний, марганец или железо. Цирконий-89 может образовывать комплексы с различными агентами, хелатирующими металлами, и может быть конъюгирован с антителами, например, для ПЭТ-визуализации (WO 2011/056983).

[0330] Примеры детектируемых меток включают, без ограничения, радионуклеотиды, ферменты, коферменты, флуоресцентные вещества, хемилюминесцентные вещества, хромогены, ферментные субстраты или кофакторы, ингибиторы ферментов, комплексы простетических групп, свободные радикалы, частицы, красители и т.п. Примеры подходящих ферментов включают пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу, β -галактозидазу или ацетилхолинэстеразу; примеры подходящих комплексов простетической группы включают стрептавидин/биотин и авидин/биотин; примеры подходящих флуоресцентных материалов включают умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеина изотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламина флуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин, кумарин, Alexa488, Oregon green 488, родамин зеленый, Alexa 532, Cy3, Bodipy 588/586, Alexa586, TAMRA, Rox, Alexa594, тexasский красный, Bodipy 630/650, Cy5, Alexa647, IR Dye 680, IR Dye 680, IR Dye 700 DX, Cy5.5, Alexa750, IR Dye 800CW, IR Dye 800, Atto 532 и Atto 465.

[0331] В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат антиидиотипического антитела является опосредованно детектируемым. Например, для детектирования иммуноконъюгата антиидиотипического антитела можно использовать вторичное антитело, специфичное к иммуноконъюгату антиидиотипического антитела и содержащее детектируемую метку.

Г. Варианты

[0332] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела включают одно или более изменений аминокислот, например замены, делеции, вставки и/или мутации, относительно последовательности антиидиотипического антитела, представленного в настоящем описании. Примеры вариантов включают варианты, предназначенные для улучшения аффинности связывания и/или других биологических свойств антиидиотипического антитела. Варианты аминокислотной последовательности антиидиотипического антитела могут быть получены путем введения соответствующих модификаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую антиидиотипическое антитело, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции и/или вставки, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антиидиотипического антитела. Для получения конечной конструкции может быть использована любая комбинация делеций, вставок и замен при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками, например связыванием антигена.

[0333] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела включают одну или более аминокислотных замен, например, относительно последовательности антиидиотипического антитела, представленного в настоящем описании. Сайты, представляющие интерес для заместительного мутагенеза, включают CDR и FR. Аминокислотные замены могут быть введены в представляющее интерес антиидиотипическое антитело, и продукты подвергают скринингу на желаемую активность, например сохранение/улучшение связывания антигена, снижение иммуногенности, улучшение периода полужизни и/или улучшение эффекторной функции, такой как способность стимулировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) или комплементзависимую цитотоксичность (CDC). В некоторых вариантах осуществления вариант антиидиотипического антитела демонстрирует сохраненное или улучшенное связывание с целевым анти-BCMA антителом или его фрагментом. Например, в некоторых вариантах осуществления вариант антиидиотипического антитела демонстрирует увеличение аффинности связывания с целевым анти-BCMA антителом на по меньшей мере примерно 10% (например, на по меньшей мере примерно 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 1000% или более) по сравнению с немодифицированным антиидиотипическим антителом.

[0334] В некоторых вариантах осуществления замещают один или более остатков в CDR исходного антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела). В некоторых вариантах осуществления замену вводят для восстановления последовательности или положения в ней до последовательности зародышевой линии, такой как последовательность антитела, встречающаяся в зародышевой линии (например, человеческой зародышевой линии), например для снижения вероятности иммуногенности, например при введении человеку.

[0335] В некоторых вариантах осуществления изменения происходят в «горячих точках» CDR, остатках, кодируемых кодонами, подверженными частым мутациям в процессе соматического созревания (см., например, Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), и/или остатках, контактирующих с антигеном, при этом полученный вариант V_H или V_L тестируют на аффинность связывания. Созревание аффинности путем конструирования и повторного отбора из вторичных библиотек описано, например, в Hoogenboom et al. в *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)). В некоторых вариантах осуществления созревания аффинности в переменные гены, выбранные для созревания, вводят многочисленные изменения любым из множества способов (например, методом подверженной ошибкам ПЦР, путем перетасовки цепей или с помощью олигонуклеотид-направленного мутагенеза). Затем создают вторичную библиотеку, которую подвергают скринингу для выявления любых вариантов антител с желаемой аффинностью. Другой способ введения многочисленных изменений включает подходы, направленные на CDR, в которых рандомизируют несколько остатков CDR (например, 4-6 остатков за один раз). Остатки CDR, участвующие в связывании антигена, могут быть специфически идентифицированы,

например, методом аланин-сканирующего мутагенеза или моделирования. Мишенями часто являются, в частности, CDR-H3 и CDR-L3.

[0336] В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции могут происходить в пределах одной или более CDR при условии, что такие изменения не приводят к существенному снижению способности антитела связываться с антигеном. Например, в CDR могут быть внесены консервативные замены (например, консервативные замены, предусмотренные в настоящем описании), которые не приводят к существенному снижению аффинности связывания. Такие замены могут, например, находиться в CDR за пределами остатков, контактирующих с антигеном. В некоторых вариантах осуществления вариантов последовательностей V_H и V_L , представленных выше, каждая CDR либо не была подвергнута изменению, либо содержит не более одной, двух или трех аминокислотных замен.

[0337] Вставки (инсерции) аминокислотной последовательности включают аминокислоты и/или карбокси-концевые слияния длиной от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки одного или более аминокислотных остатков внутри последовательности. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние по N- или C-концу антитела с ферментом или полипептидом, который увеличивает время полужизни антитела в сыворотке.

Модификации

[0338] В некоторых вариантах осуществления антитело модифицируют для увеличения или уменьшения степени гликозилирования антитела, например, путем удаления или вставки одного или более сайтов гликозилирования путем изменения аминокислотной последовательности и/или путем модификации олигосахарида(ов), присоединенного(ых) к сайтам гликозилирования, например, с помощью определенных клеточных линий.

[0339] Примеры модификаций, вариантов и клеточных линий описаны, например, в публикациях патентов US 2003/0157108, US 2004/0093621, US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO 2005/053742; WO 2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004). Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); заявка на патент США US 2003/0157108 A1, Presta, L; и WO 2004/056312 A1, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); и WO 2003/085107; WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патент США № 6602684 (Umana et al.); и US 2005/0123546 (Umana et al.); WO 1997/30087 (Patel et al.); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

[0340] Модифицированные антитела включают такие, которые имеют одну или более аминокислотных модификаций в Fc-области, например антитела, имеющие

последовательность человеческой Fc-области или другой части константной области (например, Fc-области человеческого IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), включающей аминокислотную модификацию (например, замену) в одном или более аминокислотных положениях.

[0341] Такие модификации могут быть сделаны, например, для улучшения периода полужизни, изменения связывания с Fc-рецепторами одного или более типов и/или изменения эффекторных функций.

[0342] Варианты также включают цистеин-сконструированные антитела, такие как «thioMAb», и другие цистеин-сконструированные варианты, в которых один или более остатков антитела замещены остатками цистеина с образованием реактивных тиоловых групп в доступных сайтах, например, для использования в конъюгации агентов и агентов-линкеров с получением иммуноконъюгатов. Цистеин-сконструированные антитела описаны, например, в патентах США № 7855275 и 7521541.

[0343] В некоторых вариантах осуществления антитела модифицируют путем включения в их состав дополнительных небелковых компонентов, включая водорастворимые полимеры. Примеры полимеров включают, без ограничения, полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля с пропиленгликолем, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена с малеиновым ангидридом, полиаминокислоты (либо гомополимеры, либо статистические сополимеры) и декстран или поли(н-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры пропропиленгликоля, сополимеры пролипропиленоксида с этиленоксидом, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси. С точки зрения производства полиэтиленгликоль-пропионовый альдегид может оказаться предпочтительным благодаря стабильности в воде. Полимер может иметь любую молекулярную массу и может быть разветвленным или неразветвленным. Количество полимеров, присоединенных к антителу, может меняться, и, если присоединено более одного полимера, они могут представлять собой одинаковые или разные молекулы. Как правило, количество и/или тип полимеров, используемых для дериватизации, может зависеть от, включая, без ограничения, конкретных свойств или функций антитела, предназначенных для улучшения, а также того, будет ли производное антитела использоваться в терапии в определенных условиях и т.д.

II. ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ (CAR) И ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ КЛЕТКИ

[0344] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают антигенсвязывающую часть химерного антигенного рецептора (CAR), такую как анти-BCMA CAR, содержащего антигенсвязывающую часть, полученную из целевого антитела 1 или целевого антитела 2. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают такие CAR, экспрессируемые на клетке, такой как клетка, используемая в

связи с адоптивной клеточной терапией. В некоторых вариантах осуществления клетки включают одну или более нуклеиновых кислот, введенных с помощью генной инженерии, и, таким образом, экспрессируют рекомбинантные или генно-инженерные продукты CAR таких нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления химерные рецепторы, созданные в иммунных клетках методами генной инженерии, могут модулировать активность Т-клеток и, в некоторых случаях, могут модулировать дифференцировку или гомеостаз Т-клеток с получением таким образом генетически модифицированных клеток с улучшенной продолжительностью жизни, выживаемостью и/или персистенцией *in vivo*, например, для использования в методах адоптивной клеточной терапии. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела можно использовать в способах модулирования одной или более из этих активностей, включая активацию, стимуляцию и/или экспансию сконструированных клеток, экспрессирующих целевой CAR.

[0345] В некоторых вариантах осуществления клетки включают одну или более нуклеиновых кислот, введенных методом генной инженерии в соответствии с представленными способами, и, таким образом, экспрессируют рекомбинантные или генно-инженерные продукты таких нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты являются гетерологичными, т.е. которые обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из клетки, например, получены из другого организма или клетки, и которые, например, обычно не встречаются в предназначенной для генетической трансформации клетке и/или организме, из которого получена такая клетка. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты не встречаются в природе, включая нуклеиновую кислоту, содержащую комбинации химерных нуклеиновых кислот, кодирующих различные домены из множества разных типов клеток. В конкретных вариантах осуществления нуклеиновые кислоты содержат ген, кодирующий CAR.

[0346] В некоторых вариантах осуществления представленные способы могут осуществляться одновременно, последовательно или параллельно с одной или более этапами обработки для производства или получения клеток, полученных методом генной инженерии. Этапы обработки способов могут включать любой один или более этапов обработки клеток отдельно или в комбинации. В конкретных вариантах осуществления этапы обработки включают трансдукцию или трансфекцию клеток одной или более нуклеиновыми кислотами, например, гетерологичным полинуклеотидом, содержащим ген, кодирующий рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления клетки трансдуцируют частицами вирусного вектора, содержащими ретровирусный вектор, такой как вектор, кодирующий рекомбинантный продукт для экспрессии в клетках. В некоторых вариантах осуществления клетки трансфицируют одной или более невирусными нуклеиновыми кислотами, например, эписомальной плазмидой или транспозоном. Способы могут дополнительно и/или альтернативно включать другие этапы обработки, такие как этапы выделения, разделения, селекции, промывки,

сuspендирования, разбавления, концентрирования клеток и/или приготовления содержащего их состава. В некоторых случаях способы также могут включать этап *ex vivo* культивирования, стимуляции или экспансии клеток (например, стимуляции клеток, например, для индукции их пролиферации и/или активации), который в некоторых случаях может быть осуществлен в соответствии с предлeнными способами. В некоторых вариантах осуществления способы включают выделение клеток из организма субъекта, их подготовку, обработку, культивирование и/или конструирование и повторное введение тому же субъекту до или после криоконсервации.

[0347] В некоторых вариантах осуществления способ включает этапы обработки, осуществляемые в следующем порядке: клетки, например первичные клетки, сначала выделяют, например отбирают или отделяют, из биологического образца; отобранные клетки инкубируют с частицами вирусного вектора для трансдукции; и трансдуцированные клетки включают в композицию. В некоторых случаях трансдуцированные клетки активируют, подвергают экспансии или размножают *ex vivo*, например, путем стимуляции в присутствии стимулирующего реагента, например, в соответствии с представленными способами. В некоторых вариантах осуществления способ может включать один или более этапов обработки, таких как промывка, сuspендирование, разбавление и/или концентрирование клеток, которые можно выполнять до, во время или одновременно или после одного или более этапов выделения, таких как отделение или отбор, трансдукции, стимуляции и/или приготовления состава.

[0348] В конкретных вариантах осуществления клетки, подлежащие трансфекции или трансдукции, не выделяют, не отбирают, или не обогащают до приведения в контакт с одной или более нуклеиновыми кислотами. В некоторых вариантах осуществления клетки не отбирают до приведения клеток в контакт с одной или более нуклеиновыми кислотами. В некоторых вариантах осуществления клетки, подлежащие трансфекции или трансдукции, не обогащают до приведения клеток в контакт с одной или более нуклеиновыми кислотами.

[0349] В некоторых вариантах осуществления один или более этапов обработки клеток, связанных с подготовкой, обработкой и/или инкубированием клеток в связи с представленным способом, в том числе в связи с приготовлением композиции, содержащей клетки, полученные методами генной инженерии, можно выполнять внутри центробежной камеры, такой как по существу жесткая камера, которая обычно имеет цилиндрическую форму и может вращаться вокруг оси вращения, что может обеспечить определенные преимущества по сравнению с другими доступными способами. В некоторых вариантах осуществления все этапы обработки выполняют в одной и той же центробежной камере. В некоторых вариантах осуществления одну или более этапов обработки выполняют в разных центробежных камерах, например, в нескольких центробежных камерах одного типа. Такие способы включают любые из описанных в международной публикации WO 2016/073602.

[0350] Примеры центробежных камер включают камеры, производимые и

продаваемые Biosafe SA, включая камеры для использования с системами Sepax® и Sepax® 2, в том числе центробежные камеры A-200/F и A-200 и различные наборы для использования с такими системами. Иллюстративные камеры, системы и технологическое оборудование и шкафы описаны, например, в патенте США № 6,123,655, патенте США № 6,733,433 и опубликованной заявке на патент США, публикации US 2008/0171951, и опубликованной международной заявке на патент, публикации WO 00/38762, содержание каждой из которых полностью включено в настоящее описание посредством ссылки. В зависимости от конкретного процесса (например, разведения, промывки, трансдукции, приготовления состава) специалист в данной области может выбрать конкретный набор, подходящий для данного процесса. Примеры наборов для использования с такими системами включают, без ограничения, одноразовые наборы, продаваемые BioSafe SA под торговым названием CS-430.1, CS-490.1, CS-600.1 или CS-900.2.

[0351] В некоторых вариантах осуществления система включена и/или размещена в комплексе с другим оборудованием, включая оборудование для работы, автоматизации, контроля и/или мониторинга аспектов различных этапов обработки, выполняемых в системе. В некоторых вариантах осуществления это оборудование содержится внутри шкафа. В некоторых вариантах осуществления контрольно-измерительные приборы включают шкаф, который включает корпус, в котором находится схема управления, центрифугу, крышку, двигатели, насосы, датчики, дисплей и пользовательский интерфейс. Иллюстративное устройство описано в патенте США №6123655, патенте США №6733433 и патенте США №2008/0171951.

[0352] В некоторых вариантах осуществления система содержит ряд контейнеров, например мешков, трубки, запорные краны, зажимы, соединители и центрифужную камеру. В некоторых вариантах осуществления контейнеры, такие как мешки, включают один или более контейнеров, таких как мешки, содержащие клетки, подлежащие трансдукции или трансфекции, и векторные частицы, например частицы вирусного вектора или невирусные плазмиды, в одном контейнере или отдельных контейнерах, таких как один мешок или отдельные мешки. В некоторых вариантах осуществления система дополнительно включает один или более контейнеров, таких как мешки, содержащие среду, такую как разбавитель и/или промывочный раствор, которую вводят в камеру, и/или другие компоненты для разбавления, ресуспендирования и/или промывки компонентов и/или композиции во время осуществления способов. Контейнеры могут быть соединены в одном или нескольких местах в системе, например в месте, соответствующем линии ввода, линии разбавления, линии промывки, линии вывода отработанных продуктов и/или линии выгрузки.

[0353] В некоторых вариантах осуществления система, такая как закрытая система, является стерильной. В некоторых вариантах осуществления все соединения компонентов системы, например между линией трубок и контейнером, через соединитель выполняют в стерильных условиях. В некоторых вариантах осуществления соединения выполняют при ламинарном потоке. В некоторых вариантах осуществления соединения выполняют с

помощью стерильного соединительного устройства, которое создает стерильные соединения, такие как стерильные сварные швы, между трубкой и контейнером. В некоторых вариантах осуществления стерильное соединительное устройство выполняет соединение в условиях достаточно высоких температур для поддержания стерильности, таких как температуры по меньшей мере 200°C, например по меньшей мере 260°C или 300°C.

[0354] В некоторых вариантах осуществления система может быть одноразовой, такой как одноразовый набор. В некоторых вариантах осуществления одноразовый набор можно использовать во множестве циклов процесса или процессов, например по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или более раз, например, в процессах, которые происходят в непрерывном или полунепрерывном режиме. В некоторых вариантах осуществления система, такая как одноразовый набор, используется для обработки клеток одного пациента. В аспектах способов процессы необязательно следует выполнять в одной и той же закрытой системе, например в одной и той же центрифужной камере, они могут выполняться в разных закрытых системах, например, в разных центрифужных камерах; в некоторых вариантах осуществления такие разные центрифужные камеры находятся в соответствующих точках способов, которые связаны с одной и той же системой, например связаны с одной и той же центрифугой. В некоторых вариантах осуществления все этапы обработки выполняют в закрытой системе, в которой любой один или более этапов обработки полностью или частично выполняют в одной и той же или разных центробежных камерах.

А. Целевые химерные антигенные рецепторы (CAR)

[0355] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают внеклеточный домен целевого CAR, содержащего антигенсвязывающий домен антитела или фрагмента антитела, который обеспечивает специфичность в отношении желаемого антигена (например, опухолевого антигена) и который функционально связан или соединен с внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антигенсвязывающий домен, который представляет собой антигенсвязывающий домен целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, как предусмотрено в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела связывают или распознают внеклеточный домен целевого CAR, содержащего антигенсвязывающий домен целевого анти-BCMA антитела или фрагмента антитела, который обеспечивает специфичность в отношении антигена BCMA (например, экспрессируемого на опухоли), который функционально связан или соединен с внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антигенсвязывающий домен, который представляет собой антигенсвязывающий домен целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, как предусмотрено в настоящем описании, например, как описано в Разделе I. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен включает целевое антитело 1 или фрагмент части антитела, полученной из целевого антитела 1. В некоторых вариантах

осуществления антигенсвязывающий домен включает целевое антитело 2 или фрагмент части антитела, полученной из целевого антитела 2. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают внеклеточный домен целевого CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, такой как целевое антитело 1 или антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен представляет собой активирующую часть внутриклеточного домена, такую как домен активации Т-клеток, обеспечивающий первичный сигнал активации. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит или дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен для облегчения эффекторных функций. В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлены антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают или распознают внеклеточный домен CAR, как описано, например, в WO 2019/090003 (PCT/US2018/058811) или WO 2016/090320 (PCT/US2015/064112), содержание каждой из которых включено в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты связывают или распознают CAR, как описано, например, в WO 2019/090003 (PCT/US2018/058811) или WO 2016/090320 (PCT/US2015/064112). В некоторых вариантах осуществления CAR, представленный в настоящем описании, который содержит целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представляет собой анти-BCMA CAR, как описано, например, в WO 2019/090003 (PCT/US2018/058811) или WO 2016/090320 (PCT/US2015/064112).

[0356] В некоторых вариантах осуществления представлены сконструированные клетки, такие как Т-клетки, которые экспрессируют CAR, специфичные в отношении определенного антигена (или маркера, или лиганда), такого как антиген, экспрессируемый на поверхности определенного типа клеток. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой полипептид. В некоторых вариантах осуществления он представляет собой углевод или другую молекулу. В некоторых вариантах осуществления антиген избирательно экспрессируется или сверхэкспрессируется на клетках, пораженных заболеванием или состоянием, например опухолевых или патогенных клетках, по сравнению с нормальными или нецелевыми клетками или тканями. В других вариантах осуществления антиген экспрессируется на нормальных клетках и/или экспрессируется на сконструированных клетках.

[0357] В конкретных вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, такой как химерный рецептор, содержит внутриклеточную сигнальную область, которая включает цитоплазматический сигнальный домен (также взаимозаменяемо называемый внутриклеточным сигнальным доменом), такой как цитоплазматическая (внутриклеточная) область, способная индуцировать первичный сигнал активации в Т-

клетке, например цитоплазматический сигнальный домен компонента Т-клеточного рецептора (TCR) (например, цитоплазматический сигнальный домен дзета-цепи CD3-дзета (CD3 ζ) цепи или функциональный вариант или его сигнальную часть), который содержит мотив активации иммунорецептора на основе тирозина (ITAM).

[0358] В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор дополнительно содержит внеклеточный лиганд-связывающий домен, который связывается с лигандом (например, антигеном) или распознает его. В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор представляет собой CAR, который содержит внеклеточный антигенраспознающий домен, который связывает или распознает антиген. В некоторых вариантах осуществления лиганд, такой как антиген, представляет собой белок, экспрессируемый на поверхности клеток. В некоторых вариантах осуществления CAR представляет собой TCR-подобный CAR, и антиген представляет собой процессированный пептидный антиген, такой как пептидный антиген внутриклеточного белка, который, подобно TCR, распознается на клеточной поверхности в контексте молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС).

[0359] Примеры антигенных рецепторов, включая CAR, и способы конструирования и введения таких рецепторов в клетки включают описанные, например, в публикациях международных заявок на патент WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/ 071154, WO2013/123061, в публикациях заявок на патент США №№ US2002131960, US2013287748, US20130149337, патентах США №№ 6,451,995, 7,446,190, 8,252,592, 8,339,645, 8,398,282, 7,446,179, 6,410,319, 7,070,995, 7,265,209, 7,354,762, 7,446,191, 8,324,353 и 8,479,118, и европейской заявке на патент EP2537416 и/или Sadelain et al., *Cancer Discov.* 2013 April; 3(4):388-398; Davila et al. (2013) *PLoS ONE* 8(4):e61338; Turtle et al., *Curr. Opin. Immunol.*, 2012 October; 24(5):633-39; Wu et al., *Cancer*, 2012 March 18(2):160-75. В некоторых аспектах антигенные рецепторы включают CAR, как описано в патенте США № 7,446,190, и рецепторы, описанные в публикации международной заявки на патент WO/2014055668 A1. Примеры CAR включают CAR, раскрытые в любой из вышеупомянутых публикаций, например WO 2014031687, патенте США № 8,339,645, патенте США № 7,446,179, US2013/0149337, патенте США № 7,446,190, патенте США № 8,389,282, Kochenderfer et al., 2013, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10, 267-276 (2013); Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35(9):689-701; и Brentjens et al., *Sci Transl Med.* 2013 5(177). См. также WO 2014031687, патент США № 8,339,645, патент США № 7,446,179, US2013/0149337, патент США № 7,446,190 и патент США № 8,389,282.

[0360] В некоторых вариантах осуществления CAR сконструирован со специфичностью в отношении определенного антигена (или маркера, или лиганда), такого как антиген, экспрессируемый в конкретном типе клеток, на который направлена адоптивная терапия, например маркер рака, и/или антигена, предназначенного для индукции демпфирующей реакции, такого как антиген, экспрессируемый на нормальных или здоровых клетках. Таким образом, CAR обычно содержит в своей внеклеточной части

одну или более антигенсвязывающих молекул, таких как один или более антигенсвязывающих фрагментов, доменов или частей, или один или более переменных доменов антитела и/или молекул антитела. В некоторых вариантах осуществления CAR включает антигенсвязывающую часть или части молекулы антитела, такие как фрагмент одноцепочечного антитела (scFv), полученный из переменной тяжелой (VH) и переменной легкой (VL) цепей моноклонального антитела (mAb).

[0361] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть экспрессируются на клетках как часть CAR. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный антигенсвязывающий домен связан с одним или более внутриклеточными сигнальными компонентами, в некоторых аспектах через линкеры и/или трансмембранный(ые) домен(ы). В некоторых вариантах осуществления такие молекулы обычно могут имитировать или моделировать сигнал через природный антигенный рецептор, такой как TCR, и, необязательно, сигнал через такой рецептор в комбинации с костимулирующим рецептором.

[0362] В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, scFv), который связывает или распознает ВСМА, например интактный антиген, экспрессируемый на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (scFv) включает CDR, содержащиеся в целевом антителе 1.

[0363] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой ВСМА и связан с анти-ВСМА антителом, таким как целевое антитело 1 или антигенсвязывающий фрагмент, полученный из целевого антитела 1, или целевое антитело 2 или антигенсвязывающий фрагмент, полученный из целевого антитела 2.

[0364] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающие белки, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты распознают антиген полноразмерного антитела. В некоторых вариантах осуществления тяжелая и легкая цепи антитела могут быть полноразмерными или могут представлять собой антигенсвязывающую часть (Fab, F(ab')₂, Fv или фрагмент одноцепочечного Fv (scFv)). В других вариантах осуществления константную область тяжелой цепи антитела выбирают, например, из IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE, в частности, выбирают, например, из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, более конкретно, IgG1 (например, человеческого IgG1). В другом варианте осуществления константную область легкой цепи антитела выбирают, например, из каппа- или лямбда-цепи, в частности каппа-цепи.

[0365] Представленные антитела включают фрагменты антител. «Фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть интактного антитела, которая связывается с антигеном, с которым связывается интактное антитело. Примеры фрагментов антител включают, без ограничения, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; диатела; линейные антитела; переменные участки тяжелой цепи (VH), молекулы одноцепочечных антител, такие как scFv, и однодоменные одиночные антитела VH; и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител. В

конкретных вариантах осуществления антитела представляют собой фрагменты одноцепочечных антител, содержащие переменную область тяжелой цепи и/или переменную область легкой цепи, такие как scFv.

[0366] Термин «переменная область» или «переменный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепи антитела, который участвует в связывании антитела с антигеном. Переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи (VH и VL, соответственно) нативного антитела обычно имеют сходную структуру, при этом каждый домен содержит четыре консервативных каркасных участка (FR) и три CDR (см., например, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., p. 91 (2007)). Одного домена VH или VL может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены с помощью домена VH или VL из антитела, которое связывает антиген, чтобы осуществить скрининг библиотеки комплементарных доменов VL или VH, соответственно (см., например, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991))

[0367] Однодоменные антитела представляют собой фрагменты антител, содержащие переменный домен тяжелой цепи полностью или его часть или переменный домен легкой цепи антитела полностью или его часть. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой человеческое однодоменное антитело. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит домен тяжелой цепи антитела, который специфически связывается с антигеном, таким как маркер рака, или антигеном клеточной поверхности клетки или заболевания, которые являются мишенью, например опухолевой клетки или раковой клетки, например любой из целевых антигенов, раскрытых в настоящем описании или известных в данной области.

[0368] Фрагменты антител могут быть получены различными методами, включая, без ограничения, протеолитическое расщепление интактного антитела, а также продуцирование рекомбинантными клетками-хозяевами. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой рекомбинантно-продуцируемые фрагменты, такие как фрагменты, включающие структуры, которые не встречаются в природе, например фрагменты с двумя или более областями или цепями антител, соединенными синтетическими линкерами, например, пептидными линкерами, и/или которые не могут быть получены путем ферментативного расщепления встречающихся в природе интактных антител. В некоторых вариантах осуществления фрагменты антител представляют собой scFv.

[0369] «Гуманизированное» антитело представляет собой антитело, в котором все или практически все аминокислотные остатки CDR происходят от CDR, не принадлежащих человеку, и все или практически все аминокислотные остатки FR происходят от человеческого FR. Гуманизированное антитело необязательно может включать по меньшей мере часть константной области антитела, происходящую от человеческого антитела. «Гуманизированная форма» отличного от человеческого антитела относится к варианту отличного от человеческого антитела, которое подверглось

гуманизации, как правило, для снижения иммуногенности по отношению к человеку, с сохранением специфичности и аффинности родительского отличного от человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR в гуманизированном антителе заменены соответствующими остатками отличного от человеческого антитела (например, антитела, из которого получены остатки CDR), например, для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела.

[0370] Химерные рецепторы, такие как CAR, обычно включают внеклеточный антигенсвязывающий домен, такой как часть молекулы антитела (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2), обычно вариабельную область тяжелой (VH) цепи и/или вариабельную область легкой (VL) цепи антитела, например фрагмент антитела scFv.

[0371] В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или фрагмент антитела. В некоторых аспектах химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или его фрагмент, и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент включают scFv. В некоторых вариантах осуществления scFv происходит от целевого антитела 1 и содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления scFv происходит от целевого антитела 2 и содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

[0372] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный рецептор, такой как CAR, например его часть, содержащая антитело, дополнительно включает спейсер, который может представлять собой или включать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина или ее вариант или модифицированную версию, такую как шарнирная область, например шарнирная область IgG4, и/или область CH1/CL и/или Fc. В некоторых вариантах осуществления константная область или часть относится к человеческому IgG, такому как IgG4 или IgG1. В некоторых аспектах часть константной области служит спейсерной областью между антиген-распознающим компонентом, например scFv, и трансмембранным доменом. Спейсер может иметь длину, обеспечивающую повышенную чувствительность клетки после связывания антигена по сравнению с отсутствием спейсера. В некоторых примерах длина спейсера составляет примерно 12 аминокислот или не более 12 аминокислот. Типичные спейсеры включают спейсеры, содержащие по меньшей мере примерно от 10 до 229 аминокислот, примерно от 10 до 200 аминокислот, примерно от 10 до 175 аминокислот, примерно от 10 до 150 аминокислот, примерно от 10 до 125 аминокислот, примерно от 10 до 100 аминокислот, примерно от 10 до 75 аминокислот, примерно от 10 до 50 аминокислот, примерно от 10 до 40 аминокислот, примерно от 10 до 30 аминокислот, примерно от 10 до 20 аминокислот или примерно от 10 до 15 аминокислот, включая любое целое число между конечными точками любого из перечисленных диапазонов. В некоторых вариантах осуществления спейсерная область содержит примерно 12 аминокислот или менее, примерно 119

аминокислот или менее или примерно 229 аминокислот или менее. Примеры спейсеров включают только шарнир IgG4, шарнир IgG4, связанный с доменами C_H2 и C_H3, или шарнир IgG4, связанный с доменом C_H3. В некоторых вариантах осуществления спейсер имеет последовательность с SEQ ID NO:50. В некоторых вариантах осуществления спейсер включает последовательность шарнирной области, области C_H2 и C_H3. В некоторых вариантах осуществления один или более шарниров, C_H2 и C_H3 полностью или частично происходят от IgG4 или IgG2. В некоторых случаях шарнир C_H2 и C_H3 происходит от IgG4. В некоторых аспектах один или более из шарнира, C_H2 и C_H3 являются химерными и содержат последовательности, полученные из IgG4 и IgG2. В некоторых примерах спейсер содержит химерный шарнир IgG4/2, область C_H2 IgG2/4 и область C_H3 IgG4. В некоторых вариантах осуществления кодируемый спейсер представляет собой или содержит (i) последовательность с SEQ ID NO:50; (ii) функциональный вариант последовательности SEQ ID NO:50, который на по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен последовательности SEQ ID NO:50; или (iii) непрерывную часть (i) или (ii), которая имеет в длину по меньшей мере 125 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления кодируемый спейсер представляет собой или включает последовательность с SEQ ID NO:50. Примеры спейсеров включают, без ограничения, спейсеры, описанные в Hudecek et al. (2013) Clin. Cancer Res., 19:3153, международной публикации заявки на патент WO2014031687, патенте США № 8,822,647, опубликованных заявках US2014/0271635, WO 2019/090003 (PCT/US2018/058811) или WO 2016/090320 (PCT/US2015/064112), содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

[0373] В некоторых вариантах осуществления антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен, связанный непосредственно или опосредованно с внеклеточным доменом. В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор включает трансмембранный домен, связывающий внеклеточный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен слит с внеклеточным доменом. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит ITAM. Например, в некоторых аспектах антиген-распознающий домен (например, внеклеточный домен) обычно связан с одним или более внутриклеточными сигнальными компонентами, такими как сигнальные компоненты, которые имитируют активацию через комплекс антиген-рецептор, такой как комплекс TCR в случае CAR, и/или сигнал через другой рецептор клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления химерный рецептор содержит трансмембранный домен, связанный или слитый, между внеклеточным доменом (например, scFv) и внутриклеточным сигнальным доменом. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий компонент (например, антитело) связан с одним или более трансмембранными и внутриклеточными сигнальными доменами.

[0374] В одном из вариантов осуществления используется трансмембранный домен, который естественным образом связан с одним из доменов в рецепторе, например

CAR. В некоторых случаях трансмембранный домен выбирают или модифицируют путем аминокислотной замены, чтобы избежать связывания таких доменов с тем же или другим поверхностным мембранным белком, таким образом сводя к минимуму взаимодействия с другими членами рецепторного комплекса.

[0375] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен происходит либо от природного, либо от синтетического источника. Если источник является природным, в некоторых аспектах домен получают из любого связанного с мембраной или трансмембранного белка. Трансмембранные области включают области, происходящие от (т.е. содержащие по меньшей мере трансмембранную(ые) область(и)) альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154. Альтернативно, в некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен является синтетическим. В некоторых аспектах синтетический трансмембранный домен содержит преимущественно гидрофобные остатки, такие как лейцин и валин. В некоторых аспектах на каждом конце синтетического трансмембранного домена может находиться триплет из фенилаланина, триптофана и валина. В некоторых вариантах осуществления связь осуществляется с помощью линкеров, спейсеров и/или трансмембранных доменов. В некоторых аспектах трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28.

[0376] В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен и трансмембранный домен могут быть связаны непосредственно или опосредованно. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен и трансмембранный домен связаны спейсером, таким как любой из раскрытых в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления рецептор содержит внеклеточную часть молекулы, от которой происходит трансмембранный домен, такую как внеклеточная часть CD28.

[0377] Внутриклеточные сигнальные домены включают домены, которые имитируют или моделируют сигнал через природный антигенный рецептор, сигнал через такой рецептор в комбинации с костимулирующим рецептором и/или сигнал только через костимулирующий рецептор. В некоторых вариантах осуществления присутствует короткий олиго- или полипептидный линкер, например линкер длиной от 2 до 10 аминокислот, такой как линкер, содержащий глицин и серины, например дублет глицин-серин, который образует связь между трансмембранным доменом и цитоплазматическим сигнальным доменом CAR.

[0378] В некоторых аспектах активация Т-клеток описана как опосредованная двумя классами цитоплазматических сигнальных последовательностей: которые инициируют антиген-зависимую первичную активацию через TCR (первичные цитоплазматические сигнальные последовательности), и которые действуют антиген-независимым образом для обеспечения вторичного или костимулирующего сигнала (вторичные цитоплазматические сигнальные последовательности). В некоторых аспектах CAR включает один или оба таких сигнальных компонента.

[0379] Рецептор, например CAR, обычно включает по меньшей мере один

внутриклеточный сигнальный компонент или компоненты. В некоторых аспектах CAR включает первичную цитоплазматическую сигнальную последовательность, которая регулирует первичную активацию комплекса TCR. Первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, которые действуют как стимуляторы, могут содержать сигнальные мотивы, известные как мотив активации иммунорецептора на основе тирозина или ITAM. Примеры ITAM, содержащих первичные цитоплазматические сигнальные последовательности, включают последовательности, полученные из дзета-цепи CD3, FcR гамма, CD3-гамма, CD3-дельта и CD3-эпсилон. В некоторых вариантах осуществления цитоплазматическая сигнальная(ые) молекула(ы) в CAR содержит(ат) цитоплазматический сигнальный домен, его часть или последовательность, происходящую от CD3-дзета.

[0380] В некоторых вариантах осуществления рецептор включает внутриклеточный компонент комплекса TCR, такой как цепь CD3 TCR, которая опосредует активацию и цитотоксичность Т-клеток, например, дзета-цепь CD3. Таким образом, в некоторых аспектах антигенсвязывающая часть связана с одним или более клеточными сигнальными модулями. В некоторых вариантах осуществления клеточные сигнальные модули включают трансмембранный домен CD3, внутриклеточные сигнальные домены CD3 и/или другие трансмембранные домены CD. В некоторых вариантах осуществления рецептор, например CAR, дополнительно включает часть одной или более дополнительных молекул, таких как Fc-рецептор γ , CD8, CD4, CD25 или CD16. Например, в некоторых аспектах CAR или другой химерный рецептор включает химерную молекулу между CD3-дзета (CD3- ζ) или Fc-рецептором γ и CD8, CD4, CD25 или CD16.

[0381] В некоторых вариантах осуществления при лигировании CAR или другого химерного рецептора цитоплазматический домен или внутриклеточный сигнальный домен рецептора активирует по меньшей мере одну из нормальных эффекторных функций или ответов иммунной клетки, например Т-клетки, сконструированной для экспрессии CAR. Например, в некоторых случаях CAR индуцирует функцию Т-клетки, такую как цитолитическая активность или активность Т-хелперов, например, секреция цитокинов или других факторов. В некоторых вариантах осуществления вместо интактной иммуностимулирующей цепи используется укороченная часть внутриклеточного сигнального домена компонента антигенного рецептора или костимулирующей молекулы, например, если она передает сигнал эффекторной функции. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен или домены включают цитоплазматические последовательности Т-клеточного рецептора (TCR) и, в некоторых аспектах, также последовательности корецепторов, которые в естественных условиях действуют совместно с такими рецепторами, инициируя трансдукцию сигнала после взаимодействия с антигенным рецептором, и/или любые производные или варианты таких молекул, и/или любую синтетическую последовательность, обладающую такой же функциональной способностью.

[0382] В контексте природного TCR для полной активации обычно требуется не

только передача сигналов через TCR, но также и костимулирующего сигнала. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления для стимуляции полной активации в CAR также включают компонент для генерации вторичного или костимулирующего сигнала. В других вариантах осуществления CAR не включает компонент для генерации костимулирующего сигнала. В некоторых аспектах дополнительный CAR экспрессируется в той же клетке и обеспечивает компонент для генерации вторичного или костимулирующего сигнала.

[0383] В некоторых аспектах активация Т-клеток описана как опосредованная двумя классами цитоплазматических сигнальных последовательностей: которые инициируют антиген-зависимую первичную активацию через TCR (первичные цитоплазматические сигнальные последовательности), и которые действуют антиген-независимым образом для обеспечения вторичного или костимулирующего сигнала (вторичные цитоплазматические сигнальные последовательности). В некоторых аспектах CAR включает один или оба таких сигнальных компонента.

[0384] В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен костимулирующей молекулы Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления CAR включает сигнальный домен и/или трансмембранную часть костимулирующего рецептора, такую как CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 и ICOS. В некоторых аспектах один и тот же CAR включает как активирующий, так и костимулирующий компоненты. В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен, происходящий от костимулирующей молекулы Т-клетки, или его функциональный вариант, например, между трансмембранным доменом и внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых аспектах костимулирующей молекулой Т-клетки является CD28 или 41BB.

[0385] В некоторых вариантах осуществления активирующий домен включен в один CAR, тогда как костимулирующий компонент обеспечивается другим CAR, распознающим другой антиген. В некоторых вариантах осуществления CAR включают активирующие или стимулирующие CAR и костимулирующие CAR, оба экспрессируемые на одной и той же клетке (см. WO 2014/055668). В некоторых аспектах клетки включают один или более стимулирующих или активирующих CAR и/или костимулирующих CAR. В некоторых вариантах осуществления клетки дополнительно включают ингибирующие CAR (iCAR, см. Fedorov et al., *Sci. Transl. Medicine*, 5(215) (декабрь 2013 г.), такие как CAR, распознающий антиген, отличный от антигена, ассоциированного с заболеванием или состоянием и/или специфичного для заболевания или состояния, причем активирующий сигнал, доставляемый через CAR, нацеленный на заболевание, ослабляется или подавляется за счет связывания ингибирующего CAR с его лигандом, например, для уменьшения нецелевых эффектов.

[0386] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен содержит трансмембранный CD28 и сигнальный домен, связанный с внутриклеточным доменом CD3 (например, CD3-дзета). В некоторых вариантах осуществления

внутриклеточный сигнальный домен содержит химерные костимулирующие домены CD28 и CD137 (4-1BB, TNFRSF9), связанные с внутриклеточным доменом CD3-дзета.

[0387] В некоторых вариантах осуществления CAR включает в цитоплазматической части один или более, например, два или более, костимулирующих домена и активирующий домен, например первичный активирующий домен. Примеры CAR включают внутриклеточные компоненты CD3-дзета, CD28 и 4-1BB.

[0388] В некоторых вариантах осуществления антигенный рецептор дополнительно включает маркер, и/или клетки, экспрессирующие CAR или другой антигенный рецептор, дополнительно включают суррогатный маркер, такой как маркер клеточной поверхности, который можно использовать для подтверждения трансдукции или создания клетки для экспрессии рецептора. В некоторых аспектах маркер включает весь или часть (например, укороченную форму) CD34, NGFR или рецептор эпидермального фактора роста, например, укороченную версию такого рецептора клеточной поверхности (например, tEGFR). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота, кодирующая маркер, функционально связана с полинуклеотидом, кодирующим линкерную последовательность, такую как расщепляемая линкерная последовательность, например T2A. Например, маркер и необязательно линкерная последовательность могут быть любыми, как описано в опубликованной заявке на патент № WO2014031687. Например, маркер может представлять собой укороченный EGFR (tEGFR), который необязательно связан с линкерной последовательностью, такой как расщепляемая T2A линкерная последовательность. В вариантах осуществления tEGFR содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:51. В некоторых вариантах осуществления tEGFR содержит аминокислотную последовательность, которая на или примерно на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99% идентична последовательности SEQ ID NO:51.

[0389] В некоторых вариантах осуществления маркер представляет собой молекулу, например белок клеточной поверхности, который в природе не встречается на Т-клетках или не детектируется на поверхности Т-клеток, или его часть. В некоторых вариантах осуществления молекула представляет собой чужеродную молекулу, например чужеродный белок, т.е. такой, который не распознается как «собственный» иммунной системой хозяина, для адоптивного переноса которому предназначены клетки.

[0390] В некоторых вариантах осуществления маркер не выполняет терапевтическую функцию и/или не оказывает никакого действия, кроме возможности его использовать в качестве маркера генной инженерии, например для отбора успешно сконструированных клеток. В других вариантах осуществления маркер может представлять собой терапевтическую молекулу или молекулу, иным образом оказывающую некоторый желаемый эффект, например лиганд для клетки, с которой возможен контакт *in vivo*, например костимулирующую молекулу или молекулу иммунной контрольной точки для усиления и/или ослабления ответов клеток при

адоптивным переносе и встрече с лигандом.

[0391] В некоторых случаях CAR называют CAR первого, второго и/или третьего поколения. В некоторых аспектах CAR первого поколения представляет собой CAR, который при связывании антигена обеспечивает только индуцируемый CD3-цепью сигнал; в некоторых аспектах CAR второго поколения представляет собой CAR, который обеспечивает такой сигнал и костимулирующий сигнал, такой как CAR, включающий внутриклеточный сигнальный домен из костимулирующего рецептора, такого как CD28 или CD137; в некоторых аспектах CAR третьего поколения представляет собой CAR, который включает несколько костимулирующих доменов различных костимулирующих рецепторов.

[0392] В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или его фрагмент, раскрытые в настоящем описании, например целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, или анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, как описано, например, в WO 2019/090003 (PCT/US2018/058811) или WO 2016/090320 (PCT/US2015/064112), содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки. В некоторых аспектах химерный антигенный рецептор включает внеклеточную часть, содержащую антитело или его фрагмент, раскрытое в настоящем описании, и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент включает scFv или однодоменное антитело V_H, и внутриклеточный домен содержит ITAM. В некоторых аспектах внутриклеточный сигнальный домен включает сигнальный домен дзета-цепи CD3-дзета (CD3 ζ) цепи. В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор включает трансмембранный домен, расположенный между внеклеточным доменом и внутриклеточной сигнальной областью.

[0393] В некоторых аспектах трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28. Внеклеточный домен и трансмембранный домен могут быть связаны друг с другом непосредственно или опосредованно. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен и трансмембранный домен связаны спейсером, таким как любой из раскрытых в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен костимулирующей молекулы Т-клетки, например, между трансмембранным доменом и внутриклеточным сигнальным доменом. В некоторых аспектах костимулирующей молекулой Т-клетки является CD28 или 4-1BB.

[0394] Например, в некоторых вариантах осуществления CAR содержит антитело, например, фрагмент антитела, трансмембранный домен, который представляет собой или содержит трансмембранную часть CD28 или его функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть CD28 или его функциональный вариант и сигнальную часть CD3-дзета или ее функциональный вариант. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит антитело, например, фрагмент

антитела, трансмембранный домен, который представляет собой или содержит трансмембранную часть CD28 или его функциональный вариант, и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий сигнальную часть 4-1BB или ее функциональный вариант, и сигнальную часть CD3-дзета или ее функциональный вариант. В некоторых таких вариантах осуществления рецептор дополнительно включает спейсер, содержащий часть молекулы Ig, такой как молекула человеческого Ig, например шарнир Ig, например шарнир IgG4, такой как спейсер, состоящий только из шарнира.

[0395] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен рецептора, например CAR, представляет собой трансмембранный домен человеческого CD28 или его вариант, например трансмембранный домен, состоящий из 27 аминокислот человеческого CD28 (инвентарный номер: P10747.1), или представляет собой трансмембранный домен, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:96, или аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична последовательности SEQ ID NO:96.

[0396] В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит внутриклеточный домен костимулирующей молекулы Т-клетки. В некоторых аспектах костимулирующей молекулой Т-клетки является CD28 или 4-1BB.

[0397] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен человеческого CD28 или его функциональный вариант или часть, например домен, состоящий из 41 аминокислоты, и/или такой домен с заменой LL на GG в положениях 186-187 нативного белка CD28. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен может содержать аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:97 или 98, или аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична последовательности SEQ ID NO:97 или 98. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная область содержит внутриклеточный костимулирующий сигнальный домен 4-1BB или его функциональный вариант или его часть, например цитоплазматический домен, состоящий из 42 аминокислот человеческого 4-1BB (регистрационный номер Q07011.1), или его функциональный вариант или часть, например аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:99, или аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична последовательности SEQ ID NO:99.

[0398] В некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область содержит цепь человеческого CD3, необязательно стимулирующий сигнальный домен CD3-дзета или его функциональный вариант, такой как цитоплазматический домен 112 AA изоформы 3 человеческого CD3 ζ (номер доступа: P20963.2) или сигнальный домен CD3-дзета, как описано в патенте США № 7,446,190 или патенте США № 8,911,993. В

некоторых вариантах осуществления внутриклеточная сигнальная область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:100, или аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентична последовательности SEQ ID NO:100.

[0399] В некоторых аспектах спейсер содержит только шарнирную область IgG, например только шарнир IgG4 или IgG1, например, спейсер, состоящий только из шарнира, приведенный в SEQ ID NO:101. В других вариантах осуществления спейсер представляет собой шарнир Ig, например шарнир IgG4, связанный с доменами C_H2 и/или C_H3. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой шарнир Ig, например шарнир IgG4, связанный с доменами C_H2 и C_H3, приведенный в SEQ ID NO:103. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой шарнир Ig, например шарнир IgG4, связанный только с доменом C_H3, такой как приведенный в SEQ ID NO:102. В некоторых вариантах осуществления спейсер представляет собой или содержит богатую глицином-серином последовательность или другой гибкий линкер, такой как известные гибкие линкеры.

[0400] Например, в некоторых вариантах осуществления CAR включает антитело, такое как фрагмент антитела, включая scFv, спейсер, такой как спейсер, содержащий часть молекулы иммуноглобулина, такую как шарнирная область и/или одна или более константных областей молекулы тяжелой цепи, например спейсер, содержащий Ig-шарнир, трансмембранный домен, содержащий весь или часть трансмембранного домена, происходящего от CD28, внутриклеточный сигнальный домен, происходящий от CD28, и сигнальный домен CD3-дзета. В некоторых вариантах осуществления CAR включает антитело или его фрагмент, такой как scFv, спейсер, такой как любой из спейсеров, содержащих Ig-шарнир, трансмембранный домен, происходящий от CD28, внутриклеточный сигнальный домен, происходящий от 4-1BB, и сигнальный домен, происходящий от CD3-дзета.

[0401] В некоторых вариантах осуществления молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие такие конструкции CAR, дополнительно включают последовательность, кодирующую элемент пропуска рибосомы T2A, и/или последовательность tEGFR, например, ниже последовательности, кодирующей CAR. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки, экспрессирующие антигенный рецептор (например, CAR), также могут быть созданы для экспрессии укороченного EGFR (EGFRt) в качестве неиммуногенного эпитопа, полученного в результате селекции (например, путем введения конструкции, кодирующей CAR и EGFRt, разделенных T2A, способствующего переключению рибосомы на экспрессию двух белков из одной и той же конструкции), которые затем можно использовать в качестве маркера для обнаружения таких клеток (см., например, патент США № 8,802,374). В некоторых вариантах осуществления один промотор может управлять экспрессией РНК, которая содержит в одной открытой рамке считывания (ORF) два или три гена (например, кодирующих молекулу, участвующую в

модулировании метаболического пути и кодирующую рекомбинантный рецептор), отделенные друг от друга последовательностями, кодирующими саморасщепляющийся пептид (например, последовательностями 2A) или сайт узнавания протеазы (например, фурин). Таким образом, ORF кодирует один полипептид, который либо во время (в случае 2A), либо после трансляции процессируется в отдельные белки. В некоторых случаях пептид, такой как T2A, может вызывать пропуск рибосомой (рибосомный пропуск) синтеза пептидной связи на С-конце элемента 2A, что приводит к разделению между концом последовательности 2A и расположенным ниже пептидом (см., например, de Felipe. *Genetic Vaccines and Ther.* 2:13 (2004) и deFelipe et al. *Traffic* 5:616-626 (2004)). В данной области техники известно много элементов 2A. Примеры последовательностей 2A, которые можно использовать в раскрытых в настоящем описании способах и нуклеиновых кислотах, включают, без ограничения, последовательности 2A из вируса ящура (F2A, например, SEQ ID NO:132), вируса ринита лошадей А (E2A, например, SEQ ID NO:130), вируса *Thea asigna* (T2A, например, SEQ ID NO:127 или 134) и свиного тешовируса-1 (P2A, например, SEQ ID NO:128 или 129), как описано в публикации патента США № 20070116690.

[0402] Рекомбинантные рецепторы, такие как CAR, экспрессируемые клетками, вводимыми субъекту, обычно распознают или связывают молекулой, которая экспрессируется, ассоциирована и/или является специфичной для заболевания или состояния или клеток, подвергаемых лечению. При связывании, например, специфическом связывании, с молекулой, например антигеном, рецептор обычно передает в клетку иммуностимулирующий сигнал, такой как сигнал, трансдуцированный ITAM, тем самым стимулируя иммунный ответ, направленный на заболевание или состояние. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки экспрессируют CAR, который связывается с антигеном, экспрессируемым клеткой или тканью, пораженной заболеванием или состоянием, или ассоциированным с заболеванием или состоянием. Рецептор может представлять собой другой рецептор, такой как иммуноингибирующий или костимулирующий сигнал рецептор, такой как CCR или iCAR, или несигнальный рецептор, например, для использования при истощении или элиминации клеток с помощью антител.

В. Генно-инженерные клетки и способы получения клеток

[0403] Клетки, экспрессирующие химерные антигенные рецепторы, включают сконструированные клетки. Генная инженерия обычно включает введение нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный или сконструированный компонент, в композицию, содержащую клетки, например, путем ретровирусной трансдукции, трансфекции или трансформации. Различные способы введения генно-инженерных компонентов, например рекомбинантных рецепторов, например CAR, хорошо известны и могут быть использованы. Иллюстративные способы включают способы переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рецепторы, в том числе с помощью вирусов, например ретровирусов или лентивирусов, путем трансдукции, с помощью транспозонов и

электропорации.

1. Векторы и методы генной инженерии

[0404] Также представлены один или более полинуклеотидов (например, молекул нуклеиновых кислот), кодирующих химерные антигенные рецепторы (CAR), векторы для генетической модификации клеток с целью экспрессии таких CAR и способы получения генетически модифицированных клеток. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR. В некоторых случаях вектор представляет собой вирусный вектор, такой как ретровирусный вектор, например лентивирусный вектор или гаммаретровирусный вектор.

[0405] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в клетки с помощью рекомбинантных инфекционных вирусных частиц, таких как, например, векторы, полученные из обезьяньего вируса 40 (SV40), аденовирусов, аденоассоциированного вируса (AAV). В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т-клетки с помощью рекомбинантных лентивирусных векторов или ретровирусных векторов, таких как гамма-ретровирусные векторы (см., например, Koste et al. (2014) *Gene Therapy* 2014 Apr 3. doi: 10.1038/gt. 2014.25; Carlens et al. (2000) *Exp Hematol* 28(10):1137-46; Alonso-Camino et al. (2013) *Mol Ther Nucl Acids* 2, e93; Park et al., *Trends Biotechnol.* 2011 29(11):550-557.

[0406] В некоторых вариантах осуществления ретровирусный вектор имеет длинную терминальную повторяющуюся последовательность (LTR), например, ретровирусный вектор, полученный из вируса мышинного лейкоза Молони (MoMLV), вируса миелопролиферативной саркомы (MPSV), мышинного вируса эмбриональных стволовых клеток (MESV), мышинного вируса стволовых клеток (MSCV), фокус-формирующего вируса селезенки (SFFV) или аденоассоциированного вируса (AAV). Большинство ретровирусных векторов происходят от мышинных ретровирусов. В некоторых вариантах осуществления ретровирусы включают вирусы из любого источника клеток птиц или млекопитающих. Ретровирусы обычно амфотропны, что означает, что они способны инфицировать клетки-хозяева нескольких видов, включая человека. В одном из вариантов осуществления экспрессируемый ген заменяет ретровирусные последовательности gag, pol и/или env. Описан ряд иллюстративных ретровирусных систем (например, в патентах США №№ 5,219,740; 6,207,453; 5,219,740; Miller and Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990; Miller, A.D. (1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14), Scarpa et al. (1991) *Virology* 180:849-852, Burns et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037 и Boris-Lawrie and Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109.

[0407] Известны способы лентивирусной трансдукции. Типичные способы описаны, например, Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35(9):689-701; Cooper et al. (2003) *Blood.* 101:1637-1644; Verhoeven et al. (2009) *Methods Mol Biol.* 506:97-114; и Cavalieri et al. (2003) *Blood.* 102(2):497-505.

[0408] В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т-клетки посредством электропорации (см., например, Chicaubam et

al., (2013) PLoS ONE 8(3):e60298 и Van Tedeloo et al. (2000) Gene Therapy 7(16):1431-1437). В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные нуклеиновые кислоты переносят в Т-клетки посредством транспозиции (см., например, Manuri et al. (2010) Hum Gene Ther 21(4):427-437; Sharma et al. (2013) Molec Ther Nucl Acids 2, e74 и Huang et al. (2009) Methods Mol Biol 506:115-126). Другие способы введения и экспрессии генетического материала в иммунных клетках включают кальций-фосфатную трансфекцию (например, как описано в Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y.), слияние протопластов, опосредованную катионными липосомами трансфекцию; бомбардировку микрочастицами вольфрама (Johnston, Nature, 346:776-777 (1990)); и соосаждение ДНК фосфатом стронция (Brash et al., Mol. Cell Biol., 7:2031-2034 (1987)).

[0409] Другие подходы и векторы для переноса нуклеиновых кислот, кодирующих рекомбинантные продукты, описаны, например, в международной заявке на патент, публикации WO2014055668 и патенте США № 7,446,190.

[0410] В некоторых вариантах осуществления клетки, например Т-клетки, могут быть трансфицированы, например, Т-клеточным рецептором (TCR) или химерным антигенным рецептором (CAR) либо во время, либо после экспансии. Эту трансфекцию для введения гена желаемого рецептора можно осуществить, например, с помощью любого подходящего ретровирусного вектора. Генетически модифицированная клеточная популяция затем может быть освобождена от начального стимула (например, анти-CD3/анти-CD28 стимула) и впоследствии стимулирована стимулом второго типа, например, через введенный *de novo* рецептор. Этот второй тип стимула может включать антигенный стимул в форме пептида/молекулы МНС, родственного (сшивающего) лиганда генетически введенного рецептора (например, природного лиганда CAR) или любого лиганда (такого как антитело), который непосредственно связывается в пределах нового рецептора (например, путем распознавания константных областей внутри рецептора). См., например, Cheadle et al. «Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy», Methods Mol Biol. 2012; 907:645-66 или Barrett et al., Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol. 65:333-347 (2014). В некоторых вариантах осуществления клетки стимулируют представленным антиидиотипическим антителом в соответствии с представленными способами.

[0411] В некоторых случаях можно использовать вектор, который не требует активации клеток, например Т-клеток. В некоторых таких случаях клетки можно отбирать и/или трансдуцировать до активации. Таким образом, клетки могут быть генетически модифицированы до или после их культивирования, а в некоторых случаях генетическая модификация происходит в течение всего процесса культивирования или его части.

[0412] Дополнительные нуклеиновые кислоты, например гены для введения, включают гены для повышения эффективности терапии, например, путем стимуляции жизнеспособности и/или функции перенесенных клеток; гены для обеспечения генетического маркера для отбора и/или оценки клеток, например для оценки выживаемости или локализации *in vivo*; гены для повышения безопасности, например,

делающие клетку восприимчивой к отрицательной селекции *in vivo*, как описано Lupton S.D. et al., *Mol. and Cell Biol.*, 11:6 (1991); и Riddell et al., *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992); см. также публикации PCT/US91/08442 и PCT/US94/05601 Lupton et al., описывающие использование бифункциональных селектируемых слитых генов, полученных путем слияния доминантного положительного селектируемого маркера с негативным селектируемым маркером. См., например, Riddell et al., патент США № 6,040,177, столбцы 14-17.

2. Клетки и подготовка клеток для генной инженерии

[0413] В настоящем описании представлены клетки, в том числе сконструированные клетки, которые содержат химерный антигенный рецептор (CAR). Также представлены популяции таких клеток и композиции, содержащие такие клетки. Композиции включают исходные композиции, содержащие клетки, о которых известно или в которых вероятно одна или более клеток будут экспрессировать рекомбинантный рецептор, который может быть распознан или связан связывающей молекулой, присутствующей на одной или более частицах, с которыми клетки инкубируют или контактируют. Композиции также включают композиции, получаемые представленными способами, в том числе выхольные композиции, в которых содержатся стимулированные или подвергнутые экспансии клетки, включая композиции, обогащенные клетками, содержащими рекомбинантный рецептор, связываемый или распознаваемый связывающей молекулой частицы, например композиции, в которых клетки, экспрессирующие рекомбинантный рецептор, например химерный рецептор, составляют по меньшей 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и более процентов от общего количества клеток в композиции или клеток определенного типа, такого как Т-клетки или CD8⁺ или CD4⁺ клетки. Таким образом, представлены генетически сконструированные клетки, экспрессирующие рекомбинантные рецепторы, например CAR.

[0414] Композиции включают фармацевтические композиции и составы для введения, например, для адоптивной клеточной терапии. Также представлены способы инженерии, получения или генерации таких клеток, терапевтические способы введения клеток и композиций субъектам, например пациентам, и способы детектирования, отбора, выделения или разделения таких клеток.

[0415] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты являются гетерологичными, т.е. обычно не присутствующими в клетке или образце, полученном из клетки, например, они могут быть получены из другого организма или клетки, которые, например, обычно не обнаруживаются в клетке, подвергаемой генетической модификации, и/или организме, из которого получена такая клетка. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты не встречаются в природе, например не встречающаяся в природе нуклеиновая кислота, включая нуклеиновые кислоты, содержащие химерные комбинации нуклеиновых кислот, кодирующих различные домены из множества разных типов клеток.

[0416] Клетки обычно представляют собой эукариотические клетки, такие как

клетки млекопитающих, и обычно представляют собой клетки человека. В некоторых вариантах осуществления клетки, полученные из крови, костного мозга, лимфы или лимфоидных органов, представляют собой клетки иммунной системы, такие как клетки врожденного или адаптивного иммунитета, например, миелоидные или лимфоидные клетки, включая лимфоциты, обычно Т-клетки и/или NK-клетки. Другие иллюстративные клетки включают стволовые клетки, такие как мультипотентные и плюрипотентные стволовые клетки, включая индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC).

[0417] Клетки обычно представляют собой первичные клетки, такие как клетки, выделенные непосредственно из организма субъекта и/или выделенные из организма субъекта и замороженные. В некоторых вариантах осуществления клетки включают одно или более подмножеств Т-клеток или других типов клеток, таких как популяции цельных Т-клеток, CD4+ клетки, CD8+ клетки и их субпопуляции, например, которые определяются функцией, состоянием активации, зрелостью, потенциалом способности к дифференцировке, экспансии, рециркуляции, локализации и/или персистенции, антигенной специфичностью, типом антигенного рецептора, присутствием в конкретном органе или компартменте, маркерным или цитокиновым профилем секреции и/или степенью дифференцировки. Что касается субъекта, подлежащего лечению, клетки могут быть аллогенными и/или аутологичными. Способы включают готовые к применению способы. В некоторых аспектах, таких как готовые к применению способы, клетки являются плюрипотентными и/или мультипотентными, например стволовые клетки, такие как индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). В некоторых вариантах осуществления способы включают выделение клеток из организма субъекта, их подготовку, обработку, культивирование и/или конструирование и повторное введение тому же субъекту до или после криоконсервации.

[0418] Подтипы и субпопуляции Т-клеток и/или CD4+ и/или CD8+ Т-клеток включают наивные Т-клетки (TN), эффекторные Т-клетки (TEFF), Т-клетки памяти и их подтипы, такие как стволовые Т-клетки памяти (TSCM), Т-клетки центральной памяти (TCM), эффекторные Т-клетки памяти (TEM) или терминально дифференцированные эффекторные Т-клетки памяти, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TIL), незрелые Т-клетки, зрелые Т-клетки, хелперные Т-клетки, цитотоксические Т-клетки, ассоциированные со слизистой оболочкой инвариантные Т-клетки (MAIT), встречающиеся в природе и адаптивные регуляторные Т-клетки (Treg), хелперные Т-клетки, такие как клетки TH1, клетки TH2, клетки TH3, клетки TH17, клетки TH9, клетки TH22, фолликулярные Т-хелперы, альфа/бета Т-клетки и дельта/гамма Т-клетки.

[0419] В некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой естественные клетки-киллеры (NK). В некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой моноциты или гранулоциты, например, миелоидные клетки, макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, тучные клетки, эозинофилы и/или базофилы.

[0420] В некоторых вариантах осуществления клетки включают одну или более нуклеиновых кислот, введенных с помощью генной инженерии, и, таким образом,

экспрессируют рекомбинантные или генно-инженерные продукты таких нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты являются гетерологичными, т.е. которые обычно не присутствуют в клетке или образце, полученном из клетки, например, полученными из другого организма или клетки, которые, например, обычно не обнаруживаются в клетке, подвергнутой генетической модификации, и/или организме, из которого получена такая клетка. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновые кислоты не встречаются в природе, например не встречающаяся в природе нуклеиновая кислота, включая нуклеиновые кислоты, содержащие химерные комбинации нуклеиновых кислот, кодирующих различные домены из множества разных типов клеток.

[0421] В некоторых вариантах осуществления получение сконструированных клеток включает один или более этапов культивирования и/или подготовки. Клетки для введения нуклеиновой кислоты, кодирующей трансгенный рецептор, такой как CAR, могут быть выделены из образца, такого как биологический образец, например, полученный или происходящий из организма субъекта. В некоторых вариантах осуществления субъект, из организма которого выделяют клетку, является субъектом, который страдает заболеванием или состоянием или нуждается в клеточной терапии, или которому будет назначена клеточная терапия. Субъектом в некоторых вариантах осуществления является человек, нуждающийся в конкретном терапевтическом вмешательстве, таком как адоптивная клеточная терапия, для которой клетки выделяют, обрабатывают и/или конструируют.

[0422] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой первичные клетки, например, первичные человеческие клетки. Образцы включают образцы тканей, жидкости и другие образцы, взятые непосредственно из организма субъекта, а также образцы, полученные в результате одного или более этапов обработки, таких как разделение, центрифугирование, геновая инженерия (например, трансдукция вирусным вектором), промывка и/или инкубация. Биологический образец может быть образцом, полученным непосредственно из биологического источника, или образцом, прошедшим обработку. Биологические образцы включают, без ограничения, жидкости организма, такие как кровь, плазма, сыворотка, спинномозговая жидкость, синовиальная жидкость, моча и пот, образцы тканей и органов, включая полученные из них обработанные образцы.

[0423] В некоторых аспектах образец, из которого получают или выделяют клетки, представляет собой кровь или образец, полученный из крови, или представляет собой продукт афереза или лейкоафереза или получен из него. Примеры образцов включают цельную кровь, моноклеарные клетки периферической крови (PBMC), лейкоциты, костный мозг, тимус, биопсию ткани, опухоль, лейкемию, лимфому, лимфатический узел, лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником, лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистой оболочкой, селезенку, другие лимфоидные ткани, печень, легкое, желудок, кишечник, толстую кишку, почку, поджелудочную железу, грудь, кость,

предстательную железу, шейку матки, яички, яичники, миндалину или другой орган и/или клетки, полученные из них. В контексте клеточной терапии, например адоптивной клеточной терапии, образцы включают образцы из аутологичных и аллогенных источников.

[0424] В некоторых вариантах осуществления клетки происходят от клеточных линий, например, Т-клеточных линий. В некоторых вариантах осуществления клетки получают из ксеногенного источника, например, от мыши, крысы, примата, отличного от человека, и свиньи.

[0425] В некоторых вариантах осуществления выделение клеток включает один или более этапов подготовки и/или разделения клеток, не основанное на аффинности. В некоторых примерах клетки промывают, центрифугируют и/или инкубируют в присутствии одного или более реагентов, например, для удаления нежелательных компонентов, обогащения желательными компонентами, лизиса или удаления клеток, чувствительных к определенным реагентам. В некоторых примерах клетки разделяют на основе одного или более свойств, таких как плотность, адгезионные свойства, размер, чувствительность и/или устойчивость к определенным компонентам.

[0426] В некоторых примерах клетки из циркулирующей крови субъекта получают, например, методом афереза или лейкоафереза. Образцы в некоторых аспектах содержат лимфоциты, включая Т-клетки, моноциты, гранулоциты, В-клетки, другие ядерные лейкоциты, эритроциты и/или тромбоциты, и в некоторых аспектах содержат клетки, отличные от эритроцитов и тромбоцитов. В некоторых вариантах осуществления перед отбором и/или обогащением клеток образец или клетки в образце можно хранить или поддерживать до дальнейших этапов обработки. В некоторых вариантах осуществления образец хранят или поддерживают при температуре от или примерно от 2°C до 8°C в течение до 48 часов, например, до 12 часов, 24 часов или 36 часов. В некоторых вариантах осуществления клетки не отбирают и/или не обогащают перед приведением клеток в контакт с одной или более нуклеиновыми кислотами. В некоторых вариантах осуществления образец или клетки можно оставить в покое или поддерживать до момента приведения клеток в контакт или инкубирования с одной или более нуклеиновыми кислотами. В некоторых вариантах осуществления перед приведением в контакт или инкубированием клеток с одной или более нуклеиновыми кислотами образец поддерживают при температуре от или примерно от 2°C до 8°C в течение до 48 часов, например до 12 часов, 24 часов или 36 часов.

[0427] В некоторых вариантах осуществления клетки крови, собранные у субъекта, промывают, например, для удаления фракции плазмы, и клетки помещают в соответствующий буфер или среду для последующих этапов обработки. В некоторых вариантах осуществления клетки промывают фосфатно-солевым буфером (PBS). В некоторых вариантах осуществления в промывочном растворе отсутствует кальций и/или магний, и/или многие или все двухвалентные катионы. В некоторых аспектах этап промывки выполняют в полуавтоматической «проточной» центрифуге (например,

клеточном процессоре Cobe 2991, Baxter) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых аспектах этап промывки выполняют путем фильтрации с тангенциальным потоком (TFF) в соответствии с инструкциями производителя. В некоторых вариантах осуществления после промывки клетки ресуспендируют в различных биосовместимых буферах, таких как, например, PBS, не содержащем $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$. В некоторых вариантах осуществления компоненты образца клеток крови удаляют, а клетки непосредственно ресуспендируют в культуральной среде.

[0428] В некоторых вариантах осуществления способы включают способы разделения клеток на основе плотности, такие как получение лейкоцитов из периферической крови путем лизиса эритроцитов и центрифугирования в градиенте Перколла или Фиколла.

[0429] В некоторых вариантах осуществления способы выделения включают разделение различных типов клеток на основе экспрессии или присутствия в клетке одной или более специфических молекул, таких как поверхностные маркеры, например, поверхностные белки, внутриклеточные маркеры или нуклеиновая кислота. В некоторых вариантах осуществления можно использовать любой известный способ разделения на основе таких маркеров. В некоторых вариантах осуществления разделение представляет собой разделение по аффинности или иммуноаффинности. Например, в некоторых аспектах выделение включает разделение клеток и клеточных популяций на основе клеточной экспрессии или уровня экспрессии одного или более маркеров, обычно маркеров клеточной поверхности, например, путем инкубации с антителом или партнером по связыванию, которые связываются с таким маркером, обычно с последующим этапом промывки и отделением клеток, связавшихся с антителом или партнером по связыванию, от клеток, не связавшихся с антителом или партнером по связыванию.

[0430] Такие этапы разделения могут быть основаны на положительной селекции, при которой клетки, связавшиеся с реагентами, сохраняют для дальнейшего использования, и/или отрицательной селекции, при которой сохраняют клетки, не связавшиеся с антителом или партнером по связыванию. В некоторых примерах для дальнейшего использования сохраняют обе фракции. В некоторых аспектах, когда нет доступных антител, которые идентифицируют тип клеток в гетерогенной популяции, отрицательная селекция может быть особенно полезной, в этом случае разделение лучше всего выполнять на основе маркеров, экспрессируемых клетками, отличными от желаемой популяции.

[0431] Разделение не обязательно должно приводить к 100% обогащению или удалению конкретной клеточной популяции или клеток, экспрессирующих конкретный маркер. Например, положительная селекция или обогащение клеток определенного типа, таких как клетки, экспрессирующие маркер, относится к увеличению количества или процента таких клеток, но не обязательно приводит к полному отсутствию клеток, не экспрессирующих маркер. Аналогичным образом, отрицательная селекция, удаление или истощение клеток определенного типа, таких как клетки, экспрессирующие маркер,

относится к уменьшению количества или процента таких клеток, но не обязательно приводит к полному удалению всех таких клеток.

[0432] В некоторых примерах выполняют несколько циклов этапов разделения, при которых положительно или отрицательно отобранную фракцию с одного этапа подвергают другому этапу разделения, например последующей положительной или отрицательной селекции. В некоторых примерах на одном этапе разделения может происходить истощение клеток, экспрессирующих несколько маркеров одновременно, например, путем инкубации клеток с множеством антител или партнеров по связыванию, каждый из которых специфичен в отношении маркера, предназначенного для отрицательной селекции. Аналогичным образом, можно одновременно отобрать несколько типов клеток методом положительной селекции путем инкубации клеток с множеством антител или партнеров по связыванию, экспрессируемых на различных типах клеток.

[0433] Например, в некоторых аспектах конкретные субпопуляции Т-клеток, такие как клетки, положительные или экспрессирующие высокие уровни одного или более поверхностных маркеров, например CD28⁺, CD62L⁺, CCR7⁺, CD27⁺, CD127⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺ и/или CD45RO⁺ Т-клетки, выделяют методами положительной или отрицательной селекции.

[0434] Например, CD3⁺, CD28⁺ Т-клетки могут быть положительно отобраны с помощью CD3/CD28-конъюгированных магнитных гранул (например, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander). В конкретных вариантах осуществления клетки приводят в контакт с конъюгированными магнитными анти-CD3/анти-CD28 гранулами (например, DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T Cell Expander) для экспансии CD3⁺, CD28⁺ Т-клеток перед приведением клеток в контакт с одной или более нуклеиновыми кислотами. В некоторых вариантах осуществления перед приведением клеток в контакт с одной или более нуклеиновыми кислотами клетки не контактируют с анти-CD3/анти-CD28-конъюгированными магнитными гранулами.

[0435] В некоторых вариантах осуществления выделение осуществляют путем обогащения конкретной клеточной популяции с помощью положительного отбора или истощения конкретной клеточной популяции с помощью отрицательного отбора. В некоторых вариантах осуществления положительную или отрицательную селекцию осуществляют путем инкубации клеток с одним или более антителами или другим связывающим агентом, которые связываются с одним или более поверхностными маркерами, экспрессируемыми или экспрессируемыми (marker⁺) на относительно более высоком уровне (marker^{high}) на положительно или отрицательно отобранных клетках, соответственно.

[0436] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки выделяют из образца РВМС путем отрицательной селекции маркеров, экспрессируемых на клетках, не являющихся Т-клетками, таких как В-клетки, моноциты или другие лейкоциты, такие как CD14. В некоторых аспектах этап селекции CD4⁺ или CD8⁺ используется для разделения

CD4⁺ хелперных и CD8⁺ цитотоксических Т-клеток. Такие CD4⁺ и CD8⁺ популяции могут быть дополнительно отсортированы на субпопуляции с помощью положительного или отрицательного отбора маркеров, экспрессируемых или экспрессируемых на относительно более высоком уровне в одной или более субпопуляциях наивных Т-клеток, клеток памяти и/или эффекторных Т-клеток.

[0437] В некоторых вариантах осуществления клетки CD8⁺ дополнительно обогащают или истощают по наивным клеткам центральной памяти, эффекторной памяти и/или стволовым клеткам центрального типа, например, путем положительной или отрицательной селекции на основе поверхностных антигенов, связанных с соответствующей субпопуляцией. В некоторых вариантах осуществления обогащение Т-клетками центральной памяти (TCM) осуществляют для повышения эффективности, например, для улучшения долгосрочной выживаемости, экспансии и/или приживления трансплантата после введения, который в некоторых аспектах является особенно устойчивым в таких субпопуляциях. См. Terakura et al. (2012) *Blood*. 1:72-82; Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35(9):689-701. В некоторых вариантах осуществления комбинирование TCM-обогащенных CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺ Т-клеток дополнительно повышает эффективность.

[0438] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки памяти присутствуют как в CD62L⁺, так и в CD62L⁻ подмножествах CD8⁺ лимфоцитов периферической крови. PBMC можно обогатить или истощить по фракциям CD62L-CD8⁺ и/или CD62L⁺CD8⁺, например, с помощью ани-CD8 и анти-CD62L антител.

[0439] В некоторых вариантах осуществления обогащение Т-клетками центральной памяти (TCM) основано на положительной экспрессии или высоком уровне экспрессии поверхностных CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 и/или CD 127; в некоторых аспектах оно основано на отрицательной селекции клеток, экспрессирующих или высокоэкспрессирующих CD45RA и/или гранзим В. В некоторых аспектах выделение популяции CD8⁺, обогащенной клетками TCM, выполняют путем истощения клеток, экспрессирующих CD4, CD14, CD45RA, и положительной селекции или обогащения клеток, экспрессирующих CD62L. В одном из аспектов обогащение Т-клеток центральной памяти (TCM) осуществляют, начиная с отрицательной фракции клеток, отобранной на основе экспрессии CD4, которую подвергают отрицательной селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA и положительной селекции на основе CD62L. В некоторых аспектах такую селекцию выполняют одновременно, а в других аспектах последовательно, в любом порядке. В некоторых аспектах этот же этап селекции на основе экспрессии CD4, который используется при получении популяции или субпопуляции клеток CD8⁺, также используется для получения популяции или субпопуляции клеток CD4⁺, так что как положительные, так и отрицательные фракции после разделения на основе CD4 сохраняют и используют на последующих этапах способов, необязательно после одного или более дополнительных этапов положительной или отрицательной селекции.

[0440] В конкретном примере образец PBMC или другой образец лейкоцитов подвергают отбору на CD4⁺ клетки, при этом сохраняют как отрицательные, так и положительные фракции. Отрицательную фракцию затем подвергают отрицательной селекции на основе экспрессии CD14 и CD45RA и положительной селекции на основе характеристики маркеров Т-клеток центральной памяти, таких как CD62L или CCR7, где положительную и отрицательную селекции выполняют в любом порядке.

[0441] CD4⁺ Т-хелперные клетки сортируют на наивные клетки, клетки центральной памяти и эффекторные клетки путем идентификации клеточных популяций, которые имеют антигены клеточной поверхности. CD4⁺ лимфоциты можно получить стандартными методами. В некоторых вариантах осуществления наивные CD4⁺ Т-лимфоциты представляют собой CD45RO⁻, CD45RA⁺, CD62L⁺, CD4⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления CD4⁺ клетки центральной памяти представляют собой CD62L⁺ и CD45RO⁺. В некоторых вариантах осуществления эффекторные клетки CD4⁺ представляют собой клетки CD62L⁻ и CD45RO⁻.

[0442] В одном из примеров для обогащения клеток CD4⁺ с помощью отрицательной селекции смесь моноклональных антител обычно включает антитела к CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR и CD8. В некоторых вариантах осуществления антитело или партнер по связыванию иммобилизованы на твердой подложке или матрице, такой как магнитная гранула или парамагнитная гранула для обеспечения разделения клеток для положительной и/или отрицательной селекции. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки и клеточные популяции разделяют или выделяют методом иммуномагнитного (или аффинно-магнитного) разделения (рассмотрено в *Methods in Molecular Medicine*, vol. 58: *Metastasis Research Protocols*, Vol. 2: *Cell Behavior In Vitro и In Vivo*, p. 17-25 Edited by: S.A. Brooks and U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

[0443] В некоторых аспектах образец или композицию клеток, подлежащих отделению, инкубируют с малым по размеру, намагничиваемым или магниточувствительным материалом, таким как магниточувствительные гранулы или микрочастицы, такие как парамагнитные гранулы (например, такие как гранулы Dynabeads или MACS). Магниточувствительный материал, например гранулу, как правило, непосредственно или опосредованно присоединяют к партнеру по связыванию, например антителу, которое связывается с молекулой, например поверхностным маркером, присутствующим на клетке, клетках или популяции клеток, которые желательно отделить, например, которые желательно подвергнуть отрицательной или положительной селекции.

[0444] В некоторых вариантах осуществления магнитная частица или гранула содержит магниточувствительный материал, связанный со специфическим связывающим элементом, таким как антитело или другой партнер по связыванию. Существует много хорошо известных магниточувствительных материалов, используемых в методах магнитной сепарации. Подходящие магнитные частицы включают частицы, описанные в

Molday, патент США № 4,452,773 и в описании европейского патента EP 452342 B, которые включены в настоящее описание посредством ссылки. Частицы коллоидного размера, такие как описанные в Owen, патент США 4,795,698, и Liberti et al., патент США № 5,200,084, являются другим примером.

[0445] Инкубацию обычно выполняют в условиях, при которых антитела или партнеры по связыванию, или молекулы, такие как вторичные антитела или другие реагенты, которые связываются с такими антителами или партнерами по связыванию, присоединенными к магнитной частице или грануле, связываются с молекулами клеточной поверхности, если таковые присутствуют на клетках в образце.

[0446] В некоторых аспектах образец помещают в магнитное поле, и те клетки, к которым присоединены магниточувствительные или намагничиваемые частицы, будут притягиваться к магниту и отделяться от немеченых клеток. При положительной селекции сохраняют клетки, притянувшиеся к магниту; при отрицательной селекции сохраняют клетки, не притянувшиеся (немеченые клетки) к магниту. В некоторых аспектах на одном и том же этапе отбора выполняют комбинацию положительной и отрицательной селекции, при этом положительные и отрицательные фракции сохраняют и подвергают дальнейшей обработке или подвергают дополнительным этапам разделения.

[0447] В некоторых вариантах осуществления магниточувствительные частицы покрыты первичными антителами или другими партнерами по связыванию, вторичными антителами, лектинами, ферментами или стрептавидином. В некоторых вариантах осуществления магнитные частицы прикрепляют к клеткам благодаря покрытию из первичных антител, специфичных к одному или более маркерам. В некоторых вариантах осуществления первичным антителом или партнером по связыванию метят клетки, а не гранулы, и затем добавляют магнитные частицы, покрытые специфичным для этого типа клеток вторичным антителом или другим партнером по связыванию (например, стрептавидином). В некоторых вариантах осуществления магнитные частицы, покрытые стрептавидином, используют в комбинации с биотинилированными первичными или вторичными антителами.

[0448] В некоторых вариантах осуществления магниточувствительные частицы оставляют прикрепленными к клеткам, которые затем инкубируют, культивируют и/или подвергают методам инженерии; в некоторых аспектах частицы оставляют прикрепленными к клеткам для введения пациенту. В некоторых вариантах осуществления из клеток удаляют намагничиваемые или магниточувствительные частицы. Способы удаления из клеток намагничиваемых частиц известны и включают, например, использование конкурирующих немеченых антител и намагничиваемых частиц или антител, конъюгированных с расщепляемыми линкерами. В некоторых вариантах осуществления намагничиваемые частицы являются биоразлагаемыми.

[0449] В некоторых вариантах осуществления селекцию по аффинности осуществляют посредством магнитно-активируемой сортировки клеток (MACS) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Системы магнитно-активируемой сортировки клеток (MACS)

обеспечивают селекцию клеток с прикрепленными к ним намагниченными частицами с высокой степенью чистоты. В некоторых вариантах осуществления MACS работает в режиме, при котором нецелевые и целевые частицы последовательно элюируют после приложения внешнего магнитного поля. Иными словами, клетки, прикрепленные к намагниченным частицам, удерживаются на месте, в то время как неприсоединенные частицы элюируются. Затем, после завершения этого первого этапа элюирования, вещества, которые были захвачены магнитным полем и не были элюированы, высвобождают определенным способом с тем, чтобы их можно было элюировать с последующим извлечением. В некоторых вариантах осуществления клетки, не являющиеся мишенями, метят и удаляют из гетерогенной популяции клеток.

[0450] В некоторых вариантах осуществления выделение или разделение осуществляют с помощью системы, устройства или аппарата, которые выполняют один или более этапов выделения, подготовки, разделения, обработки, инкубации, культивирования клеток и/или приготовления составов. В некоторых аспектах систему используют для выполнения каждого из этих этапов в закрытой или стерильной среде, например, для сведения к минимуму ошибок, вмешательства пользователя и/или загрязнения. В одном из примеров система представляет собой систему, описанную в международной заявке на патент с номером публикации WO2009/072003 или US 20110003380 A1. В одном из примеров система представляет собой систему, описанную в международной публикации WO2016/073602.

[0451] В некоторых вариантах осуществления система или устройство выполняет один или более, например, все этапы выделения, обработки, инженерии и приготовления составов в интегрированной или автономной системе и/или автоматизированным или программируемым образом. В некоторых аспектах система или устройство включает компьютер и/или компьютерную программу, связанную с системой или устройством, что позволяет пользователю программировать, контролировать, оценивать результат и/или настраивать различные аспекты этапов обработки, выделения, конструирования и получения состава.

[0452] В некоторых аспектах разделение и/или другие этапы осуществляют с помощью системы CliniMACS (Miltenyi Biotec), например, для автоматического разделения клеток на клиническом уровне в закрытой и стерильной системе. Компоненты могут включать встроенный микрокомпьютер, блок магнитной сепарации, перистальтический насос и различные пережимные клапаны. Встроенный компьютер в некоторых аспектах управляет всеми компонентами прибора и направляет систему на выполнение повторяющихся процедур в стандартной последовательности. Блок магнитной сепарации в некоторых аспектах включает подвижный постоянный магнит и держатель для селекционной колонки. Перистальтический насос регулирует скорость потока по всему набору трубок и вместе с пережимными клапанами обеспечивает контролируемый поток буфера через систему и непрерывное поддержание клеток во взвешенном состоянии.

[0453] В системе CliniMACS в некоторых аспектах используют связанные с антителом намагничиваемые частицы, которые поставляют в стерильном апиrogenном растворе. В некоторых вариантах осуществления после мечения клеток магнитными частицами клетки промывают для удаления избыточных частиц. Мешок для подготовки клеток затем соединяют с набором трубок, который, в свою очередь, соединяют с мешком, содержащим буфер, и мешком для сбора клеток. Набор трубок состоит из предварительно собранных стерильных трубок, включая предварительную колонку и разделительную колонку, и предназначен только для одноразового использования. После запуска программы разделения система автоматически наносит образец клеток на разделительную колонку. Меченые клетки остаются в колонке, а немеченые удаляются с помощью серии промывок. В некоторых вариантах осуществления клеточные популяции для использования в способах, описанных в настоящем документе, являются немечеными и не удерживаются в колонке. В некоторых вариантах осуществления клеточные популяции для использования в способах, описанных в настоящем документе, являются мечеными и удерживаются в колонке. В некоторых вариантах осуществления популяции клеток для использования в способах, описанных в настоящем документе, элюируют из колонки после удаления магнитного поля и собирают в мешок для сбора клеток.

[0454] В некоторых вариантах осуществления разделение и/или другие этапы осуществляют с помощью системы CliniMACS Prodigy (Miltenyi Biotec). Система CliniMACS Prodigy в некоторых аспектах оснащена блоком обработки клеток, который позволяет автоматически промывать и фракционировать клетки путем центрифугирования. Система CliniMACS Prodigy также может включать встроенную камеру и программное обеспечение для распознавания изображений, которое определяет оптимальную конечную точку фракционирования клеток путем распознавания макроскопических слоев исходного клеточного продукта. Например, периферическая кровь автоматически разделяется на эритроциты, лейкоциты и слои плазмы. Система CliniMACS Prodigy также может включать встроенную камеру для культивирования клеток, которая выполняет протоколы культивирования клеток, такие как, например, дифференцировка и экспансия клеток, загрузка антигена и длительное культивирование клеток. Входные порты могут обеспечить стерильное удаление и пополнение среды, а клетки можно контролировать с помощью встроенного микроскопа. См., например, Klebanoff et al. (2012) *J. Immunother.* 35(9):651-660, Terakura et al. (2012) *Blood* 117:72-82, и Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35(9):689-701.

[0455] В некоторых вариантах осуществления популяцию клеток, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) методом проточной цитометрии, при котором клетки, окрашенные на многочисленные маркеры клеточной поверхности, переносят потоком жидкости. В некоторых вариантах осуществления популяцию клеток, описанную в настоящем документе, собирают и обогащают (или истощают) путем сортировки в препаративном масштабе (FACS). В некоторых вариантах осуществления популяцию клеток, описанную в настоящем документе, собирают и

обогащают (или истощают) с помощью микрочипов микроэлектромеханических систем (МЭМС) в комбинации с системой обнаружения на основе FACS (см., например, WO 2010/033140, Cho et al. (2010) Lab Chip 10, 1567-1573 и Godin et al. (2008) J Biophoton 1(5):355-376. В обоих случаях клетки могут быть мечены несколькими маркерами, что позволяет выделить четко определенные субпопуляции Т-клеток с высокой чистотой.

[0456] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела или партнеры по связыванию метят одним или более детектируемыми маркерами для облегчения разделения для положительной и/или отрицательной селекции. Например, разделение может быть основано на связывании с флуоресцентно мечеными антителами. В некоторых примерах разделение клеток на основе связывания антител или других партнеров по связыванию, специфичных для одного или более маркеров клеточной поверхности, осуществляют в потоке жидкости, например, с помощью активируемой флуоресценцией сортировки клеток (FACS), включая препаративный режим (FACS), и/или микрочипы микроэлектромеханических систем (MEMS), например, в комбинации с системой обнаружения на основе проточной цитометрии. Такие методы позволяют осуществлять положительную и отрицательную селекцию одновременно на основе нескольких маркеров.

[0457] В некоторых вариантах осуществления способы подготовки включают этапы заморозки, например, криоконсервации клеток до или после выделения, инкубации и/или инженерии. В некоторых вариантах осуществления этап заморозки и последующего оттаивания позволяет удалять из клеточной популяции гранулоциты и, в некоторой степени, моноциты. В некоторых вариантах осуществления клетки суспендируют в растворе для заморозки, например, после этапа промывки для удаления плазмы и тромбоцитов. В некоторых аспектах можно использовать любой из множества известных растворов и параметров заморозки. Один из примеров включает использование PBS, содержащего 20% DMSO и 8% человеческого сывороточного альбумина (HSA), или других подходящих сред для заморозки клеток. Затем его разбавляют средой 1:1 так, чтобы конечные концентрации DMSO и HSA составляли 10% и 4%, соответственно. Затем клетки обычно замораживают до -80°C со скоростью 1°C в минуту и хранят в паровой фазе резервуара для хранения жидкого азота.

[0458] В некоторых вариантах осуществления клетки инкубируют и/или культивируют до или в связи с генной инженерией. Этапы инкубации могут включать получение культур, культивирование, стимуляцию, активацию и/или размножение. Инкубацию и/или инженерию можно выполнять в сосуде для культивирования, таком как блок, камера, лунка, колонка, пробирка, набор трубок, клапан, флакон, чашка для культивирования, мешок или другой контейнер для получения культур или культивирования клеток. В некоторых вариантах осуществления композиции или клетки инкубируют в стимулирующих условиях или в присутствии стимулирующего агента. Такие условия включают условия, предназначенные для индуцирования пролиферации, экспансии, активации и/или выживания клеток в популяции, для имитации воздействия

антигена и/или для подготовки клеток к генной инженерии, такой как введение рекомбинантного антигенного рецептора.

[0459] Условия могут включать одно или более из: конкретные среды, температуру, содержание кислорода, содержание диоксида углерода, время, агенты, например питательные вещества, аминокислоты, антибиотики, ионы и/или стимулирующие факторы, такие как цитокины, хемокины, антигены, партнеры по связыванию, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы и любые другие агенты, предназначенные для активации клеток.

[0460] В некоторых вариантах осуществления стимулирующие условия или агенты включают один или более агентов, например, лиганд, который способен активировать внутриклеточный сигнальный домен комплекса TCR. В некоторых аспектах средство включает или инициирует внутриклеточный сигнальный каскад TCR/CD3 в Т-клетке. Такие агенты могут включать антитела, такие как антитела, специфичные к TCR, т.е. анти-CD3. В некоторых вариантах осуществления стимулирующие условия включают один или более агентов, например лиганд, способный стимулировать костимулирующий рецептор, например анти-CD28. В некоторых вариантах осуществления такие агенты и/или лиганды могут быть связаны с твердой подложкой, такой как гранула, и/или с одним или более цитокинами. Необязательно, способ экспансии может дополнительно включать этап добавления в культуральную среду анти-CD3 и/или анти-CD28 антитела (например, в концентрации по меньшей мере примерно 0,5 нг/мл). В некоторых вариантах осуществления стимулирующие агенты включают IL-2, IL-15 и/или IL-7. В некоторых аспектах концентрация IL-2 составляет по меньшей мере примерно 10 единиц/мл.

[0461] В некоторых аспектах инкубацию осуществляют в соответствии с методами, например, описанными в патенте США № 6,040,177 Riddell et al., Klebanoff et al. (2012) J. Immunother. 35(9):651-660, Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82 и/или Wang et al. (2012) J. Immunother. 35(9):689-701.

[0462] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки подвергают экспансии путем добавления к композиции, инициирующей культивирование, фидерных клеток, таких как неделящиеся моноклеарные клетки периферической крови (РВМС) (например, таким образом, чтобы полученная популяция клеток содержала по меньшей мере примерно 5, 10, 20 или 40 или более фидерных клеток РВМС на каждый Т-лимфоцит в исходной подвергнутой экспансии популяции); и инкубирование культуры (например, в течение времени, достаточного для увеличения количества Т-клеток). В некоторых аспектах неделящиеся фидерные клетки могут содержать фидерные клетки РВМС, облученные гамма-излучением. В некоторых вариантах осуществления РВМС облучают гамма-лучами в диапазоне примерно от 3000 до 3600 рад для предотвращения деления клеток. В некоторых аспектах фидерные клетки добавляют в культуральную среду перед добавлением популяций Т-клеток.

[0463] В некоторых вариантах осуществления стимулирующие условия включают температуру, подходящую для роста Т-лимфоцитов человека, например, по меньшей мере

примерно 25 градусов Цельсия, обычно по меньшей мере примерно 30 градусов и обычно примерно 37 градусов Цельсия. Необязательно, инкубация может дополнительно включать добавление неделящихся EBV-трансформированных лимфобластоидных клеток (LCL) в качестве фидерных клеток. LCL можно облучать гамма-лучами в диапазоне примерно от 6000 до 10000 рад. Фидерные клетки LCL в некоторых аспектах представлены в любом подходящем количестве, например в соотношении фидерных клеток LCL к исходным Т-лимфоцитам, составлявшем по меньшей мере примерно 10:1.

III. КОМПОЗИЦИИ

[0464] Также представлены композиции, включающие связывающие молекулы, такие как антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, представленные в настоящем описании, включая фармацевтические композиции и составы. Также представлены композиции, включающие антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, представленные в настоящем описании, в том числе фармацевтические композиции и составы. Композиции и составы обычно включают один или более необязательных приемлемых носителей или вспомогательных веществ.

[0465] Термин «фармацевтический состав» относится к препарату, который находится в такой форме, которая обеспечивает эффективную биологическую активность содержащегося в нем активного ингредиента, и который не содержит дополнительных компонентов, являющихся неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет введен этот состав.

[0466] «Фармацевтически приемлемый носитель» относится к ингредиенту фармацевтического состава, отличному от активного ингредиента, который нетоксичен для субъекта. Фармацевтически приемлемый носитель включает, без ограничения, буфер, вспомогательное вещество, стабилизатор или консервант.

[0467] В некоторых аспектах выбор носителя отчасти определяется конкретной клеткой, связывающей молекулой и/или антителом, и/или способом введения. Соответственно, существует множество подходящих составов. Например, фармацевтическая композиция может содержать консерванты. Подходящие консерванты могут включать, например, метилпарабен, пропилпарабен, бензоат натрия и бензалкония хлорид. В некоторых аспектах используется смесь двух или более консервантов. Консервант или их смеси обычно присутствуют в количестве от примерно 0,0001% до примерно 2% по массе от общей массы композиции. Носители описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980). Фармацевтически приемлемые носители обычно нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают, без ограничения: буферы, такие как фосфатный, цитратный и других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецил-диметилбензиламмония хлорид, гексаметония хлорид, бензалкония хлорид, бензетония хлорид, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее примерно 10 остатков) полипептиды;

белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (PEG).

[0468] В некоторых аспектах в композиции включены буферные агенты. Подходящие буферные агенты включают, например, лимонную кислоту, цитрат натрия, фосфорную кислоту, фосфат калия и другие различные кислоты и соли. В некоторых аспектах используется смесь двух или более буферных агентов. Буферный агент или их смеси обычно присутствуют в количестве от примерно 0,001% до примерно 4% по массе от общей массы композиции. Способы приготовления подходящих для введения фармацевтических композиций известны. Типичные способы более подробно описаны, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (1 мая 2005 г.).

[0469] В некоторых аспектах композиция может содержать консерванты. Подходящие консерванты могут включать, например, метилпарабен, пропилпарабен, бензоат натрия и бензалкония хлорид. В некоторых аспектах используется смесь двух или более консервантов. Консервант или их смеси обычно присутствуют в количестве от примерно 0,0001% до примерно 2% по массе от общей массы композиции. Носители описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980). Приемлемые носители включают, без ограничения: буферы, такие как фосфатный, цитратный и других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецил-диметилбензиламмония хлорид, гексаметония хлорид, бензалкония хлорид, бензетония хлорид, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее примерно 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как полиэтиленгликоль (PEG).

[0470] Составы антител могут включать лиофилизированные составы и водные растворы.

[0471] В некоторых вариантах осуществления композиции представлены в виде стерильных жидких препаратов, например, изотонических водных растворов, суспензий,

эмульсий, дисперсий или вязких композиций, которые в некоторых аспектах могут быть забуферены до выбранного pH. Жидкие препараты обычно более просты в приготовлении, чем гели, другие вязкие композиции и твердые композиции. Кроме того, жидкие композиции более удобны для введения, особенно путем инъекции. Вязкие композиции, с другой стороны, могут быть составлены в пределах соответствующего диапазона вязкости, что обеспечивает более длительные периоды контакта с конкретными тканями. Жидкие или вязкие композиции могут содержать носители, которые могут представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, физиологический раствор, фосфатно-солевой буфер, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси.

[0472] Стерильные растворы для инъекций можно приготовить путем включения связывающей молекулы в растворитель, например, путем смешивания с подходящим носителем, разбавителем или наполнителем, таким как стерильная вода, физиологический раствор, глюкоза, декстроза и т.п. Композиции также могут быть лиофилизированы. Композиции могут содержать вспомогательные вещества, такие как смачивающие, диспергирующие или эмульгирующие агенты (например, метилцеллюлозу), pH-буферные агенты, гелеобразующие или повышающие вязкость добавки, консерванты, ароматизаторы, красители и т.п., в зависимости от желаемого пути введения и способа введения. В некоторых аспектах можно обращаться к стандартным руководствам по приготовлению подходящих препаратов.

[0473] Могут быть добавлены различные добавки, повышающие стабильность и стерильность композиций, включая противомикробные консерванты, антиоксиданты, хелатирующие агенты и буферы. Защита от воздействия микроорганизмов может быть обеспечена различными антибактериальными и противогрибковыми средствами, например парабенами, хлорбутанолом, фенолом, сорбиновой кислотой и т.п. Длительное всасывание инъекционной лекарственной формы может быть обеспечено применением средств, замедляющих всасывание, например моностеарата алюминия и желатина.

[0474] Композиции также могут быть лиофилизированы. Композиции могут содержать вспомогательные вещества, такие как смачивающие, диспергирующие или эмульгирующие агенты (например, метилцеллюлозу), pH-буферные агенты, гелеобразующие или повышающие вязкость добавки, консерванты, красители и т.п. В некоторых аспектах можно обращаться к стандартным руководствам по приготовлению подходящих препаратов.

[0475] Составы, используемые для введения *in vivo*, обычно стерильны. Стерильность может быть легко достигнута, например, путем фильтрации через стерильные фильтрационные мембраны.

IV. СПОСОБЫ И ПРИМЕНЕНИЕ

[0476] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе представлены способы, включающие применение одного или более антиидиотипических антител. В некоторых аспектах в настоящем описании представлены способы измерения

или детектирования целевого антитела, такого как CAR или клетка, экспрессирующая CAR, и способы модификации активности целевого антитела, такой как активность CAR или активность клетки, экспрессирующей CAR. В некоторых аспектах в настоящем описании представлены способы измерения или детектирования целевого антитела, такого как CAR или клетка, экспрессирующая CAR. В некоторых вариантах осуществления одно или более антиидиотипических антител используют для связывания, детектирования, идентификации, очистки, отбора и/или определения количества CAR и/или клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых аспектах в настоящем описании также представлены способы модификации активности целевого антитела, такой как активность CAR или активность клетки, экспрессирующей CAR. В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в настоящем описании, содержат один или более этапов контактирования и/или инкубации одного или более антиидиотипических антител с клеткой или образцом, содержащим или предположительно содержащим клетки, которые экспрессируют химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело обрабатывают, инкубируют и/или приводят в контакт с композицией или образцом в условиях, которые обеспечивают образование комплекса между антиидиотипическим антителом и целевым антителом, например CAR. В некоторых аспектах комплекс можно использовать для детектирования, выделения и/или измерения CAR. В некоторых вариантах осуществления образование комплекса модифицирует активность целевого антитела, например CAR, например, путем стимуляции сигнальной активности рецептора, или в некоторых вариантах осуществления образование комплекса противодействует активности целевого антитела, например CAR, предотвращая ассоциацию CAR с антигеном. В некоторых вариантах осуществления CAR представляет собой CAR, экспрессирующий целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, или представляет собой CAR, как описано, например, в WO 2019/090003 или WO 2016/090320, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

А. Методы детектирования/выделения

[0477] В некоторых вариантах осуществления представлены способы, включающие применение одного или более антиидиотипических антител и/или молекул (таких как конъюгаты и комплексы), содержащих одно или более таких антиидиотипических антител, для детектирования, связывания, отбора и/или выделения антитела, например, целевого антитела. В некоторых вариантах осуществления способы содержат один или более этапов контактирования, инкубации и/или воздействия одним или более антиидиотипическими антителами на образец и/или композицию.

[0478] В некоторых вариантах осуществления способы включают (а) приведение в контакт композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты), с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по настоящему изобретению или иммуноконъюгатом

антиидиотипического антитела по настоящему изобретению, которое связывает или распознает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и (b) детектирование антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связанного с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0479] В некоторых вариантах осуществления способы включают (a) приведение клетки, экспрессирующей CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты), в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, представленным в настоящем описании, или иммуноконъюгатом антиидиотипического антитела, представленным в настоящем описании, которое связывает или распознает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и (b) детектирование антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связанного с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0480] В некоторых вариантах осуществления способы включают (a) приведение в контакт популяции клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты), или клетки, связанной с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, целевым антителом 1 или целевым антителом 2 или их антигенсвязывающим фрагментом) с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, представленным в настоящем описании, или иммуноконъюгатом антиидиотипического антитела по настоящему изобретению, с которым связывается или который распознает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и (b) отбор клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0481] В некоторых вариантах осуществления образец и/или композиция содержит, вероятно содержит и/или предположительно содержит целевое антитело и/или его антигенсвязывающий фрагмент, с которым связывается и/или которое распознает одно или более антиидиотипических антител. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с которым связывается и/или которое распознает одно или более антиидиотипических антител, содержит один или более слитых доменов и/или представляет собой слитый белок. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело и/или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой CAR. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело связывает и/или распознает анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1, целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент, включая химерную молекулу или конъюгат, включающий CAR, содержащие такое анти-BCMA антитело (например, фрагмент антитела). В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело связывает и/или распознает более чем одно анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 и целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент, включая

химерную молекулу или конъюгат, включающий CAR, содержащий такое анти-BCMA антитело (например, фрагмент антитела).

[0482] В некоторых вариантах осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связано с клеткой или экспрессируется на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержится в химерном антигенном рецепторе (CAR), таком как CAR, экспрессируемом на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой стволовую клетку, например iPSC, или иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка представляет собой Т-клетку. Т-клетка может включать CD4⁺ Т-клетку или CD8⁺ Т-клетку или любое их подмножество. Например, Т-клетка может быть наивной Т-клеткой (T_N), эффекторной Т-клеткой (T_{EFF}), Т-клеткой памяти, опухоль-инфильтрирующим лимфоцитом (TIL), незрелой Т-клеткой, зрелой Т-клеткой, хелперными Т-клетками, цитотоксической Т-клеткой, ассоциированной со слизистой оболочкой инвариантной Т-клеткой (MAIT), встречающейся в природе и адаптивной регуляторной Т-клеткой (Treg), хелперной Т-клеткой, такой как TH1-клетка, TH2-клетка, TH3-клетка, TH17-клетка, TH9-клетка, TH22-клетка, фолликулярной хелперной Т-клеткой, альфа/бета Т-клеткой и/или дельта/гамма Т-клеткой. В некоторых вариантах осуществления клетка происходит от ткани, например, сердца, сосудов, слюнных желез, пищевода, желудка, печени, желчного пузыря, поджелудочной железы, кишечника, толстой кишки, прямой кишки, гипоталамуса, гипофиза, шишковидной железы, щитовидной железы, парашитовидной железы, надпочечников, почки, мочеточника, мочевого пузыря, уретры, лимфатической системы, кожи, мышц, головного мозга, спинного мозга, нервов, яичников, матки, яичка, простаты, глотки, гортани, трахеи, бронхов, легких, диафрагмы, кости, хряща, связок или сухожилий.

[0483] В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой Т-клетку, выделенную или выбранную из образца субъекта (например, субъекта-человека) и генетически модифицированную для экспрессии целевого CAR, содержащего во внеклеточном антигенсвязывающем домене целевое анти-BCMA антитело. Например, в некоторых вариантах осуществления композиция CAR-экспрессирующих Т-клеток может быть получена с помощью процесса, который включает выделение или отбор Т-клеток (например, CD3⁺, или CD4⁺, и/или CD8⁺ Т-клеток) из образца афереза или лейкофереза, полученного от субъекта (например, человека), активацию выделенных для отбора Т-клеток (например, с помощью анти-CD3/анти-CD28 реагента, такого как анти-CD3/анти-CD28 гранулы (например, Dynabeads), и затем трансдукцию активированных клеток вектором, кодирующим целевой анти-BCMA CAR, содержащий в своем внеклеточном антигенсвязывающем домене целевое анти-BCMA антитело. В некоторых случаях трансдуцированные Т-клетки можно дополнительно инкубировать или культивировать в присутствии одного или более стимулирующих реагентов (например, рекомбинантного IL-2, IL-7 и/или IL-15) в условиях пролиферации или экспансии CAR-экспрессирующих

Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления предложенные способы могут включать приведение композиции Т-клеток, содержащей анти-BCMA CAR-экспрессирующие Т-клетки, в контакт с представленным антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом и детектирование или отбор Т-клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления представленные способы можно использовать для подсчета или определения количества целевых Т-клеток, экспрессирующих анти-BCMA CAR, в композиции Т-клеток в виде процента или количества относительно общего количества клеток или общего количества Т-клеток в композиции.

[0484] В конкретных вариантах осуществления целевое антитело, например CAR, не связано или не содержится внутри клетки, например, в некоторых вариантах осуществления целевое антитело секретируется. В некоторых вариантах осуществления антитело отсоединяют, удаляют и/или лизируют с клеточной поверхности.

[0485] Способы в некоторых вариантах осуществления включают инкубацию, обработку и/или приведение в контакт образца и/или композиции, содержащей или предположительно содержащей целевое антитело, с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления инкубацию выполняют в условиях, допускающих связывание антиидиотипического антитела с целевым антителом, присутствующим в композиции, например, с образованием комплекса, содержащего антиидиотипическое антитело и целевое антитело.

[0486] В некоторых вариантах осуществления способы включают инкубацию, обработку и/или приведение в контакт образца и/или композиции, содержащей или предположительно содержащей целевое анти-BCMA антитело или целевой анти-BCMA CAR, содержащий целевое антитело, с антиидиотипическим антителом. Например, образец или композиция может включать композицию клеток, таких как Т-клетки, о которых известно или предполагается, что они содержат клетки, экспрессирующие целевой анти-BCMA CAR. В некоторых вариантах осуществления инкубацию выполняют в условиях, допускающих связывание антиидиотипического антитела с целевым анти-BCMA антителом, присутствующим в композиции, например, с образованием комплекса, содержащего антиидиотипическое антитело и целевое анти-BCMA антитело.

[0487] В некоторых вариантах осуществления образец и/или композиция содержит или предположительно содержит целевое антитело, например CAR. В некоторых вариантах осуществления образец и/или композиция содержит или предположительно содержит клетки, которые экспрессируют целевое антитело, например CAR. В конкретных вариантах осуществления клетки представляют собой Т-клетки, которые экспрессируют CAR с внеклеточным антигенсвязывающим доменом, содержащим целевое анти-BCMA антитело. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки представляют собой CD3⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки представляют собой CD8⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки представляют собой CD4⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления композиция

содержит Т-клетки, экспрессирующие целевой анти-BCMA CAR, которые включают CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления образец или композиция представляет собой образец Т-клеток, продуцируемых или сконструированных с целевым анти-BCMA CAR *ex vivo*, например Т-клеток, выделенных из биологического образца субъекта (например, образца афереза или лейкофереза). В некоторых вариантах осуществления образец или композиция представляет собой образец, о котором известно или предполагается, что он содержит Т-клетки, экспрессирующие целевой анти-BCMA CAR, полученные непосредственно из образца субъекта, например субъекта, которому ранее ввели дозу терапевтической композиции, содержащей Т-клетки, экспрессирующие целевой анти-BCMA CAR. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой биологический образец. В конкретных вариантах осуществления образец представляет собой образец сыворотки или образец крови. В некоторых вариантах осуществления биологический образец содержит одну или более иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления биологический образец представляет собой ткань, такую как соединительная ткань, мышечная ткань, нервная ткань или эпителиальная ткань, или получен из нее. В конкретных вариантах осуществления биологический образец представляет собой или получен из сердца, сосудов, слюнных желез, пищевода, желудка, печени, желчного пузыря, поджелудочной железы, кишечника, толстой кишки, прямой кишки, гипоталамуса, гипофиза, шишковидной железы, щитовидной железы, парашитовидной железы, надпочечников, почки, мочеточники, мочевого пузыря, уретры, лимфатической системы, кожи, мышц, головного мозга, спинного мозга, нервов, яичников, матки, яичек, простаты, глотки, гортани, трахеи, бронхов, легких, диафрагмы, костей, хрящей, связок или сухожилий. В конкретных вариантах осуществления биологический образец берут, собирают и/или получают от человека. В некоторых вариантах осуществления образец содержит живые и/или интактные клетки. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой или содержит гомогенат и/или клетки, которые были разрушены и/или лизированы. В некоторых вариантах осуществления биологический образец содержит белки и/или антитела, выделенные из крови, сыворотки и/или ткани.

[0488] В конкретных вариантах осуществления антиидиотипическое антитело образует или способно образовывать комплекс с целевым антителом, например CAR. В конкретных вариантах осуществления антиидиотипическое антитело образует или способно образовывать комплекс с целевым антителом, например содержащимся в CAR. В конкретных вариантах осуществления комплекс детектируют, измеряют, определяют количественно и/или оценивают, например, для обнаружения, идентификации, измерения и/или количественного определения целевого антитела, например, в композиции или образце. В некоторых вариантах осуществления способы включают определение образования комплекса между антиидиотипическим антителом и целевым антителом в образце и/или определение наличия, отсутствия или уровня такого связывания. В некоторых вариантах осуществления комплекс содержит детектируемую метку. В

конкретных вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой иммуноконъюгат, содержащий детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело содержит детектируемую метку, конъюгировано с ней, связано с ней и/или присоединено к ней. В некоторых вариантах осуществления комплекс содержит антитело, с которым связывается и/или которое распознает антиидиотипическое антитело, например вторичное антитело, которое конъюгировано, связано и/или прикреплено к детектируемой метке.

[0489] В некоторых вариантах осуществления способы детектирования, количественного определения, детектирования и/или оценки целевого антитела, например, в образце или композиции, включают детектирование комплекса целевого антитела с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления комплекс содержит детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления антитела, представленные в настоящем описании, могут быть непосредственно или опосредованно конъюгированы с детектируемым компонентом. В некоторых примерах одно или более антител модифицированы для возможности детектирования связывания. Например, антитела могут быть конъюгированы с детектируемой молекулой, что позволяет либо непосредственное детектирование, либо детектирование с помощью вторичных агентов. В некоторых вариантах осуществления метка представляет собой детектируемую метку (например, метку флуоресцентного красителя). В некоторых вариантах осуществления метка представляет собой аффинную метку (например, биотиновую метку). Способы непосредственного или опосредованного прикрепления метки к антителу хорошо известны в данной области. Метки и наборы для мечения коммерчески доступны, например, от Invitrogen Corp, Carlsbad, Calif. В некоторых вариантах осуществления метка является подходящей для применения в анализе детектирования. В некоторых вариантах осуществления метка является подходящей для применения в диагностическом анализе. Метки, рассматриваемые в настоящем документе, включают, без ограничения, флуоресцентные красители, флуоресцентные белки, радиоизотопы, хромофоры, ионы металлов, частицы золота (например, частицы коллоидного золота), частицы серебра, частицы с сильным светорассеянием, магнитные частицы (например, магнитные гранулы, такие как магнитные гранулы Dynabeads®), полипептиды (например, метка FLAG™, метка гемагглютинаина человеческого гриппа (HA) и т.д.), ферменты, такие как пероксидаза (например, пероксидаза хрена) или фосфатаза (например, щелочная фосфатаза), стрептавидин, биотин, люминесцентные соединения (например, хемилюминесцентные субстраты), олигонуклеотиды, члены пары специфического связывания (например, лиганд и его рецептор) и другие метки, хорошо известные в данной области, которые используются для визуализации или детектирования антител при непосредственном или опосредованном присоединении к указанному антителу. В некоторых вариантах осуществления метка представляет собой пероксидазу хрена, которую можно обнаружить путем добавления соответствующего субстрата, вызывающего изменение цвета в присутствии пероксидазы хрена. В некоторых вариантах

осуществления метка представляет собой коллоидные частицы золота, которые можно обнаружить путем детектирования изменения цвета в растворе вследствие агрегации частиц золота. В данной области техники хорошо известны другие способы детектирования антител, меченных частицами золота (см. Dykman et al. (2011) *Acta Naturae*. 3(2):34-55). В некоторых примерах антитела могут быть детектированы с помощью вторичного реагента, например, с помощью реагента вторичного антитела, которое связывается с первичными антителами, представленными в настоящем описании, и которое связано с детектируемым белком, таким как флуоресцентный зонд, или детектируемым ферментом, таким как пероксидаза хрена.

[0490] В некоторых вариантах осуществления комплекс зондируют и/или вводят в контакт с детектируемой меткой. В некоторых вариантах осуществления комплекс детектируют любым подходящим способом или средством, таким как, без ограничения, проточная цитометрия, иммуноцитохимия, иммуногистохимия, анализ методом вестерн-блот и ELISA. В некоторых вариантах осуществления клетки, связанные с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, отбирают путем разделения по аффинности, например разделения по иммуноаффинности. В некоторых вариантах осуществления разделение по аффинности выполняют методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления разделение по аффинности выполняют с помощью магнитно-активируемой сортировки клеток. В некоторых вариантах осуществления разделение по аффинности выполняют с помощью аффинной хроматографии. В некоторых вариантах осуществления разделение по аффинности выполняют с помощью аффинной хроматографии, и антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обратимо связывают или иммобилизуют на подложке или неподвижной фазе.

[0491] В некоторых вариантах осуществления образец или композицию смешивают с антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом в присутствии твердой подложки или на ней, или в устройстве, содержащем твердую подложку. В некоторых вариантах осуществления образец или композицию смешивают с одним или более антиидиотипическими антителами или антигенсвязывающими фрагментами с получением смеси, после чего смесь наносят на твердую подложку или устройство, содержащее твердую подложку. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент непосредственно или опосредованно присоединяют к твердой подложке. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт включает инкубацию образца или композиции и антиидиотипического антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Один или более этапов инкубации можно выполнять в течение времени, подходящего для того, чтобы образец мог вступить в контакт с одним или более антителами, например в течение или по меньшей мере в течение, или по меньшей мере в течение примерно 30 секунд, 1 минуты, 5 минут, 10 минут, 15 минут, 20 минут, 30 минут, 45 минут, 1 часа, 2 часов, 3 часов, 6 часов или 12 часов или более, но не более примерно 24 часов после приведения

образца в контакт с одним или более антителами, представленными в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления контактирование происходит при температуре от или от примерно 0°C до примерно 50°C, например, обычно от 2°C до 8°C, или от 23°C до 28°C, или от 37°C до 42°C. В некоторых вариантах осуществления способы могут включать один или более этапов промывки после контактирования или инкубации в условиях, позволяющих сохранить антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанное на твердой подложке, и/или отделить комплекс от частей образца, не являющихся частью комплекса.

[0492] В некоторых вариантах осуществления контактирование осуществляют в условиях, обеспечивающих образование комплекса, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связанное с целевым анти-BCMA антителом, например, содержащимся в CAR, экспрессируемым клеткой в композиции. В некоторых вариантах осуществления связывание можно детектировать методами детектирования, хорошо известными в данной области техники для обнаружения связывания между целевым белком и связывающим агентом (например, антителом), такими как, без ограничения, спектрофотометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), иммуноанализы, такие как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), вестерн-блот, автоматическая визуализация, иммуногистохимия, проточная цитометрия, матрица для высокопроизводительного скрининга, такая как микрочип или наночип, и поверхностный плазмонный резонанс. В некоторых вариантах осуществления антитела, представленные в настоящем описании, позволяют детектировать целевое анти-BCMA антитело, например содержащееся в CAR, экспрессируемом клеткой в композиции, с помощью любого анализа связывания или иммунологического анализа, известного специалисту в данной области, включая, без ограничения, твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) или другой аналогичный иммуноанализ, включая сэндвич-ELISA или конкурентный ELISA; иммуногистохимию (ИHC); проточную цитометрию или вестерн-блот.

[0493] В некоторых вариантах осуществления предложенные способы детектирования, количественного определения и/или оценки целевого антитела, например, в образце или композиции, осуществляют с помощью проточного метода на основе картриджа (см., например, WO 2011/128893, WO 2014/097286, WO 2014/097287, US 2014/0170678, US 2015/0330971, содержание которых полностью включено посредством ссылки). В некоторых вариантах осуществления проточный метод на основе картриджа осуществляют с помощью микрофлюидного устройства, например устройства, включающего микрофлюидный картридж и блок управления картриджем. В некоторых аспектах использование проточного метода на основе картриджа устраняет необходимость в специальной очистке, обслуживании или использовании проточной жидкости в блоке обработки картриджа. В некоторых вариантах осуществления такие способы можно использовать как часть способов производства, анализа и/или контроля качества, например, в связи с созданием терапии на основе клеток, экспрессирующих

рекомбинантные полипептиды, например CAR, содержащие антитело или его фрагмент, распознаваемое антиидиотипическим антителом по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления такие способы можно использовать для целей тестирования, в том числе для детектирования, анализа и/или подтверждения экспрессии сконструированного рецептора, например, в клетках, сконструированных для применения в терапии у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления такие способы используются для определения дозы CAR Т-клеток, которую следует вводить индивидууму. В некоторых вариантах осуществления клеточные композиции можно тестировать на любом этапе процесса получения Т-клеток, экспрессирующих CAR. В конкретных вариантах осуществления образец клеток может быть взят из клеточной композиции на любом этапе процесса и сохранен, например, путем криозаморозки и/или криоконсервации, для последующего тестирования и/или анализа. Тестируемые композиции могут быть фармацевтическими композициями, например, в том числе композициями, содержащими клетки и фармацевтически приемлемый реципиент и/или криоконсервант.

[0494] В некоторых вариантах осуществления проточный метод на основе картриджа представляет собой автоматизированный метод (например, метод, требующий минимального вмешательства оператора). В некоторых аспектах автоматизированный способ снижает затраты, связанные с работой оператора и/или дорогостоящим оборудованием. В некоторых аспектах автоматизированный метод является более простым в плане его осуществления и более быстрым, чем методы, в которых используются традиционные анализы, например анализы проточной цитометрии. В некоторых аспектах автоматизированный метод сокращает время обработки образца, например, примерно до 30-40 минут на образец. В некоторых вариантах осуществления автоматизированный метод является более последовательным и надежным, чем методы, выполняемые с использованием традиционных анализов.

[0495] В некоторых вариантах осуществления микрофлюидное устройство представляет собой настольный прибор. В некоторых аспектах меньшая занимаемая площадь микрофлюидного устройства позволяет размещать устройство непосредственно в помещениях для обработки клеток или в помещениях для тестирования. В некоторых аспектах количество образцов, которые необходимо перемещать между комнатами и/или лабораториями, уменьшается, тем самым уменьшая проблемы с идентификацией и/или цепочкой хранения, связанные с переносом образцов.

[0496] В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит камеру для композиции образца. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит блистерный отсек. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит отсек для обработки, выполненный с возможностью смешивания жидкостей, при этом указанный отсек для обработки сообщается по текучей среде с камерой для композиции образца и блистерным отсеком. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит камеру оценки, включающую зону

считывания, при этом камера оценки сообщается по текучей среде с камерой обработки. В некоторых вариантах осуществления зона считывания выполнена с возможностью выполнения анализа образца, когда он проходит через зону считывания.

[0497] В некоторых вариантах осуществления образец помещают внутрь камеры для композиции образца. В некоторых вариантах осуществления блистер содержит антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с детектируемой меткой, например флуоресцентной меткой. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж вставлен в блок управления картриджем. В некоторых вариантах осуществления в блоке управления картриджем в отделении для обработки происходит взаимодействие и/или смешивание образца с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие и/или смешивание приводит к образованию комплекса целевого антитела, например CAR, с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

[0498] В других вариантах осуществления образец добавляют в пробирку, содержащую лиофилизированное антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгировано с детектируемой меткой, например флуоресцентной меткой. В некоторых вариантах осуществления пробирка дополнительно содержит другие лиофилизированные реагенты, например, другие меченые антитела, красители или лизирующие агенты. В некоторых вариантах осуществления пробирку встряхивают для смешивания и/или регидратации лиофилизированных реагентов. В некоторых вариантах осуществления образец после смешивания помещают внутрь камеры для композиции образца. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж вставлен в блок управления картриджем.

[0499] В некоторых вариантах осуществления блок управления картриджем пропускает отдельные клетки образца через зону считывания. В некоторых вариантах осуществления блок управления картриджем измеряет флуоресцентные сигналы от антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, связанного с целевым антителом, например CAR. В некоторых вариантах осуществления флуоресцентные сигналы измеряют с помощью оптоэлектронного блока. В некоторых вариантах осуществления флуоресцентные сигналы анализируют с помощью спектрального анализа.

[0500] В некоторых вариантах осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связано с клеткой или экспрессируется на клеточной поверхности. В конкретных вариантах осуществления целевое антитело, например CAR, не связано или не содержится в клетке, например, в некоторых вариантах осуществления целевое антитело секретируется. В некоторых вариантах осуществления антитело

отделяют, удаляют и/или лизируют с поверхности клетки.

[0501] В некоторых вариантах осуществления целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержится в химерном антигенном рецепторе (CAR), таком как CAR, экспрессируемом на клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой стволовую клетку, например iPSC, или иммунную клетку. В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка представляет собой Т-клетку, например, CD4⁺ Т-клетку, CD8⁺ Т-клетку, наивную Т-клетку (T_N), эффекторную Т-клетку (T_{EFF}), Т-клетку памяти, опухоль-инфильтрирующий лимфоцит (TIL), незрелую Т-клетку, зрелую Т-клетку, хелперные Т-клетки, цитотоксическую Т-клетку, ассоциированную со слизистой оболочкой инвариантную Т-клетку (MAIT), встречающуюся в природе и адаптивную регуляторную Т-клетку (Treg), хелперную Т-клетку, такую как TH1 клетка, TH2 клетка, TH3 клетка, TH17 клетка, TH9 клетка, TH22 клетка, фолликулярная хелперная Т-клетка, альфа/бета Т-клетка и/или дельта/гамма Т-клетка. В некоторых вариантах осуществления клетка происходит от ткани, например, сердца, сосудов, слюнных желез, пищевода, желудка, печени, желчного пузыря, поджелудочной железы, кишечника, толстой кишки, прямой кишки, гипоталамуса, гипофиза, шишковидной железы, щитовидной железы, парашитовидной железы, надпочечников, почки, мочеточника, мочевого пузыря, уретры, лимфатической системы, кожи, мышц, головного мозга, спинного мозга, нервов, яичников, матки, яичек, простаты, глотки, гортани, трахеи, бронхов, легких, диафрагмы, кости, хряща, связок или сухожилия.

[0502] В некоторых из таких вариантах осуществления целевое антитело представляет собой анти-BCMA антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 1, например, как описано в Разделе I. В некоторых из таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 2, например, как описано в Разделе I.A.

[0503] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 2, такое как любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например в Разделе I.A. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, такое как любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например, в Разделе I.B.

В. Применение для клеточной стимуляции

[0504] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты являются агонистами и/или проявляют специфическую активность в отношении стимуляции клеток, экспрессирующих целевое антитело, включая содержащие их конъюгаты или химерные рецепторы, такое как анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления представлены способы, включающие использование представленных антиидиотипических антител и молекул (таких как конъюгаты и комплексы), содержащих одно или более таких антиидиотипических антител, для стимуляции или активации клеток, экспрессирующих CAR или другие химерные рецепторы, такие как Т-клетки. В некоторых аспектах CAR или другой рецептор содержит целевое антитело, такое как анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0505] В некоторых вариантах осуществления способы можно использовать в связи со способами получения генетически сконструированных Т-клеток, например, в связи со способами экспансии генетически сконструированных Т-клеток или других клеток, в которые введена молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая химерный рецептор, такой как CAR, содержащий целевое антитело, например, путем трансфекции, трансдукции или невирусных способов переноса нуклеиновой кислоты, таких как подходы на основе транспозонов. В некоторых аспектах целевое антитело представляет собой анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент. В конкретных вариантах осуществления целевое антитело представляет собой или содержит CAR, например анти-BCMA CAR. В конкретных вариантах осуществления анти-BCMA CAR содержит scFv, который получен и/или происходит от анти-BCMA антитела, такого как целевое антитело 1 или целевое антитело 2.

[0506] В некоторых вариантах осуществления способы включают инкубацию образца, содержащего Т-клетки, трансдуцированные CAR, с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают определение, активированы ли или стимулированы CAR Т-клетки, например, путем оценки жизнеспособности, пролиферации и/или экспрессии маркеров активации в CAR Т-клетках. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело представляет собой анти-BCMA антитело. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело представляет собой целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент или целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент или происходит от него.

[0507] В некоторых вариантах осуществления представлен способ имитации клеток, включающий инкубацию исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, с антиидиотипическим

антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, раскрытым в настоящем описании, которое связывает или распознает целевое антитело, тем самым получая выходную композицию, содержащую стимулированные клетки. В некоторых вариантах осуществления инкубацию выполняют в условиях, при которых антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CAR, тем самым индуцируя или модулируя сигнал в одной или более клетках в исходной композиции. В некоторых вариантах осуществления клетки содержат Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки включают CD4+ и/или CD8+ Т-клетки.

[0508] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлен способ стимуляции или экспансии клеток, которые экспрессируют CAR, путем инкубации исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, с анти-ID антителом, которое связывает и/или распознает CAR. В некоторых вариантах осуществления связывание между анти-ID антителом и CAR индуцирует экспансию клеток, экспрессирующих CAR, тем самым генерируя выходную композицию, содержащую подвергнутые экспансии клетки.

[0509] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании представлен способ очистки антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий: (а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, представленным в настоящем описании, или иммуноконъюгатом, представленным в настоящем описании, которое связывает или распознает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и (b) выделение комплексов, содержащих антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления комплексы, содержащие антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выделяют путем разделения по аффинности. В некоторых вариантах осуществления разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности представляет собой разделение в магнитном поле. В некоторых из таких вариантов осуществления разделение по аффинности представляет собой аффинную хроматографию.

[0510] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело приводят в контакт или инкубируют с исходной композицией одной или более клеток для получения выходной композиции. В некоторых вариантах осуществления исходные клетки и/или исходная композиция представляют собой композицию и/или множество клеток, которые подвергают обработке или которые желателно подвергнуть обработке, инкубации или контактированию в условиях, которые вызовут одно или более изменений по меньшей мере в части клеток исходной композиции, тем самым преобразуя исходную композицию в выходную композицию. В некоторых вариантах осуществления исходные клетки представляют собой композицию иммунных клеток, например композицию Т-клеток, которые содержат клетки, экспрессирующие CAR. В конкретных вариантах

осуществления при применении предложенных способов в сгенерированной выходной композиции по меньшей мере часть клеток исходной композиции становится активированной, размноженной и/или обогащенной.

[0511] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело способствует экспансии или обогащению экспрессирующих CAR клеток в исходной композиции. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит человеческие клетки. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит клетки, полученные из крови, костного мозга, лимфы или лимфоидных органов. В конкретных вариантах осуществления исходная композиция содержит клетки иммунной системы, т.е. клетки врожденного или адаптивного иммунитета, например миелоидные или лимфоидные клетки, включая лимфоциты, обычно Т-клетки и/или NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит стволовые клетки, такие как мультипотентные и плюрипотентные стволовые клетки, включая индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPSC). В конкретных вариантах осуществления исходная композиция содержит клетки CD3⁺. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит клетки CD4⁺. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит клетки CD8⁺. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция представляет собой композицию CD4⁺ клеток. В конкретных вариантах осуществления исходная композиция представляет собой композицию CD8⁺ клеток.

[0512] В некоторых вариантах осуществления способы и агенты способны стимулировать Т-клетки, которые являются дефицитными по одной или более природным сигнальным молекулам или в которых они были подавлены, например один или более костимулирующих рецепторов, антигенных рецепторов или цитокиновых рецепторов, но которые экспрессируют химерный рецептор, например CAR, распознаваемый анти-ID антителом. В некоторых вариантах осуществления клетки исходной композиции экспрессируют низкие уровни CD28 или другой костимулирующей молекулы или другой сигнальной молекулы или совсем не экспрессируют их на своей поверхности. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления представленные агенты и способы имеют определенные преимущества относительно некоторых других активирующих или стимулирующих агентов или способов, для которых может быть необходимой или которые могут зависеть от поверхностной экспрессии CD28 или другой эндогенной сигнальной молекулы для обеспечения желаемого сигнала и/или его максимального проявления, например для обеспечения костимулирующего сигнала и/или для достижения полной активации. В некоторых вариантах осуществления представленные агенты и способы имеют преимущества в этом отношении по сравнению с анти-CD3/анти-CD28 реагентами (например, гранулами); в некоторых аспектах предложенные анти-ID антитела обладают преимуществом, заключающимся в стимуляции или достижении желаемого

эффекта, такого как активация или пролиферация клеток с низким или отрицательным уровнем CD28 или другой природной сигнальной молекулы. В некоторых аспектах передача сигнала через CAR путем стимуляции анти-ID антителом приводит к возникновению как первичного, так и вторичного (костимулирующего) сигнала через CAR с использованием только одного реагента. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит CD3+ клетки, которые экспрессируют низкие уровни CD28 или другой эндогенной сигнальной молекулы. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит CD3+ клетки, которые являются отрицательными по CD28 или отрицательными по другим эндогенным сигнальным молекулам. В некоторых вариантах осуществления анти-ID антитело стимулирует активацию и/или экспансию клеток, экспрессирующих низкие уровни CD28, или клеток, которые являются CD28-отрицательными. В некоторых вариантах осуществления клетки приводят в контакт с антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом, которое иммобилизовано или связано с твердой подложкой. В некоторых вариантах осуществления твердая подложка представляет собой гранулу. В некоторых вариантах осуществления твердая подложка представляет собой поверхность лунки или планшета, например планшета для культивирования клеток. В некоторых примерах анти-ID антитело является растворимым. В некоторых вариантах осуществления клетки не приводят в контакт с анти-CD3/анти-CD28-конъюгированными реагентами до приведения клеток в контакт с антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом.

[0513] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело наносят, приводят в контакт или инкубируют с исходной композицией клеток, которые были трансдуцированы или трансфицированы нуклеотидом, кодирующим CAR. В конкретных вариантах осуществления инкубация, обработка и/или приведение в контакт исходных клеток с антиидиотипическим антителом приводит к экспансии и/или обогащению клеток, экспрессирующих CAR. В конкретных вариантах осуществления инкубация, обработка и/или приведение в контакт исходных клеток с антиидиотипическим антителом не приводит к экспансии и/или обогащению клеток, которые не экспрессируют CAR. В конкретных вариантах осуществления экспансия и/или обогащение клеток, не экспрессирующих CAR, после инкубации, обработки и/или приведения в контакт исходных клеток с антиидиотипическим антителом ниже на по меньшей мере 50%, на по меньшей мере 75%, на по меньшей мере 85%, на по меньшей мере 90%, на по меньшей мере 95%, на по меньшей мере 99%, на по меньшей мере 99,9% или на по меньшей мере 99,99% по сравнению с экспансией и/или обогащением клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипические антитела, представленные в настоящем описании, используются для экспансии клеток, экспрессирующих CAR, в исходной композиции, которая характеризуется низкой эффективностью трансдукции и/или трансфекции и/или которая содержит небольшое количество клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых вариантах осуществления

антиидиотипическое антитело обеспечивает селективную экспансию и/или обогащение клеток, экспрессирующих CAR.

[0514] Согласно некоторым вариантам осуществления применение антиидиотипического антитела для экспансии и/или обогащения клеток в исходной композиции с низкой эффективностью трансдукции или трансфекции и/или с низким количеством клеток, экспрессирующих CAR, более эффективно, чем экспансия и/или обогащение клеток посредством поликлональной стимуляции, например, стимуляции анти-CD3 и/или анти-CD28 антителами. В конкретных вариантах осуществления поликлональная стимуляция приводит к экспансии в исходной композиции клеток, которые экспрессируют CAR, и клеток, которые не экспрессируют CAR, и, следовательно, в некоторых вариантах осуществления обогащение клеток, экспрессирующих CAR, может не происходить, в частности, когда исходная композиция имеет низкое количество клеток, экспрессирующих CAR. Напротив, в некоторых вариантах осуществления инкубация с антиидиотипическим антителом приводит к селективной экспансии клеток, экспрессирующих CAR, и, следовательно, в некоторых вариантах осуществления будет происходить селективная экспансия и/или обогащение клеток, экспрессирующих CAR. В некоторых вариантах осуществления инкубация, приведение в контакт и/или обработка исходных клеток антиидиотипическим антителом приводит к более высокому обогащению и/или экспансии клеток, экспрессирующих CAR, чем при поликлональной стимуляции.

[0515] В конкретных вариантах осуществления антиидиотипическое антитело инкубируют, наносят и/или приводят в контакт с исходными клетками, которые трансфицированы и/или трансдуцированы более низким количеством вирусных частиц, более низким соотношением копий частиц вирусного вектора к клетке и/или более низким количеством инфекционных единиц (IU), чем в случае исходных клеток, подвергнутых экспансии и/или обогащению поликлональной стимуляцией. Например, в некоторых вариантах осуществления исходную композицию, которую инкубируют с антиидиотипическим антителом, получают из клеток, трансдуцированных более низким количеством IU на клетку на по меньшей мере 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 или 60 по сравнению с исходной композицией, подвергнутой экспансии и/или обогащению поликлональной стимуляцией. В некоторых вариантах осуществления исходную композицию, которую инкубируют с антиидиотипическим антителом, получают из клеток, трансдуцированных более низкими титрами частиц вирусного вектора на или на по меньшей мере 1×10^5 IU/мл, 5×10^5 IU/мл, 1×10^6 IU/мл, 5×10^6 IU/мл, 6×10^6 IU/мл, 7×10^6 IU/мл, 8×10^6 IU/мл, 9×10^6 IU/мл или на 1×10^7 IU/мл по сравнению с исходной композицией, подвергнутой экспансии и/или обогащению поликлональной стимуляцией.

[0516] В конкретных вариантах осуществления трансдукция клеток высоким содержанием IU на клетку обычно приводит к высокой эффективности трансдукции, но в некоторых вариантах осуществления также может приводить к трансфицированным клеткам с высоким числом копий вектора (VCN), что может представлять угрозу

безопасности и может не соответствовать нормативным требованиям. В конкретных вариантах осуществления снижение показателя IU/клетка, при котором выполняют трансдукцию клеток, снижает эффективность трансдукции, но также снижает VCN. В конкретных вариантах осуществления увеличение показателя IU/клетка, при котором выполняют трансдукцию клеток, повышает эффективность трансдукции, но также увеличивает VCN.

[0517] В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит популяцию клеток, трансдуцированных или трансфицированных одной или более нуклеиновыми кислотами, кодирующими CAR, с которым связывается или который распознает антиидиотипическое антитело, или клетки, полученные из таких клеток. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит менее 80%, менее 75%, менее 70%, менее 65%, менее 60%, менее 55%, менее 50%, менее 45%, менее 40%, менее 35%, менее 30%, менее 25%, менее 20%, менее 15%, менее 10%, менее 5% или менее 1% клеток, которые являются клетками, экспрессирующими CAR. В конкретных вариантах осуществления клетки исходной композиции трансфицированы или трансдуцированы, как описано в Разделе II. В некоторых вариантах осуществления исходные клетки содержат популяцию клеток, были трансдуцированы или трансфицированы одной или более нуклеиновыми кислотами, кодирующими анти-BCMA CAR, таким как анти-BCMA CAR, который содержит scFv, полученный из и/или происходящий от анти-BCMA антитела, такого как целевое антитело 1 или целевое антитело 2, или клетки, полученные из таких клеток.

[0518] В конкретных вариантах осуществления инкубацию, приведение в контакт или обработку клеток исходной композиции антиидиотипическим антителом выполняют в условиях стимуляции, экспансии и/или активации клеток, которые могут включать одно или более из следующего: среду, температуру, содержание кислорода, содержание диоксида углерода, время, агенты, например, питательные вещества, аминокислоты, антибиотики, ионы и/или стимулирующие факторы, такие как цитокины, хемокины, антигены, партнеры по связыванию, слитые белки, рекомбинантные растворимые рецепторы, и любые другие агенты, предназначенные для активации клеток.

[0519] В некоторых вариантах осуществления клетки исходной композиции трансфицированы или трансдуцированы одной нуклеиновой кислотой, содержащей ген, кодирующий CAR, и эти клетки приводят в контакт, инкубируют или обрабатывают антиидиотипическим антителом, которое связывает или распознает рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления клетки исходной композиции обрабатывают, инкубируют или приводят в контакт с антиидиотипическим антителом после трансдукции или трансфекции клетками нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR. В конкретных вариантах осуществления клетки исходной композиции обрабатывают, инкубируют или приводят в контакт с антиидиотипическим антителом сразу, в течение примерно 1 минуты, в течение примерно 5 минут, в течение примерно 30 минут, в течение примерно 1 часа, в течение примерно 2 часов, в течение примерно 4 часов, в течение

примерно 6 часов, в течение примерно 8 часов, в течение примерно 12 часов, в течение примерно 24 часов, в течение примерно 2 дней, в течение примерно 3 дней, в течение примерно 4 дней, в течение примерно 5 дней, в течение примерно 6 дней, примерно в течение 1 недели, в течение примерно 2 недель, в течение примерно 3 недель, в течение примерно 4 недель, в течение примерно 5 недель или в течение примерно 6 недель после трансдукции или трансфекции клеток исходной композиции.

[0520] В некоторых вариантах осуществления клетки исходной композиции обрабатывают, инкубируют и/или приводят в контакт с растворимым антиидиотипическим антителом, приводят в контакт с несшитым антителом и/или с антителом, которое не связано или не присоединено к твердой подложке.

[0521] В некоторых вариантах осуществления способы приводят к пролиферации, активации, стимуляции, высвобождению цитокинов или другому функциональному ответу, такому как активация маркера активации или высвобождение или продуцирование цитокинов, клеток, экспрессирующих химерный рецептор, такой как CAR, распознаваемый анти-ID антителом. В некоторых аспектах в таких клетках происходит индукция такой пролиферации или другого функционального ответа или сигнала считывания в степени, аналогичной или превышающей ту, которая индуцируется инкубацией клеток с агентом и/или в условиях, стимулирующих пролиферацию Т-клеток, например анти-CD3/CD28 гранулами и/или сшитыми анти-CD3. В некоторых аспектах способы не включают перекрестное связывание антиидиотипического антитела. В некоторых аспектах любого из вариантов осуществления антиидиотипические агенты способны индуцировать указанную пролиферацию или функциональный ответ или степень их проявления без перекрестного связывания антиидиотипического антитела. В некоторых аспектах преимущество антиидиотипических агентов, представленных в настоящем описании, заключается в их способности стимулировать или вызывать определенный функциональный ответ Т-клеток или других иммунных клеток, экспрессирующих целевой рецептор, без необходимости перекрестного связывания анти-ID антитела или использования вторичного агента. В некоторых аспектах ответ достигается с помощью растворимой или связанной с планшетом формы антиидиотипического антитела. В некоторых аспектах ответ достигается с помощью антиидиотипического антитела, связанного с гранулой.

[0522] В конкретных вариантах осуществления клетки исходной композиции обрабатывают, инкубируют и/или приводят в контакт при концентрации от 10 пг/мл до 100 мкг/мл, от 1 пг/мл до 1 нг/мл, от 1 нг/мл до 1 мкг/л, от 100 нг/мл до 1,0 мкг/мл, от 1 нг/мл до 100 нг/мл, от 10 нг/мл до 1,0 мкг/мл, от 100 нг/мл до 10 пг/мл, от 250 нг/мл до 10 мкг/мл, от 250 пг/мл до 1 нг/мл, от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл, от 250 нг до примерно 2,5 мкг/мл или от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл.

[0523] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизованы на твердой подложке, которая необязательно содержит или конъюгирована с реагентом, содержащим множество сайтов

связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления твердая подложка представляет собой поверхность планшета или лунки. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизованы на растворимом реагенте, который необязательно представляет собой или содержит множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления реагент содержит мутеин стрептавидина. В одном из иллюстративных вариантов осуществления антиидиотипическое антитело содержит стрептавидин-связывающий пептид или другой стрептавидин-связывающий компонент, способный связываться с молекулой стрептавидина или мутеина стрептавидина, которая присутствует на растворимом реагенте или иммобилизована на нем и которая в некоторых случаях может диссоциировать в присутствии конкурирующего вещества, такого как биотин. Примеры таких систем включают системы, описанные в опубликованной патентной заявке РСТ № WO2015/158868.

[0524] В конкретных вариантах осуществления клетки исходной композиции обрабатывают, инкубируют и/или приводят в контакт с антиидиотипическим антителом, которое прикреплено, связано, покрыто и/или конъюгировано с твердой поверхностью или подложкой, например планшетом или лункой. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело прикреплено, связано, покрыто и/или конъюгировано с твердой поверхностью или подложкой путем инкубации твердой поверхности или подложки с антиидиотипическим антителом в некоторой концентрации. В конкретных вариантах осуществления твердую поверхность или подложку инкубируют с антиидиотипическим антителом в концентрации от 10 нг/мл до 100 мкг/мл, от 100 нг/мл до 1,0 мкг/мл, от 250 нг/мл до 10 мкг/мл, от 250 нг/мл до 1 мкг/мл, от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл, от 250 нг до 2,5 мкг/мл или от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления твердую поверхность или подложку инкубируют при концентрации от 250 нг/мл до 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления твердую поверхность или подложку инкубируют с антиидиотипическим антителом в концентрации, составляющей или составляющей примерно 0,25 мкг/мл, 0,5 мкг/мл, 1,0 мкг/мл, 1,25 мкг/мл, 2 мкг/мл, 2,5 мкг/мл, 5 мкг/мл или 10 мкг/мл.

[0525] В некоторых вариантах осуществления инкубация длится в течение по меньшей мере или примерно по меньшей мере 5 минут, 10 минут, 30 минут, 60 минут, 2 часов, 6 часов, 12 часов, 24 часов, 36, 48 часов, 72 часов или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит менее или менее примерно 60%, менее или менее примерно 50%, менее или менее примерно 40%, менее или менее примерно 30%, менее или менее примерно 20% или менее или менее примерно 10% клеток, экспрессирующих CAR, в процентах от общего количества клеток в композиции. В некоторых вариантах осуществления количество CAR-экспрессирующих клеток в выходной композиции увеличивается более чем в 1,2, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 10 и более раз

по сравнению с количеством CAR-экспрессирующих клеток в исходной композиции; и/или процент экспрессирующих CAR клеток относительно общего количества клеток в выходной композиции увеличивается на более чем на 10%, 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более. В некоторых вариантах осуществления перед инкубацией клетки не отбирают на клетки, экспрессирующие CAR, или не обогащают клетками, экспрессирующими CAR.

[0526] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело приводят в контакт или инкубируют с клетками из исходной композиции, например, включая клетки, экспрессирующие CAR, в течение периода времени, необходимого для экспансии одной или более клеток исходной композиции, например для экспансии клеток исходной композиции, которые экспрессируют рекомбинантный рецептор. В конкретных вариантах осуществления клетки исходной композиции приводят в контакт, инкубируют или обрабатывают антиидиотипическим антителом в течение по меньшей мере примерно 12 часов, по меньшей мере примерно 24 часов, по меньшей мере примерно 2 дней, по меньшей мере примерно 3 дней, по меньшей мере примерно 4 дней, по меньшей мере примерно 5 дней, по меньшей мере примерно 6 дней, по меньшей мере примерно 7 дней, по меньшей мере примерно 8 дней, по меньшей мере примерно 9 дней, по меньшей мере примерно 10 дней, по меньшей мере примерно 11 дней, по меньшей мере примерно 12 дней, по меньшей мере примерно 13 дней, по меньшей мере примерно 14 дней, по меньшей мере примерно 3 недель или по меньшей мере примерно 4 недель. В конкретных вариантах осуществления клетки исходной композиции приводят в контакт, инкубируют или обрабатывают антиидиотипическим антителом в течение менее примерно 1 дня, менее примерно 2 дней, менее примерно 3 дней, менее примерно 4 дней, менее примерно 5 дней, менее примерно 6 дней или менее или примерно 12 дней. В некоторых вариантах осуществления клетки исходной композиции приводят в контакт, инкубируют или обрабатывают антиидиотипическим антителом в течение от примерно 1 дня до примерно 14 дней, от примерно 3 дней до 7 дней или от 4 дней до 6 дней.

[0527] В конкретных вариантах осуществления клетки исходной композиции, например, содержащей клетки, которые экспрессируют CAR, инкубируют, приводят в контакт или обрабатывают антиидиотипическим антителом при температурах выше комнатной для экспансии клеток исходной композиции, которые экспрессируют рекомбинантный рецептор. В некоторых вариантах осуществления обработку, инкубацию или приведение в контакт осуществляют при температуре выше примерно 25°C, например, обычно выше или выше примерно 32°C, 35°C или 37°C. В некоторых вариантах осуществления обработку, приведение в контакт или инкубацию осуществляют при температуре примерно 37±2°C или около этого, например, при температуре примерно 37°C или около этого.

[0528] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%,

по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,9%, примерно 100% или 100% клеток выходной композиции экспрессируют CAR.

[0529] В конкретных вариантах осуществления количество клеток, которые экспрессируют CAR в выходной композиции, которая была инкубирована, обработана и/или приведена в контакт с антиидиотипическим антителом, увеличивается на по меньшей мере 1%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере в 2, по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 4, по меньшей мере в 5, по меньшей мере в 6, по меньшей мере в 7, по меньшей мере в 8, по меньшей мере в 9, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 15, по меньшей мере в 20, по меньшей мере в 25 раз, по меньшей мере в 50 раз или по меньшей мере в 100 раз относительно количества клеток, экспрессирующих CAR, в исходной композиции.

[0530] В конкретных вариантах осуществления процент клеток, которые экспрессируют CAR в выходной композиции, которая была инкубирована, обработана и/или приведена в контакт с антиидиотипическим антителом, увеличивается на по меньшей мере 1%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере в 2, по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 4, по меньшей мере в 5, по меньшей мере в 6, по меньшей мере в 7, по меньшей мере в 8, по меньшей мере в 9, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 15, по меньшей мере в 20, по меньшей мере в 25 раз, по меньшей мере в 50 раз или по меньшей мере в 100 относительно количества клеток, экспрессирующих CAR, в исходной композиции.

[0531] В некоторых вариантах осуществления количество клеток, которые экспрессируют CAR в выходной композиции, которая была инкубирована, обработана и/или приведена в контакт с антиидиотипическим антителом, выше на по меньшей мере 1%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере в 2, по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 4, по меньшей мере в 5, по меньшей мере в 6, по меньшей мере в 7, по меньшей мере в 8, по меньшей мере в 9, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 15, по меньшей мере в 20, по меньшей мере в 25, по меньшей мере в 50 или по меньшей мере в 100 раз относительно количества клеток в

выходной композиции, подвергшихся поликлональной стимуляции, инкубации с анти-CD3 и анти-CD28 антителами.

[0532] В некоторых вариантах осуществления процент клеток, которые экспрессируют CAR в выходной композиции, которая была инкубирована, обработана и/или приведена в контакт с антиидиотипическим антителом, выше на по меньшей мере 1%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 100%, по меньшей мере в 2, по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 4, по меньшей мере в 5, по меньшей мере в 6, по меньшей мере в 7, по меньшей мере в 8, по меньшей мере в 9, по меньшей мере в 10, по меньшей мере в 15, по меньшей мере в 20, по меньшей мере в 25, по меньшей мере в 50 или по меньшей мере в 100 раз относительно количества клеток в выходной композиции, подвергшейся поликлональной стимуляции, инкубации с анти-CD3 и анти-CD28 антителами.

[0533] В некоторых вариантах осуществления VCN в клетках, которые экспрессируют CAR, в выходной композиции, инкубированной, обработанной и/или приведенной в контакт с антиидиотипическим антителом, ниже на по меньшей мере 1%, по меньшей мере 5%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% по сравнению с клетками выходной композиции, которые подверглись поликлональной стимуляции, например, инкубации с анти-CD3 и анти-CD28 антителами. В некоторых вариантах осуществления среднее значение VCN клеток, экспрессирующих CAR, составляет не более 10, 5, 4, 2,5, 1,5 или 1 или около того.

[0534] В некоторых вариантах осуществления такие способы можно использовать как часть способов производства, анализа и/или контроля качества, например, в связи с созданием терапии на основе клеток, экспрессирующих рекомбинантные полипептиды, содержащие антитело или его фрагмент, распознаваемое антиидиотипическим антителом, таких как CAR T-клетки, с целью тестирования, в том числе для тестирования экспрессии и/или активности сконструированного рецептора, например, в клетках, сконструированных для применения в терапии индивидуума. В некоторых вариантах осуществления композиции на основе клеток можно тестировать на любом этапе процесса создания Т-клеток, экспрессирующих CAR. В конкретных вариантах осуществления образец клеток может быть получен из клеточной композиции на любом этапе процесса и сохранен, например, путем криозаморозки и/или криоконсервации для последующего тестирования и/или анализа. Тестируемые композиции могут быть фармацевтическими

композициями, например, в том числе композициями, содержащими клетки и фармацевтически приемлемый реципиент и/или криоконсервант.

[0535] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело стимулирует клетки, экспрессирующие целевое антитело, например CAR, *in vivo*. Согласно конкретным вариантам осуществления, терапия CAR Т-клетками эффективна при лечении рака и других заболеваний и нарушений. Однако в некоторых случаях доступные подходы к терапии CAR Т-клетками не всегда могут быть полностью удовлетворительными. Например, в некоторых вариантах осуществления воздействие клеток, экспрессирующих CAR, и их персистенция в организме субъекта снижается или уменьшается с течением времени. Тем не менее, наблюдения показывают, что в некоторых случаях усиленное воздействие клеток, экспрессирующих CAR, может улучшить эффективность и терапевтические результаты терапии CAR Т-клетками. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят для стимуляции, усиления и/или увеличения персистенции и/или экспансии клеток, экспрессирующих CAR.

[0536] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят субъекту, такому как субъект, который ранее получал терапевтическую клеточную композицию, содержащую клетки, экспрессирующие CAR. В некоторых вариантах осуществления введение антиидиотипического антитела субъекту способствует повторной экспансии клеток, экспрессирующих CAR, в организме субъекта, которая в некоторых случаях может достигать или превышать первоначальный пиковый уровень экспансии до введения антиидиотипического антитела. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят для модуляции экспансии и/или персистенции клеток, экспрессирующих CAR, в моменты времени, когда уровни клеток, экспрессирующих CAR, снижаются или не обнаруживаются. В некоторых вариантах осуществления CAR-экспрессирующие клетки, повторно подвергнутые экспансии с помощью антиидиотипических антител, проявляют повышенную активность у субъекта, которому их вводят, например, по сравнению с активностью до введения антиидиотипического антитела.

[0537] В некоторых вариантах осуществления введение антиидиотипического антитела увеличивает или усиливает персистенцию клеток, экспрессирующих CAR, в организме субъекта. В некоторых вариантах осуществления клетки, экспрессирующие CAR, обнаруживаются у субъекта через или по меньшей мере через 7 дней, 14 дней, 21 день, 28 дней, 35 дней, 42 дня, 49 дней, 56 дней, 63 дня, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев или более 6 месяцев после введения антиидиотипического антитела. В некоторых аспектах усиленное воздействие на клетки у субъекта включает экспансию и/или усиленную экспансию клеток.

[0538] В некоторых вариантах осуществления после введения антиидиотипического антитела в организме субъекта происходит экспансия CAR-экспрессирующих клеток. В конкретных вариантах осуществления введение

антиидиотипического антитела приводит к максимальной концентрации кодирующей CAR нуклеиновой кислоты в крови или сыворотке или другой жидкости организма, органе или ткани субъекта, составляющей по меньшей мере 100, 500, 1000, 1500, 2000, 5000, 10000 или 15000 копий на микрограмм ДНК или по меньшей мере 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8 или 0,9 экспрессирующих CAR клеток на микролитр. В некоторых вариантах осуществления экспрессирующие CAR клетки обнаруживаются в количестве по меньшей мере 10, 20, 30, 40, 50 или 60% от общего количества РВМС в крови субъекта и/или на таком уровне в течение по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 36, 48 или 52 недель после введения антиидиотипического антитела или в течение 1, 2, 3, 4 или 5 или более лет после введения антиидиотипического антитела. В некоторых аспектах введение антиидиотипического антитела приводит к по меньшей мере 2-кратному, по меньшей мере 4-кратному, по меньшей мере 10-кратному или по меньшей мере 20-кратному увеличению количества копий нуклеиновой кислоты, кодирующей рекомбинантный рецептор, например CAR, на микрограмм ДНК, например, в сыворотке, плазме, крови или ткани, например образце опухоли субъекта. В конкретных вариантах осуществления введение антиидиотипического антитела приводит к по меньшей мере 2-кратному, по меньшей мере 4-кратному, по меньшей мере 10-кратному или по меньшей мере 20-кратному увеличению у субъекта количества циркулирующих клеток, экспрессирующих CAR.

[0539] В некоторых аспектах после введения антиидиотипического антитела в организме субъекте или его жидкости, плазме, сыворотке, ткани или их компартментах, таких как кровь, например периферическая кровь, или в участке заболевания детектируют или присутствует по меньшей мере примерно 1×10^2 , по меньшей мере примерно 1×10^3 , по меньшей мере примерно 1×10^4 , по меньшей мере примерно 1×10^5 или по меньшей мере примерно 1×10^6 , или по меньшей мере примерно 5×10^6 , или по меньшей мере примерно 1×10^7 , или по меньшей мере примерно 5×10^7 , или по меньшей мере примерно 1×10^8 клеток, экспрессирующих CAR, и/или по меньшей мере 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400 или 500, или 1000 клеток, экспрессирующих CAR, на микролитр, например, по меньшей мере 10 клеток на микролитр. В некоторых вариантах осуществления такое количество или концентрацию клеток детектируют у субъекта в течение по меньшей мере примерно 20 дней, по меньшей мере примерно 40 дней или по меньшей мере примерно 60 дней, или по меньшей мере примерно 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев, или по меньшей мере 2 или 3 лет после введения антиидиотипического антитела.

[0540] Известны различные системы доставки, которые можно использовать для введения антиидиотипического антитела. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят путем инкапсуляции и/или присоединения к липосомам, микрочастицам и микрокапсулам. Способы введения антиидиотипического антитела включают, без ограничения, внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и пероральный пути введения. Антиидиотипическое антитело можно вводить любым

удобным путем, например инфузией, болюсной инъекцией, абсорбцией через эпителиальные или кожно-слизистые оболочки (например, слизистую оболочку полости рта, прямой кишки и кишечника и т.д.), его также можно вводить вместе с другими биологически активными веществами. Введение может быть системным или местным. Можно также применять легочное введение, например, с помощью ингалятора или распылителя, а также с помощью аэрозольного агента. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело доставляют в везикуле, в частности в липосоме (Langer, 1990, Science 249:1527-1533), например, в катионной липосоме (WO 98140052).

[0541] В некоторых вариантах осуществления предложен способ получения клеточной композиции, включающий введение в клетки молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR, тем самым создавая исходную композицию, и инкубирование исходной композиции с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое связывает или распознает антигенсвязывающий домен CAR, с получением тем самым клеточной композиции. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой иммуноконъюгат, как представлено в настоящем описании, который включает антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления CAR содержит целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает ВСМА или распознает его. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело представляет собой целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является антагонистом CAR. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки с помощью вирусной трансдукции, транспозиции, электропорации или химической трансфекции. В некоторых вариантах осуществления введение включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем трансдукции ретровирусным вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, путем трансдукции лентивирусным вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, путем транспозиции транспозона, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты, или путем электропорации или трансфекции вектора, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты.

[0542] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает этап стимуляции или активации клеток перед введением молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR. В некоторых вариантах осуществления активация клеток включает приведение клеток в контакт с агонистом CD3 и необязательно с агонистом CD28. В

некоторых вариантах осуществления активация клеток включает приведение клеток в контакт с реагентом, содержащим агонистические анти-CD3 и анти-CD28 антитела. В некоторых таких вариантах осуществления во время по меньшей мере части этапа приведения в контакт с анти-CD3/анти-CD28 и/или во время по меньшей мере части этапа введения нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR, способ включает инкубацию или приведение клеток в контакт с антиидиотипическим антителом или антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления инкубацию проводят в условиях, при которых антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CAR, тем самым индуцируя или модулируя сигнал в одной или более клетках в исходной композиции. В некоторых вариантах осуществления клетки содержат Т-клетки.

[0543] В некоторых таких вариантах осуществления Т-клетки включают CD4+ и/или CD8+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизовано на твердой подложке, которая необязательно содержит или конъюгирована с реагентом, содержащим множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизованы на растворимом реагенте, который необязательно представляет собой или содержит множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления реагент содержит мутеин стрептавидина. В одном из иллюстративных вариантов осуществления антиидиотипическое антитело содержит стрептавидин-связывающий пептид или другой стрептавидин-связывающий компонент, способный связываться с молекулой стрептавидина или мутеина стрептавидина, присутствующей на растворимом реагенте или иммобилизованной на нем, которая в некоторых случаях может диссоциировать в присутствии конкурирующего вещества, такого как биотин. Примеры таких систем включают системы, описанные в опубликованной заявке РСТ на патент № WO2015/158868. В некоторых вариантах осуществления инкубация длится в течение по меньшей мере или примерно по меньшей мере 5 минут, 10 минут, 30 минут, 60 минут, 2 часов, 6 часов, 12 часов, 24 часов, 36, 48 часов, 72 часов или 96 часов. В некоторых вариантах осуществления исходная композиция содержит менее или менее примерно 60%, менее или менее примерно 50%, менее или менее примерно 40%, менее или менее примерно 30%, менее или менее примерно 20% или менее или менее примерно 10% клеток, экспрессирующих CAR, в процентах от общего количества клеток в композиции. В некоторых вариантах осуществления количество CAR-экспрессирующих клеток в выходной композиции увеличивается более чем в 1,2, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 10 и более раз по сравнению с количеством CAR-экспрессирующих клеток в исходной композиции; и/или процент экспрессирующих CAR клеток в выходной композиции по сравнению с общим количеством клеток в композиции увеличивается более чем на 10%, 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более. В некоторых вариантах осуществления перед инкубацией

клетки не отбирают на клетки, экспрессирующие CAR, или не обогащают клетками, экспрессирующими CAR.

[0544] В некоторых вариантах осуществления предложен способ мониторинга активности CAR, содержащего целевое антитело, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, включающий этапы инкубации образца, содержащего Т-клетки, трансдуцированные CAR, с агонистическим антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое нацеливается на или связывает CAR; и/или определение присутствия, отсутствия или степени активации, стимуляции и/или экспансии CAR Т-клеток, тем самым контролируя активность CAR Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления такие способы можно использовать для подтверждения CAR, и в этом случае способ может включать этап с) подтверждение CAR на основе уровня активации, стимуляции и/или экспансии CAR Т-клеток.

[0545] В некоторых вариантах осуществления активацию, стимуляцию и/или экспансию CAR Т-клеток оценивают путем определения жизнеспособности, пролиферации и/или экспрессии маркеров активации Т-клеток в CAR Т-клетках после периода инкубации с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления жизнеспособность CAR Т-клеток оценивают путем вычисления процента живых Т-клеток, трансдуцированных CAR, по сравнению с их общим количеством после инкубации с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления пролиферацию CAR Т-клеток оценивают путем разбавления красителя, используемого для окрашивания CAR Т-клеток, перед инкубацией с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления экспрессию маркеров активации Т-клеток оценивают с помощью проточной цитометрии с окрашиванием на антитела, распознающие маркеры активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления маркеры активации Т-клеток выбирают из группы, состоящей из CD25, CD26, CD27, CD28, CD30, CD69, CD71, CD134, CD137 и CD154. В некоторых вариантах осуществления период инкубации составляет от примерно 1 до примерно 10 дней (например, примерно любое из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дней, включая любые диапазоны между этими значениями).

[0546] В некоторых вариантах осуществления представлен способ мониторинга препарата CAR Т-клеток, где CAR содержит целевое антитело, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2, или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий а) инкубацию части препарата с агонистическим антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое нацеливается на CAR или связывает его; и б) определение наличия, отсутствия или степени активации, стимуляции и/или экспансии CAR Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления препарат CAR Т-клеток может представлять собой клетки, продуцированные или созданные в определенных условиях, желательных для тестирования. В некоторых вариантах осуществления мониторинг выполняют в связи с анализом высвобождения, например, для проверки клеток перед введением субъекту. В некоторых аспектах способ дополнительно включает с) проверку

препарата на уровень активации CAR Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления активацию CAR Т-клеток в препарате оценивают путем определения жизнеспособности, пролиферации и/или экспрессии маркеров активации Т-клеток в CAR Т-клетках после периода инкубации с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления жизнеспособность CAR Т-клеток оценивают путем вычисления процента живых Т-клеток, трансдуцированных CAR, относительно их общего количества после инкубации с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления пролиферацию CAR Т-клеток оценивают путем разбавления красителя, используемого для окрашивания CAR Т-клеток, перед инкубацией с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления экспрессию маркеров активации Т-клеток оценивают с помощью проточной цитометрии с окрашиванием на антитела, распознающие маркеры активации Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления маркеры активации Т-клеток выбирают из группы, состоящей из CD25, CD26, CD27, CD28, CD30, CD69, CD71, CD134, CD137 и CD154. В некоторых вариантах осуществления период инкубации составляет от примерно 1 до примерно 10 дней (например, примерно любое из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 дней, включая любые диапазоны между этими значениями).

[0547] В некоторых вариантах осуществления целевое антитело представляет собой анти-BCMA антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 1. В некоторых из любых таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 2, например, как описано в Разделе I.A.

[0548] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 2, такое как любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например в Разделе I.A. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, такое как любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например, в Разделе I.B.

С. Применение для инактивации/истощения клеток

[0549] В некоторых вариантах осуществления представленные антиидиотипические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты являются антагонистами и/или проявляют специфическую активность в отношении ингибирования, абляции и/или истощения (например, уничтожения через антителозависимую клеточно-

опосредованную цитотоксичность, ADCC) клеток, экспрессирующих целевое антитело, такое как анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент. Также представлены способы, включающие использование предлагаемых антиидиотипических антител и молекул (таких как конъюгаты и комплексы), содержащих одно или более таких антиидиотипических антител, для инактивации, абляции и/или истощения CAR T-клеток, где CAR содержит целевое антитело, такое как анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0550] В некоторых вариантах осуществления способы включают обработку, приведение в контакт и/или инкубацию композиции и/или образца, содержащего T-клетки, трансдуцированные CAR, с антиидиотипическим антителом. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают определение, инактивированы ли CAR T-клетки, например, путем оценки жизнеспособности, пролиферации и/или экспрессии маркеров активации в CAR T-клетках. В некоторых вариантах осуществления способы связаны с терапией, включающей введение CAR T-клеток. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение антиидиотипического антитела индивидууму. В одном из вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или конъюгат используют для удаления и/или истощения (например, уничтожения) CAR T-клеток у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело представляет собой анти-BCMA антитело. В некоторых вариантах осуществления целевое антитело является или происходит от целевого антитела 1 или целевого антитела 2 или их антигенсвязывающих фрагментов.

[0551] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят для истощения, снижения и/или уменьшения количества клеток, экспрессирующих CAR, у субъекта. В конкретных вариантах осуществления введение антиидиотипического антитела приводит к истощению, снижению и/или уменьшению количества клеток, экспрессирующих CAR, например, циркулирующих CAR T-клеток, на по меньшей мере 25%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,9%, 100% или примерно 100%. В некоторых вариантах осуществления истощение, уменьшение и/или снижение относится к количеству клеток, экспрессирующих CAR, в организме субъекта до введения антиидиотипического антитела. В конкретных вариантах осуществления истощение, снижение и/или уменьшение относится к количеству клеток, экспрессирующих CAR, в организме субъекта, которому не вводили антиидиотипическое антитело. В некоторых вариантах осуществления после введения антиидиотипического антитела в организме субъекта не обнаруживаются клетки, экспрессирующие CAR. В конкретных вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело.

[0552] В некоторых вариантах осуществления представлен способ инактивации

CAR T-клеток, где CAR содержит целевое антитело, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, включающий инкубирование образца, содержащего CAR T-клетки с антагонистическим антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, нацеленным на CAR, тем самым инактивируя CAR T-клетки в образце. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело используют в количестве, достаточном для ослабления активации CAR T-клеток в образце. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело используется в количестве, достаточном для существенной инактивации CAR T-клеток в образце. В некоторых вариантах осуществления инкубация с антиидиотипическим антителом приводит к абляции и/или истощению CAR T-клеток в образце. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело используют в количестве, достаточном для клиренса CAR T-клеток в образце.

[0553] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят для истощения, снижения и/или уменьшения активности CAR и/или клеток, экспрессирующих CAR, в организме субъекта. В конкретных вариантах осуществления введение антиидиотипического антитела снижает и/или уменьшает стимуляцию и/или активацию CAR и/или клетки, экспрессирующей CAR, на по меньшей мере 25%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,9%, 100% или примерно 100%. В некоторых вариантах осуществления снижение и/или уменьшение связано со стимуляцией и/или активностью CAR и/или клеток, экспрессирующих CAR, в организме субъекта до введения антиидиотипического антитела. В конкретных вариантах осуществления снижение и/или уменьшение связано со стимуляцией и/или активностью CAR и/или клеток, экспрессирующих CAR, в организме субъекта, которому не вводят антиидиотипическое антитело. В некоторых вариантах осуществления активность и/или стимуляция относится к одному или более аспектам рецептора CAR или активности CAR T-клеток и может быть оценена любыми подходящими известными способами, включая любые способы, представленные в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления после введения антиидиотипического антитела в организме субъекта не обнаруживают активность и/или стимуляцию CAR и/или клеток, экспрессирующих CAR. В конкретных вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело.

[0554] В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят для предотвращения, уменьшения и/или снижения связывания антигена или антигенсвязывающей способности CAR и/или клеток, экспрессирующих CAR. В конкретных вариантах осуществления введение антиидиотипического антитела приводит к снижению и/или уменьшению связывания антигена или антигенсвязывающей способности CAR и/или клетки, экспрессирующей CAR, на по меньшей мере 25%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%,

по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 99%, по меньшей мере 99,9%, 100% или примерно 100%. В некоторых вариантах осуществления снижение и/или уменьшение связано со связыванием антигена и/или антигенсвязывающей способностью клеток, экспрессирующих CAR, и/или CAR у субъекта до введения антиидиотипического антитела. В конкретных вариантах осуществления снижение и/или уменьшение связано со связыванием антигена и/или антигенсвязывающей способностью клеток, экспрессирующих CAR, и/или CAR у субъекта, которому не вводят антиидиотипическое антитело. В конкретных вариантах осуществления антиидиотипическое антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело.

[0555] В некоторых вариантах осуществления представлен способ абляции и/или истощения (например, уничтожения) CAR Т-клеток, где CAR содержит целевое антитело, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, включающий инкубацию образца, содержащего CAR Т-клетки, с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, нацеленным на CAR, тем самым приводя к абляции и/или истощению CAR Т-клеток в образце. В некоторых вариантах осуществления абляция и/или истощение происходит за счет антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC). В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело используется в количестве, достаточном для абляции и/или истощения практически всех CAR Т-клеток в образце.

[0556] В некоторых вариантах осуществления представлен способ корректировки терапии CAR Т-клетками у индивидуума, где CAR содержит целевое антитело, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, включающий введение индивидууму антагонистического антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, нацеленного на CAR, тем самым инактивируя CAR Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят в количестве, достаточном для ослабления активации Т-клеток CAR у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят в количестве, достаточном для существенной инактивации CAR Т-клеток у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления введение антиидиотипического антитела приводит к абляции и/или истощению CAR Т-клеток у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело вводят в количестве, достаточном для клиренса CAR Т-клеток у индивидуума.

[0557] В некоторых вариантах осуществления предложен способ корректировки терапии CAR Т-клетками у индивидуума, где CAR содержит целевое антитело, такое как целевое антитело 1 или целевое антитело 2 или их антигенсвязывающие фрагменты, включающий введение индивидууму иммуноконъюгата антиидиотипического антитела, нацеленного на CAR, где иммуноконъюгат антиидиотипического антитела содержит цитотоксический агент. В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат антиидиотипического антитела вводят в количестве, достаточном для ослабления терапии CAR Т-клетками у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат

антиидиотипического антитела вводят в количестве, достаточном для по существу прекращения терапии CAR T-клетками у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат антиидиотипического антитела вводят в количестве, достаточном для клиренса CAR T-клеток у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент выбирают из группы, состоящей из химиотерапевтических агентов или лекарственных средств, ингибирующих рост агентов, токсинов (например, белковых токсинов, ферментативно активных токсинов бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или их фрагментов) и радиоактивных изотопов.

[0558] В некоторых вариантах осуществления представлен способ истощения клеток, включающий введение субъекту композиции, содержащей антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, как предусмотрено в настоящем описании, или иммуноконъюгата, как предусмотрено в настоящем описании, которое связывает или распознает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2), где субъекту вводили клетку, экспрессирующую CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления истощение происходит за счет опосредованной антителами цитотоксичности (ADCC).

[0559] В некоторых вариантах осуществления целевое антитело представляет собой анти-BCMA антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 1. В некоторых из таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 2, например, как описано в Разделе I.A.

[0560] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 2, такое как любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например в Разделе I.A. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и целевое антитело 2, например любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например в Разделе I.B.

D. Применение в анализе или методе связывания

[0561] В настоящем описании представлены способы оценки наличия или отсутствия в образце молекулы, которая связывается с химерным антигенным рецептором

(CAR), таким как внеклеточный домен CAR или его часть, содержащая антигенсвязывающий домен. В некоторых вариантах осуществления способы можно использовать для оценки наличия или отсутствия гуморального ответа или ответа в виде образования антител у субъекта, получающего терапию на основе клеток, содержащих химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит целевое антитело, которое представляет собой целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления химерный антигенный рецептор содержит целевое антитело, которое представляет собой целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает внеклеточный домен CAR, такое как любое из представленных в настоящем описании, можно использовать в способе в качестве положительного контроля.

[0562] В конкретных вариантах осуществления способ включает приведение образца в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое связывает или распознает внеклеточный домен CAR, при концентрации антиидиотипического антитела от 10 нг/мл до 100 мкг/мл, от 100 нг/мл до 1,0 мкг/мл, от 250 нг/мл до 10 мкг/мл, от 250 нг/мл до 1 мкг/мл, от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл, от 250 нг/мл до 2,5 мкг/мл или от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация антиидиотипического антитела составляет от 250 нг/мл до 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления концентрация антиидиотипического антитела составляет примерно 0,1 мкг/мл, 0,25 мкг/мл, 0,5 мкг/мл, 1,0 мкг/мл, 1,25 мкг/мл, 2 мкг/мл, 2,5 мкг/мл или 5 мкг/мл антиидиотипического антитела.

[0563] В некоторых аспектах адоптивная клеточная терапия может быть связана с развитием иммунного ответа у субъекта на введенные клетки и/или конструкцию. Например, в некоторых случаях воздействие химерного рецептора может быть ограничено иммунными ответами хозяина на рекомбинантные рецепторы, экспрессируемые введенными клетками, что может привести к преждевременной элиминации клеток. Замечено, что даже у некоторых субъектов, страдающих В-клеточными злокачественными новообразованиями, которые часто имеют ослабленный иммунитет, могут быть обнаружены иммунные ответы, специфичные к областям рецепторов, экспрессируемых клетками, введенными во время адоптивной клеточной терапии. Например, у субъектов, например у субъектов-людей, которым вводили клетки, с генетически сконструированными CAR, может развиваться специфический иммунный ответ на иммуногенную область химерной области, включая области, которые могут содержать отличные от человеческих последовательности (например, мышинный scFv), и/или на область, содержащую соединение между двумя доменами или частями химерного рецептора, например трансмембранным и костимулирующим доменами CAR.

[0564] В некоторых вариантах осуществления представлены способы, которые включают приведение в контакт или инкубацию связывающего реагента с образцом,

полученным от субъекта, получавшего клеточную терапию, включающую клетки, сконструированные с химерным антигенным рецептором, в котором связывающий реагент представляет собой белок, который включает внеклеточный домен CAR или его часть, содержащую целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают определение, образуется ли комплекс между связывающим реагентом и молекулой, например связывающей молекулой, такой как антитело, присутствующей в образце, и/или детектирование наличия или отсутствия, или уровня такого связывания. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт или инкубацию выполняют в условиях, допускающих связывание связывающего реагента с молекулой, присутствующей в образце субъекта. В некоторых аспектах способ может быть дополнительно реализован в отношении образца положительного контроля, содержащего антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает CAR, такое как любое из описанных. В некоторых вариантах осуществления определение наличия, отсутствия или уровня связывания молекулы со связывающим реагентом может включать сравнение связывания или детектирование связывания образца положительного контроля со связывающим реагентом или детектирование образца положительного контроля.

[0565] В некоторых вариантах осуществления клеточная терапия представляет собой или включает генно-инженерные клетки, экспрессирующие анти-BCMA CAR, содержащий целевое антитело, которое представляет собой целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент, где связывающий реагент содержит внеклеточный домен CAR или его часть, содержащую целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0566] В некоторых вариантах осуществления клеточная терапия представляет собой или включает генно-инженерные клетки, экспрессирующие анти-BCMA CAR, содержащие целевое антитело, которое представляет собой целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, где связывающий реагент содержит внеклеточный домен CAR или его часть, содержащую целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления положительный контроль включает антиидиотипическое антитело, описанное в подразделе I.A.

[0567] В некоторых вариантах осуществления способы включают определение образования комплекса между связывающим реагентом и молекулой, например связывающей молекулой, такой как антитело, присутствующей в образце, и/или детектирование наличия или отсутствия или уровня такого связывания. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт или инкубирование осуществляют в условиях, допускающих связывание связывающего реагента с молекулой, присутствующей в образце субъекта. В некоторых аспектах комплекс выявляют с помощью иммунологического анализа, необязательно сэндвич-анализа или мостикового анализа. Например, иммуноанализ представляет собой твердофазный иммуноферментный

анализ (ELISA), хемилюминесцентный, электрохемилюминесцентный анализ, биосенсор на основе поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, BIAcore), проточную цитометрию или вестерн-блот. В некоторых вариантах осуществления иммуноанализ представляет собой или включает обнаружение в мезомасштабе.

[0568] В некоторых аспектах иммуноанализ представляет собой сэндвич-анализ или мостиковый анализ. В сэндвич-анализе или мостиковом анализе связывающий реагент представляет собой первый связывающий реагент, и детектирование наличия или отсутствия молекулы или комплекса, содержащего молекулу, включает приведение в контакт комплекса, образованного между первым связывающим реагентом и молекулой, со вторым связывающим реагентом, где второй связывающий реагент представляет собой агент, который способен связываться с той же или аналогичной молекулой, что и первый связывающий реагент. В некоторых вариантах осуществления второй связывающий реагент содержит внеклеточный домен CAR или его часть. В некоторых аспектах внеклеточные домены CAR или их части в первом связывающем агенте и втором связывающем агенте являются одинаковыми или по существу одинаковыми.

[0569] В некоторых вариантах осуществления связывающий реагент, такой как первый и/или второй связывающий реагент, является детектируемо меченным или способен генерировать детектируемый сигнал. Связывающий реагент, такой как первый и/или второй связывающий реагент, непосредственно или опосредованно связан с детектируемой меткой. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка представляет собой или включает флуоресцентную метку, хемилюминесцентную метку, электролюминесцентную метку, колориметрическую метку, биолуминесцентную метку или радиоактивную метку. В некоторых вариантах осуществления связывающий реагент, такой как первый и/или второй связывающий реагент, непосредственно или опосредованно связан с SULFO-меткой. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из первого и второго связывающих реагентов является детектируемо меченным или способен генерировать детектируемый сигнал, а другой из первого и второго связывающих реагентов присоединен или иммобилизован на твердой подложке. В некоторых аспектах первый связывающий реагент присоединен или иммобилизован на твердой подложке или может быть присоединен или иммобилизован на твердой подложке. Способы непосредственного или опосредованного присоединения связывающего реагента к твердой подложке хорошо известны в данной области техники. Способы присоединения обычно включают неспецифическую адсорбцию связывающего реагента на твердом носителе или ковалентное присоединение связывающего реагента, обычно через свободную аминогруппу, к химически активной группе на твердом носителе, такой как активированная карбоксильная, гидроксильная или альдегидная группа. Методы присоединения также включают опосредованное присоединение связывающего реагента к твердой подложке, например, путем покрытия твердой подложки захватывающим реагентом, таким как стрептавидин, и добавления к твердой подложке связывающих реагентов с аффинной меткой, таких как реагенты, меченные

биотином, при этом взаимодействие между аффинной меткой (например, биотином) и реагентом захвата (например, стрептавидином) приводит к иммобилизации связывающего реагента на твердой подложке. В некоторых вариантах осуществления первый связывающий реагент непосредственно или опосредованно связан с биотином. В некоторых примерах первый растворимый реагент связан с твердой подложкой, покрытой стрептавидином. В некоторых вариантах осуществления второй связывающий реагент непосредственно или опосредованно связан с детектируемой меткой, необязательно SULFO-меткой.

[0570] В конкретных вариантах осуществления образец приводят в контакт с первым связывающим реагентом, который прикреплен, связан, покрыт и/или конъюгирован с твердой поверхностью или подложкой, например планшетом или лункой. В некоторых вариантах осуществления первый связывающий реагент прикреплен, связан, покрыт и/или конъюгирован с твердой поверхностью или подложкой путем опосредованного присоединения связывающего реагента к твердой подложке, например, путем покрытия твердой подложки реагентом захвата, таким как стрептавидин, и добавлением к твердой подложке аффинно-меченых связывающих реагентов, таких как реагенты, меченные биотином, при этом взаимодействие между аффинной меткой (например, биотином) и реагентом захвата (например, стрептавидином) приводит к иммобилизации связывающего реагента на твердой подложке. В некоторых вариантах осуществления образец контактирует со вторым связывающим реагентом, который непосредственно или опосредованно связан с SULFO-меткой. В конкретных вариантах осуществления первый и/или второй связывающие реагенты используют при концентрации антиидиотипического антитела, составляющей от 10 нг/мл до 100 мкг/мл, от 100 нг/мл до 1,0 мкг/мл, от 250 нг/мл до 10 мкг/мл, от 250 нг/мл до 1 мкг/мл, от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл, от 250 нг до 2,5 мкг/мл или от 1 мкг/мл до 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления твердую поверхность или подложку инкубируется при концентрации от 250 нг/мл до 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления твердую поверхность или подложку инкубируют при концентрации, равной или составляющей примерно 0,25 мкг/мл, 0,5 мкг/мл, 1,0 мкг/мл, 1,25 мкг/мл, 2 мкг/мл, 2,5 мкг/мл, 5 мкг/мл или 10 мкг/мл.

[0571] В некоторых вариантах осуществления образец, полученный от субъекта, который получал клеточную терапию, включающую клетки, сконструированные с химерным антигенным рецептором, представляет собой или содержит любой образец жидкости организма, полученной от субъекта. В некоторых аспектах образец представляет собой или содержит цельную кровь, сыворотку или плазму. В некоторых вариантах осуществления образец получают от субъекта в пределах или в пределах примерно от 1 часа до 1 года после начала введения клеточной терапии или дозы клеток, например, в пределах или в пределах примерно 6 часов, 12 часов, 24 часов, одной недели, двух недель, трех недель, одного месяца, двух месяцев, трех месяцев, четырех месяцев, пяти месяцев, шести месяцев, семи месяцев, восьми месяцев, девяти месяцев, десяти

месяцев, одиннадцати месяцев или двенадцати месяцев. В некоторых аспектах образец получают от субъекта в пределах от примерно 1 месяца до 6 месяцев с начала введения клеточной терапии, например, от 2 месяцев до 6 месяцев или от 2 месяцев до 4 месяцев, например, в пределах примерно или приблизительно 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев после начала введения клеточной терапии.

[0572] В некоторых вариантах осуществления целевое антитело представляет собой анти-BCMA антитело. В некоторых из таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 1. В некоторых из таких вариантов осуществления анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 2, например, описанное в Разделе I.A.

[0573] В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 2, такое как любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например, в Разделе I.A. В некоторых из таких вариантов осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое антитело 1 и/или целевое антитело 2, такое как любое антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в настоящем описании, например, в Разделе I.B.

V. ГОТОВЫЕ ИЗДЕЛИЯ ИЛИ НАБОРЫ

[0574] Также представлены готовые изделия или наборы, содержащие представленные антиидиотипические антитела и/или композиции. В некоторых вариантах осуществления представлены готовые изделия, содержащие антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых случаях антиидиотипическое антитело связывает анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или химерный антигенный рецептор, содержащий анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых примерах анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 1. В некоторых примерах анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 2. В некоторых аспектах в готовых изделиях или наборах представлен конъюгат, содержащий антиидиотипические антитела, представленные в настоящем описании.

[0575] В некоторых вариантах осуществления набор или готовое изделие включает антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен или часть внеклеточного домена химерного антигенного рецептора (CAR), с которым связывается или который распознает

антиидиотипическое антитело, например, специфически связывает или распознает. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен CAR представляет собой или включает анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0576] В некоторых вариантах осуществления набор или готовое изделие включает антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и инструкции по применению антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для: (i) детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и/или (ii) отбора из клеточной популяции сконструированных клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или обогащения такими клетками, и/или (iii) стимуляции исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0577] В некоторых вариантах осуществления набор или готовое изделие включает связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где указанный внеклеточный домен или его часть содержит целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или иммуноконъюгат, как предусмотрено в настоящем описании.

[0578] В некоторых вариантах осуществления связывающий реагент представляет собой первый связывающий реагент, и набор или готовое изделие дополнительно включает второй связывающий реагент. В таких примерах второй связывающий реагент представляет собой агент, способный связываться с такой же или аналогичной молекулой, что и первый связывающий реагент. В некоторых вариантах осуществления второй связывающий реагент содержит внеклеточный домен CAR или его часть. В некоторых аспектах внеклеточные домены CAR или их части в первом связывающем агенте и втором связывающем агенте являются одинаковыми или по существу одинаковыми.

[0579] В некоторых вариантах осуществления связывающий реагент или по меньшей мере один из первого и второго связывающих реагентов связаны с меткой (например, детектируемой меткой), такой как метка, представленная в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из первого и второго связывающих реагентов присоединен к твердой подложке или может быть присоединен к твердой подложке, такой как твердая подложка, представленная в настоящем описании. В некоторых аспектах один из первого и второго связывающих реагентов является меченным детектируемой меткой или способен генерировать детектируемый сигнал, и другой из первого и второго связывающих реагентов присоединен или иммобилизован на твердой подложке. В некоторых вариантах осуществления связывающие реагенты представлены в виде набора или части системы, как раскрыто в другом месте в настоящем описании, для применения в связи с

иммуноанализом (например, сэндвич-анализом или мостовым анализом). В некоторых вариантах осуществления первый связывающий реагент связан с твердой подложкой, необязательно твердой подложкой, покрытой стрептавидином. В некоторых вариантах осуществления второй растворимый белок непосредственно или опосредованно связан с детектируемой меткой, такой как SULFO-метка.

[0580] В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых аспектах антиидиотипическое антитело связывает анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или химерный антигенный рецептор, содержащий анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых примерах анти-BCMA антитело представляет собой целевое антитело 1 или целевое антитело 2. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представлены в качестве образца положительного контроля. В некоторых примерах образец положительного контроля образует комплекс с первым и вторым растворимыми белками или реагентами, которые содержат области внеклеточного домена химерного антигенного рецептора (CAR), содержащего анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0581] В некоторых вариантах осуществления набор или готовое изделие включает картриджное устройство, например, для использования в любом из способов, описанных в Разделе IV.A. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит камеру для композиции образца. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит блистерный отсек. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит отсек для обработки, выполненный с возможностью смешивать жидкости, при этом указанный отсек для обработки сообщается по текучей среде с камерой для композиции образца и блистерным отсеком. В некоторых вариантах осуществления микрофлюидный картридж содержит камеру оценки, включающую зону считывания, при этом камера оценки сообщается по текучей среде с камерой обработки. В некоторых вариантах осуществления зона считывания выполнена с возможностью выполнения анализа образца, когда он проходит через зону считывания.

[0582] В некоторых вариантах осуществления блистер содержит антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело конъюгировано с детектируемой меткой, например флуоресцентной меткой. В некоторых аспектах антиидиотипическое антитело связывает анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или химерный антигенный рецептор, содержащий анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых примерах анти-BCMA антитело представляет собой целевое анти-BCMA антитело, описанное, например, в Разделе I.A.

[0583] В некоторых вариантах осуществления набор или готовое изделие включает лиофилизированное антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, например, для применения в любом из способов, описанных в Разделе IV.A. В

некоторых вариантах осуществления лиофилизированное антиидиотипическое антитело конъюгировано с детектируемой меткой, например флуоресцентной меткой. В некоторых аспектах лиофилизированное антиидиотипическое антитело связывает анти-ВСМА антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или химерный антигенный рецептор, содержащий анти-ВСМА антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых примерах анти-ВСМА антитело представляет собой целевое анти-ВСМА антитело, представленное, например, в Разделе I.A. В некоторых вариантах осуществления представленное в сухом виде антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержится в пробирке. В некоторых вариантах осуществления пробирка дополнительно содержит другие лиофилизированные реагенты, например, другие меченые антитела, красители или агенты для лизиса клеток.

[0584] В некоторых вариантах осуществления набор или готовое изделие содержит реагенты или компоненты для осуществления любого из представленных способов. В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержат один или более реагентов или других материалов, желательных с коммерческой, терапевтической и пользовательской точки зрения, включая вторичные антитела, аффинные метки, реагенты захвата, буферы, разбавители, агенты для детектирования сигнала, фильтры, иглы, шприцы, капиллярные трубки и листы-вкладыши с инструкциями по применению.

[0585] В некоторых вариантах осуществления наборы могут быть предоставлены в виде готовых изделий, которые включают упаковочные материалы для упаковки антител или их композиций или одного или более дополнительных реагентов, например, связывающих реагентов или компонентов. Например, наборы могут содержать контейнеры, бутылки, пробирки, флаконы и любой упаковочный материал, пригодный для разделения или организации компонентов набора.

[0586] В некоторых вариантах осуществления набор включает один или более контейнеров. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы (например, двухкамерные флаконы), шприцы (такие как однокамерные или двухкамерные шприцы) и пробирки. Один или более контейнеров могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Один или более контейнеров содержат композицию, содержащую антитело или другие реагенты, например, связывающие реагенты для использования в способах. Изделие или набор в контексте настоящего описания могут содержать антитела или реагенты в отдельных контейнерах или в одном и том же контейнере. В некоторых вариантах осуществления один или более контейнеров, содержащих композицию, могут представлять собой флакон одноразового или многократного использования, что в некоторых случаях допускает повторное использование восстановленной композиции.

[0587] В некоторых вариантах осуществления изделие или комплект могут дополнительно содержать второй контейнер, содержащий подходящий разбавитель. Изделие или набор могут дополнительно включать другие материалы, желательные с коммерческой, терапевтической и пользовательской точек зрения, включая другие

буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы, терапевтические агенты и/или вкладыши в упаковки с инструкциями по применению.

[0588] Готовые изделия могут включать контейнер и этикетку или вкладыш в упаковку, которые находятся в контейнере или связаны с ним. Подходящие контейнеры включают, например, бутылки, флаконы, шприцы, пакеты с раствором для внутривенного введения и т.д. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер в некоторых вариантах осуществления содержит композицию, содержащую антиидиотипическое антитело, представленное в настоящем описании, которое само по себе или в комбинации с другой композицией является эффективным для лечения, профилактики и/или диагностики заболевания или состояния. В некоторых вариантах осуществления контейнер имеет стерильное отверстие для доступа. Примеры контейнеров включают пакеты для внутривенных растворов, флаконы, в том числе с пробками, прокалываемыми иглой для инъекций. Готовое изделие может включать первый контейнер с содержащейся в нем композицией, где композиция включает антиидиотипическое антитело. Альтернативно или дополнительно изделие может также включать другой или тот же контейнер, содержащий приемлемый буфер. Оно может дополнительно включать другие материалы, такие как другие буферы, разбавители, фильтры, иглы и/или шприцы.

[0589] В некоторых вариантах осуществления изделие или набор содержит твердую подложку, включая твердую подложку, выполненную из стекла (например, стекла с контролируемым размером пор), полисахаридов (например, агарозы), полиакриламидов, полистирола, поливинилового спирта, нитроцеллюлозы, целлюлозы, нейлона, силикона и других материалов, хорошо известных в данной области, которые используются в твердой подложке для непосредственного или опосредованного прикрепления связывающего реагента, как описано. Твердые подложки, включенные в изделия или наборы, представленные в настоящем описании, включают, без ограничения, гранулу, колонку (например, хроматографическую колонку и т.д.), матрицу (например, микрочип, наночип и т.д.), планшет для анализа, картридж, палочку, фильтр, полоску или любую другую твердую подложку, представленную в настоящем описании.

[0590] В некоторых вариантах осуществления изделие или набор могут дополнительно содержать второй контейнер, содержащий подходящий разбавитель. Изделие или набор могут дополнительно включать другие материалы, желательные с коммерческой, терапевтической и пользовательской точек зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы, терапевтические агенты и/или вкладыши в упаковки с инструкциями по применению.

[0591] В некоторых вариантах осуществления набор необязательно может включать инструкции. Инструкции обычно включают материальное выражение, описывающее антитела и, необязательно, другие компоненты, включенные в набор, например связывающий реагент, и способы применения антител и/или других компонентов в комбинации с любым из описанных применений или способов. В

некоторых вариантах инструкции представлены в виде этикетки или листка-вкладыша, который находится в контейнере или связан с ним. В некоторых вариантах осуществления в инструкциях могут указываться указания по восстановлению и/или применению композиции.

[0592] В некоторых вариантах осуществления представлены инструкции по применению антиидиотипического антитела для детектирования целевого антитела 1 или его антигенсвязывающего фрагмента или химерного антигенного рецептора, содержащего целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, согласно или в сочетании с любым из способов или анализов, как описано. В некоторых примерах приведены инструкции по применению антиидиотипического антитела для отбора из клеточной популяции сконструированных клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент или обогащения такими клетками. В некоторых примерах приведены инструкции по применению антиидиотипического антитела для стимуляции исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор, содержащий целевое антитело 1 или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0593] В некоторых вариантах осуществления предоставлены инструкции по применению антиидиотипического антитела для детектирования целевого антитела 2 или его антигенсвязывающего фрагмента или химерного антигенного рецептора, содержащего целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, согласно или в сочетании с любым из способов или анализов, как описано. В некоторых аспектах представлены инструкции по применению антиидиотипического антитела для отбора из клеточной популяции сконструированных клеток, экспрессирующих химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент, или обогащения такими клетками. В некоторых вариантах осуществления представлены инструкции по применению антиидиотипического антитела для стимуляции исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие химерный антигенный рецептор, содержащий целевое антитело 2 или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0594] В некоторых вариантах осуществления представлены инструкции по применению набора, представленного для детектирования молекулы, которая связывает химерный антигенный рецептор клеточной терапии, такой как антитело, например, антитело, продуцируемое в результате гуморального иммунного ответа на химерный антигенный рецептор (CAR). В некоторых вариантах осуществления представлены инструкции по приведению связывающего реагента в контакт с образцом, полученным от субъекта, которому вводили клеточную терапию, включающую клетки, сконструированные с CAR, содержащим целевое антитело, которое представляет собой анти-BCMA антитело (например, целевое антитело 1 или целевое антитело 2) или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом связывающий реагент содержит внеклеточный домен CAR или часть внеклеточного домена, содержащего целевое антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых аспектах в инструкциях также указано детектирование наличия или отсутствия комплекса, включающего связывающие реагенты и молекулу из образца, которая связывает как первый, так и второй связывающий реагент, причем необязательно молекула представляет собой или содержит антитело. В некоторых аспектах анти-ВСМА антитело представляет собой целевое антитело 1. В некоторых аспектах анти-ВСМА антитело представляет собой целевое антитело 2. В некоторых дополнительных вариантах осуществления представлены инструкции по применению связывающих реагентов и образца положительного контроля.

VI. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0595] Если не указано иное, все термины в области техники, обозначения и другие технические и научные термины или терминология, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, в котором их обычно понимает специалист в области техники, к которой относится заявленный объект изобретения. В некоторых случаях термины с общепринятыми значениями определены в настоящем описании для ясности и/или для удобства ссылки, и включение таких определений в настоящее описание не обязательно следует толковать как существенно отличающееся от того, как их обычно понимают в данной области техники.

[0596] В контексте настоящего описания термин «соответствующая форма» антитела означает, что при сравнении свойства или активности двух антител свойства сравнивают применительно к одной и той же форме антитела. Например, если указано, что антитело обладает более высокой активностью по сравнению с активностью соответствующей формы первого антитела, это означает, что конкретная форма, такая как scFv этого антитела, обладает более высокой активностью по сравнению с формой scFv первого антитела.

[0597] В контексте настоящего описания, указание на то, что положения нуклеотидов или аминокислот «соответствуют» положениям нуклеотидов или аминокислот в раскрытой последовательности, например, изложенной в перечне последовательностей, относится к положениям нуклеотидов или аминокислот, идентифицированным при выравнивании с раскрытой последовательностью для достижения максимальной идентичности с помощью стандартного алгоритма выравнивания, такого как алгоритм GAP. При выравнивании последовательностей специалист в данной области может идентифицировать соответствующие остатки, например, используя в качестве направляющих консервативные и идентичные аминокислотные остатки. Как правило, для определения соответствующих положений аминокислотные последовательности выравнивают таким образом, чтобы было получено максимальное соответствие (см., например: Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993. Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, и Sequence Analysis

Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; Carrillo et al. (1988) SIAM J Applied Math 48:1073).

[0598] «Эффекторные функции» относятся к тем биологическим активностям, которые относятся к Fc-области антитела и которые изменяются в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антител включают: связывание C1q и комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC); связывание Fc-рецептора; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; понижающую регуляцию рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора); и активацию B-клеток.

[0599] В контексте настоящего описания термин «Fc-область» используется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Термин включает Fc-области с нативной последовательностью и варианты Fc-области. В одном из вариантов осуществления Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG простирается от Cys226 или от Pro230 до карбоксильного конца тяжелой цепи. Однако C-концевой лизин (Lys447) Fc-области может присутствовать или отсутствовать. Если в настоящем описании не указано иное, нумерация аминокислотных остатков в Fc-области или константной области соответствует системе нумерации ЕС, также называемой индексом ЕС, как описано в Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

[0600] Термины «полноразмерное антитело», «интактное антитело» и «полное антитело» используются в настоящем описании взаимозаменяемо для обозначения антитела, имеющего структуру, которая по существу аналогична структуре нативного антитела, или имеющего тяжелые цепи, которые содержат Fc-область, как определено в настоящем описании.

[0601] «Выделенное» антитело представляет собой антитело, которое было отделено от компонента его природного окружения. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело очищают до чистоты более 95% или 99%, определенной, например, электрофоретически (например, методом SDS-PAGE, изоэлектрическим фокусированием (IEF), капиллярным электрофорезом) или хроматографически (например, ионообменным ВЭЖХ или ВЭЖХ с обращенной фазой). Обзор способов оценки чистоты антител см., например, в Flatman et al., *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007).

[0602] «Выделенная» нуклеиновая кислота относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая была отделена от компонента ее природного окружения. Выделенная нуклеиновая кислота включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в клетках, которые обычно содержат молекулу нуклеиновой кислоты, но молекула нуклеиновой кислоты присутствует внехромосомно или расположена в хромосоме в положении, которое отличается от естественного положения в хромосоме.

[0603] «Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антиидиотипическое

антитело» относится к одной или более молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим тяжелые и легкие цепи антитела (или их фрагменты), включая такую(ие) молекулу(ы) нуклеиновой кислоты, расположенную(ые) в одном векторе или отдельных векторах, и такая молекула(ы) нуклеиновой кислоты присутствует(ют) в одном или более местах в клетке-хозяине.

[0604] Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются взаимозаменяемо и относятся к клеткам, в которые была введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» и «трансформированные клетки», которые включают первичную трансформированную клетку и полученное из нее потомство независимо от количества пассажей. Потомство может не быть полностью идентичным по содержанию нуклеиновых кислот родительской клетке, но может содержать мутации. Настоящее описание включает мутантное потомство, обладающее такой же функцией или биологической активностью, на наличие которой была скринирована или отобрана исходно трансформированная клетка.

[0605] Используемый в настоящем описании термин «процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» и «процент идентичности» в контексте аминокислотной последовательности (эталонной полипептидной последовательности) определяется как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате (например, рассматриваемом антителе или его фрагменте), идентичных аминокислотным остаткам в последовательности эталонного полипептида, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей, без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения процентной идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, известными специалистам в данной области, например, с помощью общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[0606] Аминокислотная замена может включать замену одной аминокислоты в полипептиде другой аминокислотой. Замена может быть заменой консервативной аминокислоты или заменой неконсервативной аминокислоты. Аминокислотные замены могут быть введены в интересующую связывающую молекулу, например антитело, и продукты могут быть подвергнуты скринингу на желаемую активность, например сохранение/улучшение связывания антигена, снижение иммуногенности или улучшение ADCC или CDC.

[0607] Аминокислоты как правило могут быть сгруппированы в соответствии со

следующими общими свойствами боковой цепи:

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

[0608] В некоторых вариантах осуществления консервативные замены могут включать замену члена одного из этих классов на другой член того же класса. В некоторых вариантах осуществления неконсервативные аминокислотные замены могут включать замену члена одного из этих классов на другой класс.

[00609] Термин «вектор» в контексте настоящего описания относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной к размножению другой нуклеиновой кислоты, с которой она связана. Термин включает вектор как самовоспроизводящуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, включенный в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в настоящем описании «векторами экспрессии».

[0610] Термин «вкладыш в упаковку» используется для обозначения инструкций, обычно включаемых в коммерческие упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, применении, дозировке, введении, комбинированной терапии, противопоказаниях и/или предупреждениях относительно применения таких лечебных продуктов.

[0611] Используемые в настоящем описании указатели на формы единственного числа «a», «an» и «the» включают ссылки на множественное число, если из контекста в явном виде не следует иное. Например, указатель «a» или «an» означает «по меньшей мере один» или «один или более». Понятно, что аспекты и варианты, представленные в настоящем описании, включают «состоящие» и/или «по существу состоящие из» аспектов и вариантов.

[0612] В тексте настоящего описания различные аспекты заявленного объекта изобретения представлены в формате диапазона. Следует понимать, что описание в формате диапазона предназначено только для удобства и краткости и не должно рассматриваться как жесткое ограничение объема заявленного объекта изобретения. Соответственно, описание диапазона следует рассматривать, как раскрывающее все возможные поддиапазоны, а также отдельные числовые значения в пределах этого диапазона. Например, когда представлен диапазон значений, подразумевается, что заявленный объект изобретения включает каждое промежуточное значение между верхним и нижним пределом этого диапазона и любым другим установленным или промежуточным значением в указанном диапазоне. Верхние и нижние пределы этих меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны, и также

охвачены заявленным объектом изобретения, с учетом любого специально исключенного предела в указанном диапазоне. Если указанный диапазон включает один или оба предела, диапазоны, исключаящие один или оба из этих включенных пределов, также включены в заявленный объект изобретения. Это применимо независимо от широты диапазона.

[0613] В контексте настоящего описания термин «примерно» относится к обычно применяемому диапазону ошибок для соответствующего значения, хорошо известному специалисту в данной области техники. Указание «примерно» в контексте значения или параметра в настоящем описании включает (и описывает) варианты осуществления, которые направлены на это значение или параметр как таковой. Например, описание, относящееся к «примерно X», включает описание «X».

[0614] Термины «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Полипептиды, включая представленные антитела и цепи антител, а также другие пептиды, например линкеры, могут включать любые аминокислотные остатки, в том числе природные и/или неприродные аминокислотные остатки. Термины также включают модификации полипептида после экспрессии, например гликозилирование, сиамирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. В некоторых аспектах полипептиды могут содержать модификации относительно нативной или природной последовательности при условии, что белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, результатом направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, результатом мутаций хозяев, которые продуцируют белки, или ошибок, возникающих в ходе амплификации методом ПЦР.

[0615] Используемый в настоящем описании термин «композиция» относится к любой смеси двух или более продуктов, веществ или соединений, включая клетки. Это может быть раствор, суспензия, жидкость, порошок, паста, водная, неводная, или любая их комбинация.

[0616] Используемое в настоящем описании утверждение о том, что клетка или популяция клеток является «положительной» в отношении определенного маркера, относится к детектируемому присутствию на или в клетке определенного маркера, как правило поверхностного маркера. Когда речь идет о поверхностном маркере, этот термин относится к наличию поверхностной экспрессии, детектируемой методом проточной цитометрии, например, путем окрашивания антителом, которое связывается с маркером (например, специфически связывается с маркером), и детектирования указанного антитела, причем окрашивание детектируют с помощью проточной цитометрии на уровне, значительно превышающем уровень окрашивания, детектируемый при осуществлении той же процедуры с контролем, совпадающим по изотипу, в идентичных во всех иных отношениях условиях, и/или на уровне, по существу аналогичном уровню в клетке, которая, как известно, является положительной по этому маркеру, и/или на уровне, существенно более высоком по сравнению с уровнем в клетке, которая, как известно, является отрицательной по этому маркеру.

[0617] Используемое в настоящем описании утверждение о том, что клетка или популяция клеток являются «отрицательными» по конкретному маркеру, относится к отсутствию надежно детектируемого присутствия на или в клетке определенного маркера, обычно поверхностного маркера. Когда речь идет о поверхностном маркере, этот термин относится к отсутствию поверхностной экспрессии, детектируемой методом проточной цитометрии, например, путем окрашивания антителом, которое связывается с маркером (например, специфически связывается с маркером), и детектирования указанного антитела, при этом окрашивание не детектируется с помощью проточной цитометрии на уровне, значительно превышающем уровень окрашивания, детектируемый при осуществлении той же процедуры с контрольным изотипом в идентичных условиях, и/или детектируется на уровне, значительно более низком по сравнению с уровнем в клетке, которая, как известно, является положительной по этому маркеру, и/или детектируется на уровне, по существу аналогичном уровню в клетке, которая, как известно, является отрицательной по этому маркеру.

[0618] В настоящем описании утверждение о том, что антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент «связывает или распознает» конкретную(ые) мишень(и), например, целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или конкретный признак конкретной(ых) мишени(ей), например антигенсвязывающий домен целевого антитела или его антигенсвязывающий фрагмент, в некоторых вариантах осуществления относится к антиидиотипическому антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, которое специфически связывает или специфически распознает конкретную(ые) мишень(и) или конкретный признак конкретной(ых) мишени(ей). Для целей настоящего описания «специфически связывает» или «специфически распознает» конкретную(ые) мишень(и) относится к способности антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента специфически связывать или специфически распознавать эту конкретную(ые) мишень(и), но не другие мишени, например связывание с такой конкретной мишенью(ями) заметно отличается от неспецифического взаимодействия.

[0619] Термины «молекула нуклеиновой кислоты», «нуклеиновая кислота» и «полинуклеотид» могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к полимеру нуклеотидов. Такие полимеры нуклеотидов могут содержать природные и/или неприродные нуклеотиды и включают, без ограничения, ДНК, РНК и ПНК. «Последовательность нуклеиновой кислоты» относится к линейной последовательности нуклеотидов, которые составляют молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

VII. ПРИМЕРНЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0620] Представленные варианты осуществления включают:

1. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-ВСМА антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

ВН-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную

последовательность с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82 или 112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

2. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

3. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

4. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85 или 115.

5. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 2-4, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с

SEQ ID NO:82 или 112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

6. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-3 и 5, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115.

7. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-6, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

8. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-7, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83.

9. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-8, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85.

10. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-7, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:106; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:113.

11. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по

любому из вариантов осуществления 1-7 и 10, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

12. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-11, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий BCMA.

13. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-12, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

14. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 13, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

15. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 14, где одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью.

16. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 15, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14.

17. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 14-16, где одноцепочечный фрагмент целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), при этом необязательно scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

18. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-17, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает эпитоп в пределах CDR целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или эпитоп, включающий весь или часть CDR целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

19. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-18, где:

целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR.

20. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 17 или варианту осуществления 18, где:

scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть CAR.

21. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 19 или варианту осуществления 20, где CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер.

22. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 21, где спейсер представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, который необязательно содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50.

23. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 21 или варианту осуществления 22, где трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28, который необязательно представляет собой человеческий CD28.

24. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 21-23, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене CAR.

25. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-24, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или специфически не связывает CD28 или его часть, который необязательно является человеческим CD28.

26. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-25, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-домене, который необязательно является Fc-доменом человеческого IgG1.

27. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-26, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

28. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-27, где антиидиотипическое антитело имеет константу диссоциации с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, составляющую или составляющую примерно, или не превышающую или не превышающую примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ.

29. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-28, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не вступает в перекрестную реакцию с другим анти-BCMA антителом, которое необязательно содержится во внеклеточном

антигенсвязывающем домене другого CAR.

30. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 29, где другое анти-BCMA антитело:

(i) содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и/или VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26; и/или

(ii) содержит scFv, последовательность которого на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13; и/или

(iii) содержит CDR-H1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO:15, и/или CDR-H2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO:16, и/или CDR-H3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO:17, и/или CDR-L1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO:22, и/или CDR-L2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO:23, и/или CDR-L3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO:24; и/или

(iv) связывает эпитоп человеческого BCMA, который не является тем же самым эпитопом человеческого BCMA, с которым связывается целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

31. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-30, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, содержащего целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

32. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 31, где:

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда находится в растворенной форме; и/или

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе, при этом подложка или стационарная фаза необязательно представляет собой планшет или гранулу.

33. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-32, где связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом не блокируется человеческим BCMA или человеческим

BCMA-Fc.

36. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61.

37. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

38. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающим фрагментом и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

39. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39

или 63.

40. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 37-39, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61.

41. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36, 37 и 40, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

43. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-38, 40 и 41, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39 или 63.

44. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-38, 40 и 41, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности приведенной в SEQ ID NO:39; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности приведенной в SEQ ID NO:63.

45. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-44, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62, и область VL-содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63.

46. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-45, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37.

47. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-46, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39.

48. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-45, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:54; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:61.

49. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-45 и 48, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63.

50. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-49, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий BCMA, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий BCMA.

51. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-50, где:

первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12; и

второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

52. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по

варианту осуществления 51, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой первый одноцепочечный фрагмент, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой второй одноцепочечный фрагмент.

53. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 52, где первый одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью, и второй одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью.

54. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 53, где гибкий линкер первого одноцепочечного фрагмента и/или второго одноцепочечного фрагмента содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14.

55. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 52-54, где первый одноцепочечный фрагмент первого целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой первый scFv, и второй одноцепочечный фрагмент второго целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой второй scFv.

56. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 55, где первый scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13, и второй scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

57. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-56, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает:

эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR первого целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента; и

эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR второго целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

58. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-57, где:

первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части первого CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связан с первым целевым анти-BCMA антителом или антигенсвязывающим фрагментом, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части первого CAR.

59. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-58, где:

второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части второго CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связано со вторым целевым анти-BCMA антителом или антигенсвязывающим фрагментом, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части второго CAR.

60. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-57, где:

первый scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть первого CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связан с первым scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть первого CAR.

61. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-57, где:

второй scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть второго CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связан со вторым scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть второго CAR.

62. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 58-61, где первый CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер, и/или второй CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер.

63. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 62, где спейсер первого CAR и/или второго CAR представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, причем необязательно спейсер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50.

64. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 62 или варианту осуществления 63, где трансмембранный домен первого CAR и/или второго CAR содержит трансмембранную часть CD28, который необязательно является человеческим CD28.

65. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 62-64, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене первого CAR и/или второго CAR.

66. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-65, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или специфически не связывает CD28 или

его часть, который необязательно является человеческим CD28.

67. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-66, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-домене, который необязательно является Fc-доменом человеческого IgG1.

68. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-67, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

69. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-68, где антиидиотипическое антитело имеет константу диссоциации с первым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и/или вторым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, составляющую или составляющую примерно, или не превышающую, или не превышающую примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ.

70. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-69, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR, содержащего первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и/или является агонистом второго CAR, содержащего второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

71. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 70, где:

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR и/или второго CAR, когда находится в растворенной форме; и/или

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR и/или второго CAR, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе, где подложка или стационарная фаза необязательно представляет собой планшет или гранулу.

72. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-71, где связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с первым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и/или вторым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом не блокируется человеческим BCMA или человеческим BCMA-Fc.

73. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по

любому из вариантов осуществления 1-72, содержащее по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи и/или легкой цепи иммуноглобулина.

74. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 73, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит константную область тяжелой цепи, содержащую Fc-область или часть Fc, содержащую домены CH2 и CH3, и/или константную область легкой цепи, содержащую домен CL.

75. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 73 или варианту осуществления 74, где константная область происходит от IgG, необязательно IgG1.

76. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 74 или варианту осуществления 75, где константная область легкой цепи происходит от легкой каппа-цепи.

77. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-76, которое представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело.

78. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-35 и 73-77, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117.

79. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-35 и 73-78, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:87; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:117.

80. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-9, 12-35 и 73-79, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:87.

81. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-7, 10-35 и 73-79, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:117.

82. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-77, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40 или 64; и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41 или 65.

83. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-77 и 82, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65.

84. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-77, 82 и 83, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40 или 64; и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41 или 65.

85. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-77 и 82-84, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:65.

86. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по

любому из вариантов осуществления 36-47, 50-77 и 82-85, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41.

87. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 36-45, 48-77 и 82-85, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:65.

88. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-76, которое представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

89. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 88, где антигенсвязывающий фрагмент выбирают из Fab-фрагментов, F(ab')₂-фрагментов, Fab'-фрагментов, Fv-фрагментов, scFv или однодоменного антитела.

90. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-89, которое является гуманизированным.

91. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-90, которое является рекомбинантным.

92. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-91, которое является моноклональным.

93. Конъюгат, содержащий антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-92 и гетерологичную молекулу или компонент.

94. Конъюгат по варианту осуществления 93, где гетерологичная молекула или компонент представляет собой метку.

95. Конъюгат по варианту осуществления 94, где метку выбирают из флуоресцентного красителя, флуоресцентного белка, радиоизотопа, хромофора, иона металла, частицы золота, частицы серебра, магнитной частицы, полипептида, фермента, стрептавидина, биотина, люминесцентного соединения или олигонуклеотида.

96. Конъюгат по варианту осуществления 94, где гетерологичная молекула или компонент представляет собой белок, пептид, нуклеиновую кислоту или малую молекулу, которая необязательно представляет собой или содержит токсин или стрептококковую метку.

97. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) тяжелую цепь и/или легкую цепь антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из вариантов осуществления 1-92.

98. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:62, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:62; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:63, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:63; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

99. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:84, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:85, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

100. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:114, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:114; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:115, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

101. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:38, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:38; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:39, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

102. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97,

содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:64, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:65, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

103. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:86, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:87, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

104. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:116, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:117, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

105. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:40, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:40; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:41, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:41; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

106. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления

97-105, где нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую цепь и/или легкую цепь, содержит сигнальную последовательность.

107. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 97-106, где молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO:42, 43, 48, 49, 66-69, 88-91 и 118-121.

108. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 97-107.

109. Клетка, содержащая антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-92, молекулу нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 97-107 или вектор по варианту осуществления 108.

110. Способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий экспрессию тяжелой и/или легкой цепи, кодируемой молекулой нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 97-107 или вектором по варианту осуществления 108 в подходящей клетке-хозяине, и извлечение или выделение антитела.

111. Способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий культивирование клетки по варианту осуществления 109 в условиях, в которых происходит экспрессия тяжелой цепи и/или легкой цепи, и извлечение или выделение антитела.

112. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, полученные способом по варианту осуществления 110 или варианту осуществления 111.

113. Композиция, содержащая антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-92, конъюгат по любому из вариантов осуществления 93-96 или клетку по варианту осуществления 109.

114. Композиция по варианту осуществления 113, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

115. Набор, содержащий одно или более антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов по любому из вариантов осуществления 1-92, конъюгат по любому из вариантов осуществления 93-96, молекулу нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 97-107 и необязательно инструкции по применению.

116. Набор по варианту осуществления 115, дополнительно содержащий реагент или подложку для иммобилизации антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или конъюгата, где указанный реагент или подложка представляет собой гранулу, колонку, микролунку, палочку, фильтр, полоску или растворимый олигомерный реагент мутеина стрептавидина.

117. Способ детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

(а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) детектирование антиидиотипического антитела, связанного с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

118. Способ по варианту осуществления 117, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связано с клеткой или экспрессируется на поверхности клетки, и детектирование в (b) включает детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

119. Способ по варианту осуществления 118, где клетка экспрессирует на своей поверхности CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

120. Способ детектирования CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий:

(a) приведение клетки, экспрессирующей CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

121. Способ по варианту осуществления 120, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент непосредственно или опосредованно метят для детектирования.

122. Способ отбора клеток из клеточной популяции, включающий:

(a) приведение клеточной популяции, экспрессирующей CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или клетки, связанной с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из варианты осуществления 1-92 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) отбор клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

123. Способ по варианту осуществления 122, где клетки, связанные с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, отбирают путем разделения по аффинности.

124. Способ по варианту осуществления 123, где разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности.

125. Способ по варианту осуществления 123 или варианту осуществления 124, где

разделение по аффинности осуществляют методом цитометрии.

126. Способ по варианту осуществления 123 или варианту осуществления 124, где разделение по аффинности осуществляют путем магнитно-активируемой сортировки клеток.

127. Способ по варианту осуществления 123 или варианту осуществления 124, где разделение по аффинности включает аффинную хроматографию.

128. Способ по варианту осуществления 126 или варианту осуществления 127, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обратимо связывают или иммобилизуют на подложке или стационарной фазе.

129. Способ стимуляции клеток, включающий инкубацию исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, тем самым создавая генерируя выходную композицию, содержащую стимулированные клетки.

130. Способ получения клеточной композиции, включающий:

(а) введение в клетки молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR, генерируя таким образом исходную композицию; и

(b) инкубирование исходной композиции с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 93-96, которое специфически связывает антигенный рецептор CAR, получая таким образом клеточную композицию.

131. Способ по варианту осуществления 130, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем вирусной трансдукции, транспозиции, электропорации или химической трансфекции.

132. Способ по варианту осуществления 130 или варианту осуществления 131, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем трансдукции вирусным вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, где необязательно вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор.

133. Способ по варианту осуществления 130 или варианту осуществления 131, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем транспозиции транспозона, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты.

134. Способ по варианту осуществления 130 или варианту осуществления 131, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем электропорации или трансфекции вектора, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты.

135. Способ по любому из вариантов осуществления 130-134, дополнительно включающий этап активации клеток перед этапом (а).

136. Способ по варианту осуществления 135, где этап активации клеток включает

приведение клеток в контакт с агонистом CD3 и необязательно агонистом CD28.

137. Способ по варианту осуществления 136, где этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с реагентом, содержащим агонистические анти-CD3 и анти-CD28 антитела.

138. Способ по любому из вариантов осуществления 130-137, где инкубацию выполняют в условиях, при которых антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CAR, тем самым индуцируя или модулируя сигнал в одной или более клетках в исходной композиции.

139. Способ по любому из вариантов осуществления 130-138, где клетки включают Т-клетки.

140. Способ по варианту осуществления 139, где Т-клетки включают CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клетки.

141. Способ по любому из вариантов осуществления 130-140, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизованы на твердой подложке, которая необязательно содержит или конъюгирована с реагентом, содержащим множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

142. Способ по любому из вариантов осуществления 130-140, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизуют на растворимом реагенте, который необязательно представляет собой или содержит множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

143. Способ по варианту осуществления 141 или варианту осуществления 142, где реагент содержит мутеин стрептавидина.

144. Способ по любому из вариантов осуществления 130-143, где инкубация длится по меньшей мере или по меньшей мере примерно 5 минут, 10 минут, 30 минут, 60 минут, 2 часов, 6 часов, 12 часов, 24 часов, 36, 48 часов, 72 часов или 96 часов.

145. Способ по любому из вариантов осуществления 130-144, где исходная композиция содержит менее или менее примерно 60%, менее или менее примерно 50%, менее или менее примерно 40%, менее или менее примерно 30%, менее или менее примерно 20% или менее или менее примерно 10% клеток, экспрессирующих CAR, в процентах от общего количества клеток в композиции.

146. Способ по любому из вариантов осуществления 130-145, где:

количество CAR-экспрессирующих клеток в выходной композиции увеличивается более чем в 1,2 раза, 1,5 раза, 2,0 раза, 3,0 раза, 4,0 раза, 5,0 раз, 10 раз или более по сравнению с количеством CAR-экспрессирующих клеток в исходной композиции; и/или

процент экспрессирующих CAR клеток в выходной композиции увеличивается относительно общего количества клеток в композиции более чем на 10%, 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более.

147. Способ по любому из вариантов осуществления 130-146, где перед введением

и/или инкубацией клетки не отбирают на клетки, экспрессирующие CAR, или не обогащают клетками, экспрессирующими CAR.

148. Способ очистки антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

(а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) выделение комплексов, содержащих антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

149. Способ по варианту осуществления 148, где комплексы, содержащие антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выделяют путем разделения по аффинности.

150. Способ по варианту осуществления 149, где разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности.

151. Способ по варианту осуществления 150, где разделение по аффинности представляет собой разделение в магнитном поле.

152. Способ по варианту осуществления 150, где разделение по аффинности включает аффинную хроматографию.

153. Способ истощения клеток, включающий введение субъекту композиции, содержащей антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгат по любому из вариантов осуществления 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где субъекту вводили клетку, экспрессирующую CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

154. Способ по варианту осуществления 153, где истощение происходит посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

155. Способ по любому из вариантов осуществления 117-154, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

156. Способ по варианту осуществления 155, где одноцепочечный фрагмент содержит scFv.

157. Способ по любому из вариантов осуществления 117-156, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

158. Способ по варианту осуществления 157, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

159. Способ по варианту осуществления 158, где гибкий линкер содержит

аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

160. Способ по любому из вариантов осуществления 117-156, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

161. Способ по варианту осуществления 160, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

162. Способ по варианту осуществления 161, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

163. Готовое изделие, содержащее антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгат по любому из вариантов осуществления 93-96 и инструкции по применению антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для:

детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и/или

отбора из клеточной популяции сконструированных клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или обогащения такими клетками; и/или

стимуляции исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

164. Готовое изделие, содержащее:

связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где указанный внеклеточный домен или его часть содержит целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-92 или конъюгат по любому из вариантов осуществления 93-96.

165. Готовое изделие по варианту осуществления 164, где связывающий реагент представляет собой первый связывающий реагент, и готовое изделие дополнительно содержит второй связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен или часть CAR.

166. Готовое изделие по варианту осуществления 164 или варианту осуществления 165, где внеклеточные домены CAR или их части в первом и втором связывающем реагенте являются одинаковыми.

167. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 164-166, дополнительно содержащее инструкции по применению связывающего реагента, необязательно первого и второго связывающих реагентов, для анализа образца на наличие или отсутствие молекулы, которая связывается со связывающим реагентом, с помощью

иммуноанализа, где необязательно иммуноанализ представляет собой мостиковый или сэндвич-иммуноанализ, где необязательно образец получен от субъекта, которому вводили клеточную терапию, включающую клетки, сконструированные с CAR, содержащим целевое антитело, которое представляет собой антигенсвязывающий фрагмент или его антигенсвязывающий фрагмент.

168. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 164-167, где связывающий реагент, необязательно первый и/или второй связывающий реагент, является меченным детектируемой меткой или способен генерировать детектируемый сигнал.

169. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 165-168, где один из первого и второго связывающих реагентов присоединен к твердой подложке или может быть прикреплен к твердой подложке, и другой из первого и второго связывающих реагентов представляет собой детектируемую метку или способен генерировать детектируемый сигнал.

170. Готовое изделие по варианту осуществления 169, где готовое изделие дополнительно содержит твердую подложку, где необязательно один из первого и второго связывающих реагентов непосредственно или опосредованно связан с биотином, и твердая подложка содержит покрытую стрептавидином поверхность.

171. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 163-170, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

172. Готовое изделие по варианту осуществления 171, где одноцепочечный фрагмент содержит scFv.

173. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 163-172, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

174. Готовое изделие по варианту осуществления 173, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

175. Готовое изделие по варианту осуществления 174, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

176. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 163-172, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

177. Готовое изделие по варианту осуществления 176, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

178. Готовое изделие по варианту осуществления 177, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

[0621] Представленные варианты осуществления включают:

1. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85 или 115.

2. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

3. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82 или 112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

4. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3,

содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

5. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1, 2 и 4, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82 или 112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

6. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1, 2, 4 и 5, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83.

7. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-5, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:106; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:113.

8. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 3-7, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере

90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115.

9. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-8, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

10. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-9, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117.

11. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-10, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:87; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:117.

12. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-11, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

13. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 12, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

14. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 13, где одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью.

15. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 14, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14.

16. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 13-15, где одноцепочечный фрагмент целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), где необязательно scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

17. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-16, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает эпитоп в пределах CDR целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или эпитоп, включающий всю или часть CDR целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

18. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-17, где:

целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR.

19. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 16-17, где:

scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть CAR.

20. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 18 или варианту осуществления 19, где CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер.

21. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 20, где спейсер представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, где необязательно спейсер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50.

22. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 20 или варианту осуществления 21, где трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28, который необязательно является человеческим CD28.

23. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 20-22, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене CAR.

24. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-23, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или специфически не связывает CD28 или

его часть, который необязательно является человеческим CD28.

25. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-24, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-домене, который необязательно является Fc-доменом человеческого IgG1.

26. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-25, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает человеческий BCMA.

27. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-26, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не вступает в перекрестную реакцию с другим анти-BCMA антителом, которое необязательно содержится во внеклеточном антигенсвязывающем домене другого CAR.

28. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 27, где другое анти-BCMA антитело:

(i) содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и/или VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26; и/или

(ii) содержит scFv, последовательность которого на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13; и/или

(iii) содержит CDR-H1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO:15, и/или CDR-H2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO:16, и/или CDR-H3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO:17, и/или CDR-L1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO:22, и/или CDR-L2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO:23, и/или CDR-L3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO:24; и/или

(iv) связывает или распознает эпитоп человеческого BCMA, который не является тем же самым эпитопом человеческого BCMA, с которым связывается или который распознает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

29. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-28, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, содержащего целевое анти-

BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

30. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 29, где:

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда находится в растворенной форме; и/или

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе, где подложка или стационарная фаза необязательно представляет собой планшет или гранулу.

31. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-30, где антиидиотипическое антитело имеет аффинность связывания (EC50) и/или константу диссоциации с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, составляющую или составляющую примерно, или не превышающую, или не превышающую примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ.

32. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-31, где связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом не блокируется человеческим BCMA или человеческим BCMA-Fc.

33. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39 или 63.

34. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

35. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61.

36. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает или распознает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

37. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33, 34 и 36, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61.

38. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-37, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную

последовательность с SEQ ID NO:35, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37.

39. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-37, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:54; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:61.

40. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 35-39, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

41. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 35-40, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:63.

42. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 34-41, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39 или 63.

43. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 34-42, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63.

44. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-43, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40 или 64; и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41 или 65.

45. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-44, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:41; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65.

46. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-45, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40 или 64; и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41 или 65.

47. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-46, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:40, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:41; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:64, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:65.

48. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-47, где:

первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12; и

второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент

содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

49. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 48, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой первый одноцепочечный фрагмент, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой второй одноцепочечный фрагмент.

50. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 49, где первый одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью, и второй одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью.

51. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 50, где гибкий линкер первого одноцепочечного фрагмента и/или второго одноцепочечного фрагмента содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14.

52. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 49-51, где первый одноцепочечный фрагмент первого целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой первый scFv, и второй одноцепочечный фрагмент второго целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой второй scFv.

53. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 52, где первый scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13, и второй scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

54. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-53, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает:

эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR первого целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента; и

эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR второго целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

55. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-54, где:

первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части первого CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает первое целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной

части первого CAR.

56. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-55, где:

второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части второго CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает второе целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части второго CAR.

57. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-54, где:

первый scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть первого CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает первый scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть первого CAR.

58. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-54, где:

второй scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть второго CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает второй scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть второго CAR.

59. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 55-58, где первый CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер, и/или второй CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер.

60. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 59, где спейсер первого CAR и/или второго CAR представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, где необязательно спейсер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50.

61. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 59 или варианту осуществления 60, где трансмембранный домен первого CAR и/или второго CAR содержит трансмембранную часть CD28, который необязательно является человеческим CD28.

62. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 59-61, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене первого CAR

и/или или второй CAR.

63. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-62, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или специфически не связывает CD28 или его часть, который необязательно является человеческим CD28.

64. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-63, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-домене, который необязательно представляет собой Fc-домен человеческого IgG1.

65. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-64, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает человеческий BCMA, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает или распознает человеческий BCMA.

66. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-65, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR, содержащего первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и/или является агонистом второго CAR, содержащего второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

67. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 66, где:

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR и/или второго CAR, когда находится в растворенной форме; и/или

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR и/или второго CAR, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе, при этом подложка или стационарная фаза необязательно представляет собой планшет или гранулу.

68. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-67, где антиидиотипическое антитело имеет аффинность связывания (EC50) и/или константу диссоциации с первым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и/или вторым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, составляющую или составляющую примерно, или не превышающую, или не превышающую примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ.

69. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 33-68, где связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с первым целевым анти-BCMA

антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и/или вторым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом не блокируется человеческим BCMA или человеческим BCMA-Fc.

70. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-69, которое является гуманизированным.

71. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-70, которое является рекомбинантным.

72. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-71, которое является моноклональным.

73. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-72, которое представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

74. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 73, где антигенсвязывающий фрагмент выбирают из Fab-фрагментов, F(ab')₂-фрагментов, Fab'-фрагментов, Fv-фрагментов, scFv или однодоменного антитела.

75. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-74, содержащее по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина.

76. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 75, где по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина содержит Fc-область или часть Fc, содержащую домены CH2 и CH3.

77. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 75 или варианту осуществления 76, где константная область происходит от человеческого IgG.

78. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 75-77, которое представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело.

79. Конъюгат, содержащий антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-78 и гетерологичную молекулу или компонент.

80. Конъюгат по варианту осуществления 79, где гетерологичная молекула или компонент представляет собой метку.

81. Конъюгат по варианту осуществления 80, где метку выбирают из флуоресцентного красителя, флуоресцентного белка, радиоизотопа, хромофора, иона металла, частицы золота, частицы серебра, магнитной частицы, полипептида, фермента, стрептавидина, биотина, люминесцентного соединения или олигонуклеотида.

82. Конъюгат по варианту осуществления 80, где гетерологичная молекула или компонент представляет собой белок, пептид, нуклеиновую кислоту или малую молекулу, которая необязательно представляет собой или содержит токсин или стрептококковую

метку.

83. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) тяжелую цепь и/или легкую цепь антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из вариантов осуществления 1-78.

84. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:62, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:62; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:63, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:63; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

85. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:84, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO:84; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:85, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

86. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:114, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности нуклеотидов, представленной в SEQ ID NO:114; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:115, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

87. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:38, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов,

приведенной в SEQ ID NO:38; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:39, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

88. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:64, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:65, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

89. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:86, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:87, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

90. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:116, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:117, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

91. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 83, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:40, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:40; или (iii) вырожденную

последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:41, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:41; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

92. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 83-91, где нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую цепь и/или легкую цепь, содержит сигнальную последовательность.

93. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 83-92, где молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO:42, 43, 48, 49, 66-69, 88-91 и 118-121.

94. Вектор, содержащий молекулу(ы) нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 83-93.

95. Клетка, содержащая антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-78, молекулу нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 83-93 или вектор по варианту осуществления 94.

96. Способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий экспрессию тяжелой и/или легкой цепи, кодируемой молекулой(ами) нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 83-93 или вектором по варианту осуществления 94 в подходящей клетке-хозяине, и извлечение или выделения антитела.

97. Способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий культивирование клетки по варианту осуществления 95 в условиях, в которых происходит экспрессия тяжелой цепи и/или легкой цепи, и извлечение или выделения антитела.

98. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, полученные способом по варианту осуществления 96 или варианту осуществления 97.

99. Композиция, содержащая антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-78, конъюгат по любому из вариантов осуществления 79-82 или клетку по варианту осуществления 95.

100. Композиция по варианту осуществления 99, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

101. Набор, содержащий одно или более антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов по любому из вариантов осуществления 1-78, конъюгат по любому из вариантов осуществления 79-82, молекулу(ы) нуклеиновой кислоты по любому из вариантов осуществления 83-93 и, необязательно, инструкции по применению.

102. Набор по варианту осуществления 101, дополнительно содержащий реагент или подложку для иммобилизации антиидиотипического антитела или его

антигенсвязывающего фрагмента или конъюгата, где указанный реагент или подложка представляет собой гранулу, колонку, микролунку, палочку, фильтр, полоску или растворимый олигомерный реагент мутеина стрептавицина.

103. Способ детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

(а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 79-82, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) детектирование антиидиотипического антитела, связанного с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

104. Способ по варианту осуществления 103, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связано с клеткой или экспрессируется на поверхности клетки, и детектирование в (b) включает детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

105. Способ по варианту осуществления 104, где клетка экспрессирует на своей поверхности CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

106. Способ детектирования CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий:

(а) приведение клетки, экспрессирующей CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 79-82, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

107. Способ по варианту осуществления 106, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент непосредственно или опосредованно метят для детектирования.

108. Способ отбора клеток из клеточной популяции, включающий:

(а) приведение популяции клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или клетки, связанной с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из варианты осуществления 1-78 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 79-82, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) отбор клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

109. Способ по варианту осуществления 108, где клетки, связанные с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, отбирают путем разделения по аффинности.

110. Способ по варианту осуществления 109, где разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности.

111. Способ по варианту осуществления 109 или варианту осуществления 110, где разделение по аффинности выполняют методом проточной цитометрии.

112. Способ по варианту осуществления 109 или варианту осуществления 110, где разделение по аффинности выполняют посредством магнитно-активируемой сортировки клеток.

113. Способ по варианту осуществления 109 или варианту осуществления 110, где разделение по аффинности включает аффинную хроматографию.

114. Способ по варианту осуществления 112 или варианту осуществления 113, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обратимо связывают или иммобилизуют на подложке или стационарной фазе.

115. Способ стимуляции клеток, включающий инкубирование исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 79-82, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, генерируя таким образом выходную композицию, содержащую стимулированные клетки.

116. Способ получения клеточной композиции, включающий:

(а) введение в клетки молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR, с получением таким образом исходной композиции; и

(б) инкубирование исходной композиции с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 79-82, которое специфически связывает антигенный рецептор CAR, получая таким образом клеточную композицию.

117. Способ по варианту осуществления 116, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки посредством вирусной трансдукции, транспозиции, электропорации или химической трансфекции.

118. Способ по варианту осуществления 116 или варианту осуществления 117, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем трансдукции вирусным вектором, содержащим молекулу нуклеиновой кислоты, где необязательно вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор.

119. Способ по варианту осуществления 116 или варианту осуществления 117, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем транспозиции транспозона, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты.

120. Способ по варианту осуществления 116 или варианту осуществления 117, где введение в (а) включает введение молекулы нуклеиновой кислоты в клетки путем электропорации или трансфекции вектора, содержащего молекулу нуклеиновой кислоты.

121. Способ по любому из вариантов осуществления 116-120, дополнительно включающий этап активации клеток перед этапом (а).

122. Способ по варианту осуществления 121, где этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с агонистом CD3 и необязательно агонистом CD28.

123. Способ по варианту осуществления 122, где этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с реагентом, содержащим агонистические анти-CD3 и анти-CD28 антитела.

124. Способ по любому из вариантов осуществления 116-123, где инкубацию осуществляют в условиях, при которых антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CAR, тем самым индуцируя или модулируя сигнал в одной или более клетках в исходной композиции.

125. Способ по любому из вариантов осуществления 116-124, где клетки включают Т-клетки.

126. Способ по варианту осуществления 125, где Т-клетки включают CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клетки.

127. Способ по любому из вариантов осуществления 116-126, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизованы на твердой подложке, которая необязательно содержит или конъюгирована с реагентом, содержащим множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

128. Способ по любому из вариантов осуществления 116-126, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизуют на растворимом реагенте, который необязательно представляет собой или содержит множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

129. Способ по варианту осуществления 127 или варианту осуществления 128, где реагент содержит мутеин стрептавидина.

130. Способ по любому из вариантов осуществления 116-129, где инкубация длится по меньшей мере или по меньшей мере примерно 5 минут, 10 минут, 30 минут, 60 минут, 2 часов, 6 часов, 12 часов, 24 часов, 36, 48 часов, 72 часов или 96 часов.

131. Способ по любому из вариантов осуществления 116-130, где исходная композиция содержит менее или менее примерно 60%, менее или менее примерно 50%, менее или менее примерно 40%, менее или менее примерно 30%, менее или менее примерно 20% или менее или менее примерно 10% клеток, экспрессирующих CAR, в процентах от общего количества клеток в композиции.

132. Способ по любому из вариантов осуществления 116-131, где:

количество CAR-экспрессирующих клеток в выходной композиции увеличивается

более чем в 1,2 раза, 1,5 раза, 2,0 раза, 3,0 раза, 4,0 раза, 5,0 раз, 10 раз или более относительно количества CAR-экспрессирующих клеток в исходной композиции; и/или процент экспрессирующих CAR в выходной композиции увеличивается на более чем на 10%, 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более относительно общего количества клеток в композиции.

133. Способ по любому из вариантов осуществления 116-132, где перед введением и/или инкубацией клетки не отбирают на клетки, экспрессирующие CAR, или не обогащают клетками, экспрессирующими CAR.

134. Способ очистки антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

(a) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгатом по любому из вариантов осуществления 79-82, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) выделение комплексов, содержащих антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

135. Способ по варианту осуществления 134, где комплексы, содержащие антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выделяют путем разделения по аффинности.

136. Способ по варианту осуществления 135, где разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности.

137. Способ по варианту осуществления 136, где разделение по аффинности представляет собой разделение в магнитном поле.

138. Способ по варианту осуществления 136, где разделение по аффинности включает аффинную хроматографию.

139. Способ истощения клеток, включающий введение субъекту композиции, содержащей антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгат по любому из вариантов осуществления 79-82, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где субъекту вводили клетку, экспрессирующую CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

140. Способ по варианту осуществления 139, где истощение происходит посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

141. Способ по любому из вариантов осуществления 103-140, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

142. Способ по варианту осуществления 141, где одноцепочечный фрагмент содержит scFv.

143. Способ по любому из вариантов осуществления 103-142, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую

аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

144. Способ по варианту осуществления 143, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

145. Способ согласно варианту осуществления 144, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

146. Способ по любому из вариантов осуществления 103-142, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

147. Способ по варианту осуществления 146, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

148. Способ по варианту осуществления 147, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

149. Готовое изделие, содержащее антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгат по любому из вариантов осуществления 79-82 и инструкции по применению антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для:

детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и/или

отбора из клеточной популяции сконструированных клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или обогащения такими клетками; и/или

стимуляции исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

150. Готовое изделие, содержащее:

связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где указанный внеклеточный домен или его часть содержит целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-78 или конъюгат по любому из вариантов осуществления 79-82.

151. Готовое изделие по варианту осуществления 150, где связывающий реагент представляет собой первый связывающий реагент, и готовое изделие дополнительно содержит второй связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR или его часть.

152. Готовое изделие по варианту осуществления 150 или варианту осуществления 151, где внеклеточные домены CAR или их части в первом и втором связывающих реагентах являются одинаковыми.

153. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 150-152, дополнительно содержащее инструкции по применению связывающего реагента, необязательно первого и второго связывающих реагентов, для анализа образца на наличие или отсутствие молекулы, которая связывается со связывающим реагентом, с помощью иммуноанализа, где необязательно иммуноанализ представляет собой мостиковый или сэндвич-иммуноанализ, где необязательно образец получен от субъекта, которому вводили клеточную терапию, включающую клетки, сконструированные с CAR, содержащим целевое антитело, которое представляет собой антигенсвязывающий фрагмент или его антигенсвязывающий фрагмент.

154. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 150-153, где связывающий реагент, необязательно первый и/или второй связывающий реагент, является меченым детектируемой меткой или способен генерировать детектируемый сигнал.

155. Изделие по любому из вариантов осуществления 151-154, где один из первого и второго связывающих реагентов присоединен к твердой подложке или может быть прикреплен к твердой подложке, и другой из первого и второго связывающих реагентов представляет собой детектируемую метку или способен генерировать детектируемый сигнал.

156. Готовое изделие по варианту осуществления 155, где готовое изделие дополнительно содержит твердую подложку, где необязательно один из первого и второго связывающих реагентов связан непосредственно или опосредованно с биотином, и твердая подложка содержит покрытую стрептавидином поверхность.

157. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 149-156, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

158. Готовое изделие по варианту осуществления 157, где одноцепочечный фрагмент содержит scFv.

159. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 149-158, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

160. Готовое изделие по варианту осуществления 159, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

161. Готовое изделие по варианту осуществления 160, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

162. Готовое изделие по любому из вариантов осуществления 149-158, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

163. Готовое изделие по варианту осуществления 162, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

164. Готовое изделие по варианту осуществления 163, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

VIII. ПРИМЕРЫ

[0622] Приведенные ниже примеры включены исключительно в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема изобретения.

Пример 1: Получение и оценка антиидиотипических антител к анти-BCMA химерным антигенным рецепторам

[00623] Создавали и оценивали антиидиотипические антитела, которые распознают scFv-часть одного или обоих из двух использованных в качестве примера (иллюстративных) анти-BCMA химерных антигенных рецепторов (CAR). Аминокислотные последовательности (SEQ ID NO) иллюстративных созданных антиидиотипических антител перечислены в Таблице E1. Они включают клоны антител 10, 15, 16 и 19.

Таблица E1. Типичные аминокислотные последовательности (SEQ ID NO) типичных клонов антиидиотипических антител

					Кабат		Чотиа		AbM	
ID кло на	VH	VL	Тяжела я цепь	Легка я цепь	CDR- H1 H2 H3	CDR- L1 L2 L3	CDR- H1 H2 H3	CDR- L1 L2 L3	CDR- H1 H2 H3	- L1 L2 L3
10	62	63	64	65	52 53 54	59 60 61	55 56 54	59 60 61	57 58 54	59 60 61
19	84	85	86	87	74 75 76	81 82 83	77 78 76	81 82 83	79 80 76	81 82 83
16	114	115	116	117	104 105 106	111 112 113	107 108 106	111 112 113	109 110 106	111 112 113
15	38	39	40	41	28 29 30	35 36 37	31 32 30	35 36 37	33 34 30	35 36 37

A. Анти-ID антитела к анти-BCMA CAR 1

[00624] Создавали антиидиотипические антитела (анти-ID), распознающие scFv-часть иллюстративного анти-BCMA CAR 1 с антигенсвязывающим доменом из целевого

анти-BCMA антитела 1. Анти-BCMA CAR 1 содержал анти-BCMA scFv с переменными областями тяжелой и переменными областями легкой цепей, полученными из целевого анти-BCMA антитела 1 (с последовательностями переменных областей SEQ ID NO:11 и 12, разделенными линкером, приведенным в SEQ ID NO:14; последовательностью scFv, приведенной в SEQ ID NO:13), спейсер, полученный из человеческого IgG, трансмембранный домен, полученный из человеческого CD28, внутриклеточный сигнальный домен, полученный из человеческого 4-1BB, и сигнальный домен, полученный из человеческого CD3-дзета.

[00625] Мышей иммунизировали анти-BCMA scFv, слитым с мышинным Fc. Из селезенки иммунизированных мышей выделяли иммунные клетки, и клетки селезенки, продуцирующие антитела, сливали с опухолевыми клетками (например, клетками миеломы) с получением слитых гибридомных клеток. Гибридомные клетки клонально размножали, и супернатант подвергали скринингу методом ELISA на способность связываться с рекомбинантным растворимым scFv-Fc и методом проточной цитометрии на связывание с клетками, экспрессирующими анти-BCMA CAR 1. Супернатант от гибридомных клонов подвергали скринингу на селективность к нецелевому scFv-Fc методом ELISA и к клеткам, экспрессирующим нецелевой CAR, методом проточной цитометрии. Каждый отобранный клон гибридомы размножали, и антитела очищали для дальнейшей характеристики.

[00626] Иллюстративные отобранные анти-ID антитела оценивали на способность специфически связываться с Т-клетками, сконструированными с анти-BCMA CAR 1. Приблизительно $2,5 \times 10^5$ Т-клеток Jurkat, сконструированных для экспрессии анти-BCMA CAR 1, помещали в мультисуточный планшет и инкубировали с 5 мкг/мл каждого из очищенных клонов анти-ID антител в течение 20 минут при 4°C. Клетки промывали и инкубировали со вторичным антителом (козье анти-мышинное IgG1, 2, 3 антитела) для детектирования анти-ID антител, связанных с анти-BCMA CAR 1, экспрессируемым на поверхности клеток. Клетки промывали и оценивали методом проточной цитометрии.

[00627] Результаты исходного скрининга клонов анти-ID антител показаны на фиг. 1. Как показано, клон 10 (см. таблицу E1) показал почти 100% связывание с клетками, экспрессирующими анти-BCMA CAR 1 в образце, и имел более высокую среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) по сравнению с другими клонами.

[00628] Антитела, которые демонстрировали детектируемое связывание, дополнительно оценивали на связывание с CAR-экспрессирующими Т-клетками, экспрессирующими анти-BCMA CAR 1 или нецелевой анти-BCMA CAR (анти-BCMA CAR 2, см. пример 1.B).

[00629] Анти-ID антитела оценивали на способность специфически связываться с Т-клетками, сконструированными с анти-BCMA CAR 1 или анти-BCMA CAR 2. Связывание с клонами анти-ID антител оценивали, как описано выше, за исключением того, что использовали либо Т-клетки Jurkat, сконструированные для экспрессии анти-BCMA CAR 1 или анти-BCMA CAR 2, либо немодифицированные (родительские) клетки Jurkat в

качестве контроля. Клетки Jurkat, экспрессирующие анти-BCMA CAR 1 или CAR 2, также окрашивали слитым полипептидом рекомбинантного BCMA с Fc (растворимый человеческий BCMA, слитый на С-конце с Fc-областью IgG), который может связываться как с анти-BCMA CAR 1, так и с анти-BCMA CAR 2, использованным в качестве контроля.

[0630] Результаты показаны на фиг. 2. Как показано, клон 10 продемонстрировал связывание как с анти-BCMA CAR 1, так и с анти-BCMA CAR 2, с более высоким уровнем связывания с анти-BCMA CAR 1.

В. Анти-ID антитела к анти-BCMA CAR 2

[00631] Создавали антиидиотипические антитела (анти-ID), распознающие scFv-часть другого иллюстративного анти-BCMA химерного антигенного рецептора (CAR), анти-BCMA CAR 2, с антигенсвязывающим доменом из целевого анти-BCMA антитела 2. Анти-BCMA CAR 2 содержал анти-BCMA scFv с переменными областями тяжелой и переменными областями легкой цепей, полученными из целевого анти-BCMA антитела 2 (с последовательностями переменных областей SEQ ID NO:25 и 26, разделенных линкером, приведенным в SEQ ID NO:14; последовательностью scFv, приведенной в SEQ ID NO:27), спейсер, полученный из человеческого IgG2 и IgG4, трансмембранный домен, полученный из человеческого CD28, внутриклеточный сигнальный домен, полученный из человеческого 4-1BB, и сигнальный домен, полученный из человеческого CD3-дзета.

[00632] Мышей иммунизировали частью внеклеточного домена (ECD) CAR, содержащего анти-BCMA scFv с переменными областями, полученными из целевого анти-BCMA антитела 2, аналогично способам, описанным выше.

[00633] Сыворотку, выделенную от иммунизированных мышей, тестировали методом ELISA на способность связываться с рекомбинантной растворимой частью ECD путем детектирования с помощью вторичного антитела. Генерировали слитые клоны гибридомы и дополнительно характеризовали с помощью ELISA на связывание с ECD, после чего отбирали положительные клоны. Каждый отобранный клон гибридомы размножали, и антитела очищали.

1. Оценка связывания антиидиотипического антитела с анти-BCMA CAR методом проточной цитометрии

[0634] Клоны анти-ID антител оценивали на способность специфически связываться с Т-клетками, сконструированными с анти-BCMA CAR 2, для выявления клонов-кандидатов, которые могут быть пригодными для использования в проточной цитометрии. Т-клетки Jurkat, сконструированные для экспрессии анти-BCMA CAR 1, анти-BCMA CAR 2, неродственного контрольного CAR, специфичного к другому антигену (контрольный CAR), или немодифицированные (родительские) клетки Jurkat с плотностью 1×10^5 инкубировали с 2,5 мкг/мл клона анти-ID антитела, конъюгированного с флуорофором Alexa Fluor® 647, в течение 20 минут при 4°C. Клетки промывали и анализировали методом проточной цитометрии. Клетки также окрашивали рекомбинантным BCMA-Fc, который может связываться как с анти-BCMA CAR 1, так и с

анти-BCMA CAR 2, использованным в качестве контроля.

[0635] Как показано на фиг. 3А и 3В, при окрашивании клеток, экспрессирующих анти-BCMA CAR 2, самую высокую среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) среди различных протестированных клонов наблюдали у клона 16 (таблица E1). Было обнаружено, что клон 15 (таблица E1) связывается с клетками, экспрессирующими как анти-BCMA CAR 2, так и анти-BCMA CAR 1 (фиг. 3А). Также было показано, что все протестированные клоны анти-ID антител, включая 16 и 15, демонстрируют более высокий MFI по сравнению с уровнями, достигаемыми при окрашивании клеток BCMA-Fc, за исключением клона 18 (фиг. 3В).

2. Блокирование связывания с помощью BCMA-Fc.

[00636] Оценивали блокирование связывания анти-ID антител с анти-BCMA CAR 2 при воздействии рекомбинантным слитым полипептидом BCMA-Fc. Клетки Jurkat, экспрессирующие анти-BCMA CAR 2, инкубировали с 2,5 мкг/мл BCMA-Fc, конъюгированного с флуорофором Alexa Fluor® 488 (предварительная обработка BCMA-Fc), в течение 20 минут при 4°C. Клетки промывали и затем инкубировали с 2,5 мкг/мл одного из клонов анти-ID антител, конъюгированных с флуорофором Alexa Fluor® 647, в течение 20 минут при 4°C. Среднюю геометрическую интенсивность флуоресценции (MFI) в методе проточной цитометрии сравнивали между клетками, окрашенными только клонами анти-ID антител, и клетками, предварительно обработанными BCMA-Fc.

[0637] Как показано на фиг. 4А и 4В и в таблице E2 ниже, связывание анти-ID клонов 15 и 19 с анти-BCMA CAR 2 практически не блокировалось предварительной обработкой BCMA-Fc. Это отличается от нескольких других клонов анти-ID с низким геометрическим значением MFI после предварительной обработки BCMA-Fc (фиг. 4В).

Таблица E2. Блокирование анти-ID связывания при воздействии BCMA-Fc		
Клон	геометрическое значение MFI только для анти-ID	геометрическое значение MFI при предварительной обработке BCMA-Fc
15	6621	4713
19	6660	5331

3. Оценка агонистической активности растворенных или связанных с планшетами антиидиотипических антител на стимуляцию Т-клеток

[00638] Различные клоны анти-ID антител, описанные выше, тестировали на их агонистическую активность в отношении стимуляции Т-клеток, используя линию репортерных клеток.

[00639] Создавали репортерную клеточную линию нокаутную по репортерному гену Nur77-tdTomato, в которой последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие флуоресцентный белок tdTomato, подвергали нокауту в эндогенном локусе Nur77. Рецептор орфанного ядерного гормона Nur77 (также называемый Nr4a1) представляет собой ген немедленного раннего ответа, индуцируемый активацией сигнала от Т-клеточного рецептора и/или через молекулы, содержащие мотив активации

иммунорецептора на основе тирозина (ITAM). Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую tdTomato, нацеливали на интеграцию внутри рамки считывания с эндогенным геном Nur77 в последнем экзоне перед стоп-кодоном путем введения генетического нарушения, используя ген редактирования и нацеливания последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей tdTomato, на интеграцию в сайте, расположенном рядом с генетическим нарушением, в результате зависимой от гомологии репарации (HDR).

[00640] Репортерную клеточную линию Nur77-tdTomato конструировали для экспрессии анти-BCMA CAR 2, и экспрессию репортера оценивали после инкубации с растворенным анти-ID антителом или связанным с планшетом анти-ID антителом. Для оценки растворенных анти-ID-антител многолуночный планшет блокировали в течение ночи фосфатно-солевым буфером (PBS) с 10% эмбриональной бычьей сывороткой (FBS). В планшет добавляли 2,5 мкг/мл одного из восьми клонов анти-ID антител в среде RPMI с 10% FBS. Для оценки анти-ID антител, связанных с планшетом, многолуночный планшет покрывали 2,5 мкг/мл одного из клонов анти-ID антител в PBS, оставляя на ночь при 4°C или на 4 часа при 37°C, с последующей промывкой средой RPMI с 10% FBS. В каждую лунку добавляли 1×10^5 репортерных клеток Nur77-tdTomato и инкубировали при 37°C в течение 20 часов. Образцы окрашивали 4',6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI), и методом проточной цитометрии оценивали окрашивание DAPI и интенсивность флуоресценции tdTomato.

[0641] Результаты показаны на фиг. 5A-5C. Как показано на фиг. 5A и 5C, инкубация с растворенными анти-ID клонами 15 и 16 показала самый высокий процент клеток tdTomato+, что указывает на то, что эти клоны (15 и 16) проявляют агонистическую активность в растворенной форме. Как показано на фиг. 5B и 5C, инкубация со всеми анти-ID антителами, связанными с планшетом, дала почти 100% клеток, экспрессирующих tdTomato, за исключением клона 18 (фиг. 5C), что указывает на то, что клоны 15 и 16 проявляют агонистическую активность, когда иммобилизованы на планшете.

Пример 2. Стимуляция анти-BCMA CAR-T клеток антиидиотипическим антителом-кандидатом

[0642] Оценивали способность антиидиотипического антитела-кандидата (клон 16) стимулировать первичные Т-клетки, экспрессирующие анти-BCMA CAR 2. Отдельные композиции первичных CD4+ и CD8+ Т-клеток выделяли путем обогащения по иммуноаффинности из образцов лейкофереза восьмидесяти девяти здоровых доноров-людей, и выделенные клеточные композиции подвергали криозаморозке. На основе этих композиций получали клетки анти-BCMA CAR-T согласно иллюстративному процессу получения клеток анти-BCMA CAR-T. В этом процессе выделенные CD4+ и CD8+ Т-клетки оттаивали и смешивали примерно в соотношении 1:1 жизнеспособных CD4+ Т-клеток к жизнеспособным CD8+ Т-клеткам, стимулировали анти-CD3/анти-CD28-антителами и трансдуцировали лентивирусными препаратами, кодирующими

иллюстративный анти-BCMA CAR, описанный в примере 1, раздел В (анти-BCMA CAR 2). Затем клетки культивировали в пригодных для экспансии условиях.

[0643] Для оценки пролиферативной способности CAR-T-клеток, полученных с помощью описанного выше процесса, 96-луночные планшеты для тканевых культур покрывали 30 мкг/мл клон 16 в 200 мкл PBS, оставляя на ночь при 4°C. После покрытия в лунки с покрытием добавляли Т-клетки общим количеством 15000 и инкубировали в течение шести дней при 37°C. Во время инкубации клеточную пролиферацию отслеживали с течением времени с помощью системы визуализации Incucyte.

[0644] На фиг. 6 показана средняя кривая роста (т.е. средний процент конфлюэнтности клеток в лунке) для созданных CAR Т-клеток во время инкубации с клоном 16, иммобилизованном на планшете. Показанные планки погрешности представляют собой стандартную ошибку среднего. Как показано на фиг. 6, стимуляция CAR клоном 16 антиидиотипического антитела, иммобилизованного на планшете, приводила к пролиферации CAR Т-клеток. Эти результаты показывают, что в результате процесса получения была создана композиция сконструированных CAR Т-клеток, которые демонстрируют высокую пролиферативную способность, опосредованную CAR Т-клетками.

[0645] Вместе с результатами Примера 1 эти результаты подтверждают вывод о том, что клон 16 проявляет агонистическую активность, когда иммобилизованы на планшете, в том числе в отношении CAR Т-клеток, экспрессирующих типичный анти-BCMA CAR 2.

Пример 3: Измерение экспрессии CAR с использованием антиидиотипического антитела-кандидата в проточной системе с картриджем

[0646] Оценивали применение антиидиотипического антитела-кандидата (клон 16) для измерения экспрессии анти-BCMA CAR в проточной системе с картриджем (Accellix) для проверки специфичности связывания клон 16 с первичными Т-клетками, трансдуцированными для экспрессии анти-BCMA CAR 2 (описано в примере 1, раздел В), нетрансдуцированными первичными Т-клетками и первичными Т-клетками, трансдуцированными для экспрессии нецелевого анти-CAR CD19. Нецелевой анти-CD19 CAR содержал анти-CD19 scFv, иммуноглобулиновый спейсер, трансмембранный домен человеческого CD28, внутриклеточный сигнальный домен человеческого 4-1BB и сигнальный домен человеческого CD3-дзета. Для проверки линейности частоты обнаружения CAR с использованием клон 16 в проточной системе с картриджем также готовили и анализировали серийно разведенные образцы первичных Т-клеток, экспрессирующих анти-BCMA CAR 2.

[0647] Для получения трансдуцированных CAR Т-клеток отдельные композиции первичных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток выделяли путем обогащения по иммуноаффинности из образцов лейкофереза, и выделенные CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки смешивали приблизительно в соотношении 1:1 жизнеспособных CD4⁺ Т-клеток к жизнеспособным CD8⁺ Т-клеткам, стимулировали анти-CD3/анти-CD28-антителами и трансдуцировали лентивирусными

препаратами, кодирующими CAR. После трансдукции клетки инкубировали примерно при 37,0°C в инкубаторе, собирали через 96 часов после начала стимуляции и криоконсервировали.

[0648] Для приготовления образцов клеток для тестирования флаконы, содержащие криоконсервированные композиции анти-BCMA CAR Т-клеток, размораживали и промывали культуральной средой, не содержащей сыворотку. Затем образцы клеток ресуспендировали в среде, не содержащей сыворотку, в концентрации примерно 20×10^6 клеток/мл, после чего образцы ресуспендированных клеток инкубировали при $37,0^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ с газообменом в течение нескольких часов перед анализом. Образцы клеток, содержащие нетрансдуцированные первичные Т-клетки или анти-CD19 CAR Т-клетки, готовили аналогичным образом.

[0649] Для анализа с помощью проточной системы с картриджем примерно 40 мкл клеточного образца помещали в пробирку с лиофилизированным реагентом, содержащую флуоресцентно меченый анти-ID клон 16, или в пробирку с лиофилизированным реагентом, в которой отсутствовал флуоресцентно меченный клон 16 анти-ID антитела в качестве контроля «флуоресценция минус один» (FMO). Пробирки с лиофилизированными реагентами как для образца, так и для контроля FMO также содержали одинаковые дополнительные флуоресцентно меченные антитела для детектирования методом многоцветной проточной цитометрии других маркеров Т-клеток (например, CD3, CD4, CD8 или CD45) и для окрашивания жизнеспособных клеток. Пробирку с реагентом встряхивали пульсирующим способом в течение двух минут, после чего 15 мкл образца переносили в проточный картридж. Затем картридж вставляли в настольный прибор Accellix для сбора сигналов и спектрального анализа.

[0650] Для всех последующих анализов клетки гейтировали, чтобы исключить гранулы контроля качества флуоресценции и мертвые клетки, и экспрессию CD3, CD4, CD8 и/или CAR измеряли в виде процента жизнеспособных CD45⁺ клеток в образцах полного окрашивания. Образцы FMO использовали для установки ворот CAR⁺, которые корректировали таким образом, чтобы частота экспрессии CAR в образцах FMO составляла примерно 1,0% (% родительской популяции).

А. Специфичность связывания антиидиотипического антитела-кандидата

[0651] Для тестирования специфичности связывания клона 16 в отношении анти-BCMA CAR 2 готовили FMO и образцы полного окрашивания и анализировали, как описано выше для клеточных образцов, содержащих первичные Т-клетки, экспрессирующие анти-BCMA CAR 2, нетрансдуцированные первичные Т-клетки или анти-CD19 CAR-Т-клетки.

[0652] В таблице E4 показано процентное содержание клеток CD3+CAR⁺, CD4+CAR⁺ и CD8+CAR⁺ среди жизнеспособных CD45⁺ клеток в различных образцах клеток. В этом эксперименте клетки CD8⁺ составляли только 14% от общего количества CD3⁺ клеток в клеточном образце, содержащем клетки, экспрессирующие анти-BCMA CAR 2. Первичные Т-клетки, сконструированные для экспрессии анти-BCMA CAR 2,

продемонстрировали положительное окрашивание клоном 16, конъюгированным с флуорофором, в то время как нетрансдуцированные Т-клетки и анти-CD19 CAR-Т-клетки показали отрицательное окрашивание (меньше или равно 1% частоты CAR). Для клеточного образца, содержащего клетки, экспрессирующие анти-BCMA CAR 2, CAR+ клетками оказались 30,3% CD3+ клеток; 32,58% CD4+ клеток; и 21,50% CD8+ клеток.

Таблица Е4. Частота детектирования CAR (% жизнеспособных CD45+ клеток) в клеточных образцах и подтипах			
Клеточный образец	CD3+CAR+	CD4+CAR+	CD8+CAR+
анти-CD19 CAR	0,11	0,06	0,03
нетрансдуцированные	0,01	0	0
анти-BCMA CAR 2	29,49	26,21	2,96

[0653] Эти результаты демонстрируют специфичность клона 16 в отношении анти-BCMA CAR 2.

В. Линейность частоты обнаружения CAR с использованием антиидиотипического антитела-кандидата

[0654] Для оценки линейности готовили образцы FMO и полного окрашивания и анализировали, как описано выше, с использованием образца клеток, содержащего первичные Т-клетки, экспрессирующие анти-BCMA CAR 2. Сначала в неразбавленном клеточном образце оценивали частоту CD3+ и CD3+CAR+ клеток среди жизнеспособных CD45+ клеток. На основании этого измерения рассчитывали ожидаемые частоты CD3+ и CD3+CAR+ для пяти точек разведения образца (80%, 50%, 25%, 10% и 5% образца клеток), после чего клеточный образец разбавляли и анализировали на наблюдаемые частоты CD3+ и CD3+CAR+. Для разбавления в качестве разбавляющей матрицы использовали отмытый не экспрессирующий CAR продукт афереза, лишенный CD3. Линейность детектирования CD3+ и CD3+CAR+ оценивали по соотношению ожидаемой частоты к наблюдаемой частоте.

[0655] В таблице Е5 показаны ожидаемые и наблюдаемые частоты CD3+ клеток среди жизнеспособных CD45+ клеток. Основываясь на этих значениях, значение коэффициента корреляции (r^2) составило 0,99, при этом наиболее подходящая линия имела наклон 0,99 и точку пересечения по оси Y 1,80.

Таблица Е5. Ожидаемые и наблюдаемые частоты детектирования CD3+ (% жизнеспособных CD45+ клеток)		
Точка разбавления (% в клеточном образце)	наблюдаемое CD3+	ожидаемое CD3+
100	99,26	99,26
80	80,34	79,41
50	50,58	49,63
25	29,15	24,82

10	12,59	9,926
5	5,59	4,96

[0656] В Таблице Е6 показаны ожидаемые и наблюдаемые частоты CD3+CAR+ клеток среди жизнеспособных CD45+ клеток. Основываясь на этих значениях, значение r^2 составило 0,99, при этом наиболее подходящая линия имела наклон 0,94 и точку пересечения с осью у 0,54.

Таблица Е6. Ожидаемые и наблюдаемые частоты флуоресценции CD3+CAR+ (% жизнеспособных CD45+ клеток)		
Точка разбавления (% в клеточном образце)	наблюдаемое CD3+CAR+	ожидаемое CD3+CAR+
100	18,32	18,32
80	13,52	14,66
50	9,27	9,16
25	5,53	4,58
10	2,7	1,83
5	1,2	0,916

[0657] В совокупности эти результаты показывают, что использование антиидиотипического антитела-кандидата (клон 16) позволяет проводить специфическую и точную оценку экспрессии анти-BCMA CAR 2 в проточной системе с картриджем.

Пример 4: Кинетика связывания и аффинность анти-ID антител-кандидатов

[0658] Определяли скорости диссоциации (k_{off}) и равновесные константы диссоциации (K_D) трех антиидиотипических антител-кандидатов (клоны 15, 16 и 19) с частью scFv анти-BCMA CAR 2. Скорости диссоциации и равновесные константы диссоциации определяли в отношении растворенного мономерного слитого белка scFv-Fc, а также в отношении растворенного димерного слитого белка scFv-Fc. Для сравнения также оценивали кинетику и аффинность растворенных мономерных и димерных слитых белков BCMA-человеческий Fc к мономерному и димерному слитым белкам scFv-Fc, соответственно. Скорости диссоциации и равновесные константы диссоциации определяли с помощью прибора BIAcore T200.

[00659] В таблице Е7 показаны скорости диссоциации и равновесные константы диссоциации для трех клонов-кандидатов с мономерным BCMA-Fc в сравнении с мономерным scFv-Fc. Как показано, у всех трех клонов скорости диссоциации и равновесные константы диссоциации были ниже, чем у мономерного BCMA-Fc.

Таблица Е7. Кинетика связывания и аффинность к мономерному scFv-Fc (scFv из анти-BCMA CAR 2)		
Реагент	k_{off} (1/с)	K_D (M)
Клон 16	5,0E-03	1,2E-08

Клон 15	3,6E-03	1,8E-08
Клон 19	8,1E-03	5,5E-08
Мономерный ВСМА-Fc	2,4E-02	2,9E-07

[0660] В таблице E8 показаны скорости диссоциации и равновесные константы диссоциации для трех клонов-кандидатов и димерного ВСМА-Fc в сравнении с димерным scFv-Fc. Как показано, у всех трех клонов равновесные константы диссоциации были более низкими, чем у димерного ВСМА-Fc. У клонов 15 и 19 частота диссоциации была ниже, чем у димерного ВСМА-Fc, в то время как у клона 16 скорость диссоциации была сопоставимой.

Таблица E8. Кинетика связывания и аффинность к димерному scFv-Fc (scFv из анти-ВСМА CAR 2)		
Реагент	k_{off} (1/s)	K_D (M)
Клон 15	4,4E-05	2,2E-09
Клон 16	1,4E-04	2,6E-09
Клон 19	6,2E-05	3,6E-09
Димерный ВСМА-Fc	1,4E-04	7,0E-09

[0661] Вместе эти результаты показывают, что клоны антиидиотипических антител-кандидатов 15, 16 и 19 демонстрируют улучшенную кинетику связывания и аффинность по сравнению с растворенными реагентами ВСМА-Fc, подтверждая, что клоны антиидиотипических антител способны лучше нацеливаться на клетки, экспрессирующие анти-ВСМА CAR 2.

Пример 5: Детектирование CAR-T клеток in vivo с помощью анти-ID антитела-кандидата

[0662] Оценивали способность антиидиотипического антитела-кандидата (клон 16) детектировать CAR T-клетки in vivo. Клетки из клеточной линии множественной миеломы (ММ) OPM-2 конструировали для экспрессии зеленого флуоресцентного белка и люциферазы итальянского светлячка с красным смещением. После сбора сконструированные клетки OPM-2 вводили внутривенно иммунодефицитным мышам в количестве 2×10^6 через хвостовую вену. Четырнадцать дней спустя мышам вводили внутривенно через хвостовую вену примерно 5×10^5 , 1×10^6 или 2×10^6 человеческих CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, сконструированных для экспрессии анти-ВСМА CAR 2. На 7, 14, 21 и 28 дни после обработки CAR Т-клетками у обработанных анестезированных мышей отбирали примерно 200 мкл крови через ретроорбитальный синус. Затем образцы крови оценивали на наличие введенных CAR Т-клеток путем окрашивания смесью антител, которая включала конъюгированный с флуорофором анти-ID клон 16. События проточной цитометрии собирали на проточном цитометре и анализировали.

[0663] В таблице E9 показано среднее количество/мкл клеток, экспрессирующих анти-ВСМА CAR 2, обнаруженных в крови с помощью анти-ID клона 16 на 7, 14, 21 или

28 день после обработки CAR T-клетками. Для группы обработки значения, показанные в таблице Е9, представляют собой среднее значение и стандартное отклонение (SD) для четырех животных.

Таблица Е9. Определение количества CAR-T клеток в периферической крови мышей, обработанных Т-клетками, экспрессирующими анти-BCMA CAR 2				
Доза CAR-T клеток	День 7 Среднее значение (SD) количество/мкл	День 14 Среднее значение (SD) количество/мкл	День 21 Среднее значение (SD) количество/мкл	День 28 Среднее значение (SD) количество/мкл
5×10 ⁵ клеток	0,617 (0,151)	0,472 (0,322)	0,115 (0,196)	0,126 (0,052)
1×10 ⁶ клеток	2,05 (0,85)	0,442 (0,229)	0,384 (0,643)	0,154 (0,206)
2×10 ⁶ клеток	4,42 (1,85)	1,39 (0,75)	0,326 (0,256)	6,34 (10,68)

[0664] Эти результаты показывают, что клон 16 антиидиотипического антитела-кандидата можно использовать для детектирования и количественного определения Т-клеток, экспрессирующих анти-BCMA CAR 2 *in vivo*.

[0665] Настоящее изобретение не предназначено для ограничения объема конкретными раскрытыми вариантами осуществления, которые представлены, например, для иллюстрации различных аспектов изобретения. Различные модификации описанных композиций и способов станут очевидными из представленного в настоящем документе описания и идей. Такие варианты могут применяться на практике без отклонения от истинного объема и сущности изобретения, и предполагается, что они входят в объем настоящего изобретения.

Последовательности

#	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ	ПОЯСНЕНИЕ
1	SYWIG	CDR-H1; Кабат (целевое антитело 1)
2	IIYPGDS DTRYSPSFQG	CDR-H2; Кабат (целевое антитело 1)
3	YSGSFDN	CDR-H3; Кабат, Чотиа; AbM (целевое антитело 1)
4	GYSFTSY	CDR-H1; Чотиа (целевое антитело 1)
5	YPGDSD	CDR-H2; Чотиа (целевое антитело 1)
6	GYSFTSYWIG	CDR-H1; AbM (целевое антитело 1)

7	IIYPGDS DTR	CDR-H2; AbM (целевое антитело 1)
8	SGTSSNIGSHSVN	CDR-L1; Кабат, Чотиа, AbM (целевое антитело 1)
9	TNNQRPS	CDR-L2; Кабат, Чотиа, AbM (целевое антитело 1)
10	AAWDGSLNGLV	CDR-L3; Кабат, Чотиа, AbM (целевое антитело 1)
11	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGHVTISADKSIS TAYLQWSSLKASDTAMY YCARYSGSFDNWGQGTLVTV SS	VH (целевое антитело 1)
12	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVN WYQQ LPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGL QSEDEADYYCAA WDGSLNGLVFGGGTKLTVLG	VL (целевое антитело 1)
13	SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVN WYQQ LPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGL QSEDEADYYCAA WDGSLNGLVFGGGTKLTVLGS RGGG GSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISC KGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTR YSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY YCAR YSGSFDNWGQGTLVTVSS	scFv (целевое антитело 1)
14	SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA	Линкер
15	DYYVY	CDR-H1; Кабат (целевое антитело 2)
16	WINPNSGGTNYAQKFQG	CDR-H2; Кабат (целевое антитело 2)
17	SQRDGYMDY	CDR-H3; Кабат, Чотиа; AbM (целевое антитело 2)
18	GYTFIDY	CDR-H1; Чотиа (целевое антитело 2)
19	NPNSGG	CDR-H2; Чотиа (целевое антитело 2)
20	GYTFIDYYVY	CDR-H1; AbM (целевое антитело 2)

21	WINPNSGGTN	CDR-H2; AbM (целевое антитело 2)
22	TGTSSDVG	CDR-L1; Кабат, Чотиа, AbM (целевое антитело 2)
23	EDSKRPS	CDR-L2; Кабат, Чотиа, AbM (целевое антитело 2)
24	SSNTRSSTLV	CDR-L3; Кабат, Чотиа, AbM (целевое антитело 2)
25	EVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCASGYTFIDYYVYWM RQAPGQGLESMDGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDT SISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDGYMDYWGQG TLVTVSS	VH (целевое антитело 2)
26	QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKA PKLMIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSNTRSSTLVFGGGGTKLTVLG	VL (целевое антитело 2)
27	QSALTQPASVSASPGQSIASCTGTSSDVGWYQQHPGKA PKLMIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE ADYYCSSNTRSSTLVFGGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGS GGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCASGYT FIDYYVYWMRQAPGQGLESMDGWINPNSGGTNYAQKFQ GRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRD GYMDYWGQGTLVTVSS	scFv (целевое антитело 2)
28	SYWMN	CDR-H1; Кабат (клон 15)
29	QIYPGNGETNNNGKFKG	CDR-H2; Кабат (клон 15)
30	GGWYFDV	CDR-H3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 15)
31	GYAFSSY	CDR-H1; Чотиа (клон 15)
32	YPNGE	CDR-H2; Чотиа (клон 15)
33	GYAFSSYWMN	CDR-H1; AbM (клон 15)
34	QIYPGNGETN	CDR-H2; AbM

		(клон 15)
35	RASENIYSYLA	CDR-L1; Кабат, Чотиа, AbM (клон 15)
36	NAYTLAE	CDR-L2; Кабат, Чотиа, AbM (клон 15)
37	QHGYGTPWT	CDR-L3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 15)
38	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSSYWMNWV KQRPKGKLEWIGQIYPGNGETNNNGKFKGKATLTADIS SSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGWYFDVWGTGTTV TVSS	VH (клон 15)
39	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWEYQQK QGKSPHLLVYNAYTLAEGVPSRFSGSGSDTQFSLKINSL QPEDFGNYCQHGYGTPWTFGGGTKVEIK	VL (клон 15)
40	QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSSYWMNWV KQRPKGKLEWIGQIYPGNGETNNNGKFKGKATLTADIS SSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGWYFDVWGTGTTV TVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSST WPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPE VSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQFS WVVDDEVEHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIMHQDWL NGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPP KEQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENY KNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLH EGLHNHHTTEKSLSHSPGK	Тяжелая цепь (клон 15)
41	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWEYQQK QGKSPHLLVYNAYTLAEGVPSRFSGSGSDTQFSLKINSL QPEDFGNYCQHGYGTPWTFGGGTKVEIKRADAAPT SIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFFYPKDIVKWKIDGSR QNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKEDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	Легкая цепь (клон 15)
42	CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAAGCTTC TGGCTACGCATTTCAGTAGCTACTGGATGAAGTGGTG AAGCAGAGGCCTGGAAAGGGTCTTGAATGGATTGGA CAGATTTATCTGGAAATGGTGAACATAACAACAACG GAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACA TATCTCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCT GACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGA GGGGGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCAT CTGTCTATCCACTGGCCCCCTGGATCTGCTGCCCAAAC TAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGC	Тяжелая цепь; нуклеотиды (клон 15)

	TATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCTG GATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGT CCTGCAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTG ACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCCAGACCGTCA CCTGCAACGTTGCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGT GGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGATTGTGGTTGTAA GCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTGTC TTCATCTTCCCCCCTAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCA TACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGA CATCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGG TTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGA AACCCCGGGAGGAGCAGATCAACAGCACTTCCGTTT AGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTC AATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAACAGTGCA GCTTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGGTGTACACCA TTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAGGATAAAG TCAGTCTGACCTGCATGATAACAAACTTCTTCCCTGA AGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAATGGGCAGCC AGCGGAGAACTACAAGAACACTCAGCCCATCATGGA CACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGCTCAAT GTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATACTTTC ACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAACCACC ATACTGAGAAGAGCCTCTCCCCTCTCCTGGTAAATG A	
43	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTG CATCTGTGGGAGAACTGTCAACCATCACATGTCGAGC AAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAG CAGAAACAGGGAAAATCTCCTCACCTCCTGGTCTATA ATGCATACACCTTAGCAGAAGGTGTGCCATCAAGATT CAGTGGCAGTGGATCAGACACACAGTTTTCTCTGAAG ATCAACAGTCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAATTATT ACTGTCAACATCATTATGGTACTCCGTGGACGTTTCGG TGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAACGGGCTGATGC TGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAG CAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCT TGAACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTG GAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCT GAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCAC CTACAGCATGAGCAGCACCTCACGTTGACCAAGGAC GAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCC ACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCT TCAACAGGAATGAGTGTTAG	Легкая цепь; нуклеотиды (клон 15)
44	MEWPLIFLFLLSGTAGVQS	Лидерная последовательность; тяжелая цепь (клон 15)
45	ATGGAATGGCCTTTGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGG AACTGCAGGTGTCCAATCC	Лидерная последовательность;

		тяжелая цепь, нуклеотиды (клон 15)
46	MSVPTQVLGLLLLWLTGARC	Лидерная последовательность; легкая цепь (клон 15)
47	ATGAGTGTGCCCACTCAGGTCCTGGGGTTGCTGCTGC TGTGGCTTACAGGTGCCAGATGT	Лидерная последовательность; легкая цепь, нуклеотиды (клон 15)
48	CAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAAGCTTC TGGCTACGCATTCAGTAGCTACTGGATGAACTGGGTG AAGCAGAGGCCTGGAAAGGGTCTTGAATGGATTGGA CAGATTTATCCTGGAAATGGTGAAACTAACAACAACG GAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACA TATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCT GACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGA GGGGGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACC ACGGTCACCGTCTCCTCA	VH; нуклеотиды (клон 15)
49	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTG CATCTGTGGGAGAACTGTCACCATCACATGTCGAGC AAGTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAG CAGAAACAGGGAAAATCTCCTCACCTCCTGGTCTATA ATGCATACACCTTAGCAGAAGGTGTGCCATCAAGATT CAGTGGCAGTGGATCAGACACACAGTTTTCTCTGAAG ATCAACAGTCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAATTATT ACTGTCAACATCATTATGGTACTCCGTGGACGTTTCGG TGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAA	VL; нуклеотиды (клон 15)
50	ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF QSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSLGK	Спейсер
51	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSIN ATNIKHFKNCTSIGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQEL DILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQ HGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYA NTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCS PEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREF VENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDG PHCVKTCFAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNC TYGCTGPGLEGCPNTPGPKIPSIATGMVGALLLLVVALG	Укороченный EGFR (tEGFR)

	IGLFM	
52	RYWMS	CDR-H1; Кабат (клон 10)
53	EINPDSSTINYTPSLKD	CDR-H2; Кабат (клон 10)
54	HGYYWYFDV	CDR-H3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 10)
55	GFDFSR Y	CDR-H1; Чотиа (клон 10)
56	NPDSST	CDR-H2; Чотиа (клон 10)
57	GFDFSR YWMS	CDR-H1; AbM (клон 10)
58	EINPDSSTIN	CDR-H2; AbM (клон 10)
59	RASQDISNYLN	CDR-L1; Кабат, Чотиа, AbM (клон 10)
60	YTSRLHS	CDR-L2; Кабат, Чотиа, AbM (клон 10)
61	QQGNTLPYT	CDR-L3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 10)
62	EVKLL ESGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSR YWMSWV RQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMSKVRSEDTALYYCARHGYYWYFDVWGAGTT VTVSS	VH (клон 10)
63	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIK	VL (клон 10)
64	EVKLL ESGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSR YWMSWV RQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKN TLYLQMSKVRSEDTALYYCARHGYYWYFDVWGAGTT VTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYF PEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPS STWPSETVTCNV AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTV PEVSSVFIFPPKPKDVLITITLPKVTCVVVDISKDDPEVQ FSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQD	Тяжелая цепь (клон 10)

	WLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAE NYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCS VLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK	
65	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNG VLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEA THKTSTSPIVKSFNRNEC	Легкая цепь (клон 10)
66	GAGGTGAAGCTTCTCGAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGC AGCCTGGAGGATCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTC AGGATTCGATTTTAGTAGATACTGGATGAGTTGGGTC CGGCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTAGAATGGATTGGA GAAATTAATCCAGATAGCAGTACGATAAACTATACGC CATCTCTAAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGACAA CGCCAAAAATACGCTGTACCTGCAAATGAGCAAAGT GAGATCTGAGGACACAGCCCTTTATTACTGTGCAAGA CATGGTTACTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCAG GGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGACACC CCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCCTGGATCTGCTGCCC AACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAA GGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAAC TCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAG CTGTCCTGCAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTC AGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCGAGACC GTCACCTGCAACGTTGCCCAACCGGCCAGCAGCACCA AGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGATTGTGGTT GTAAGCCTTGCAATGTACAGTCCCAGAAGTATCATC TGTCTTCATCTTCCCCCCTAAAGCCCAAGGATGTGCTC ACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGG TAGACATCAGCAAGGATGATCCCAGAGGTCCAGTTCAG CTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAG ACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCC GCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACCAGGACTG GCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAACAG TGCAGCTTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGGTGTAC ACCATTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAGGAT AAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAACAGACTTCTTCC CTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAATGGGC AGCCAGCGGAGAACTACAAGAACTCAGCCCATCA TGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGCT CAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATAC TTTCACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAAC CACCATACTGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTA AATGA	Тяжелая цепь; нуклеотиды (клон 10)
67	GAGGTGAAGCTTCTCGAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGC AGCCTGGAGGATCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTC AGGATTCGATTTTAGTAGATACTGGATGAGTTGGGTC CGGCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTAGAATGGATTGGA GAAATTAATCCAGATAGCAGTACGATAAACTATACGC	VH; нуклеотиды (клон 10)

	CATCTCTAAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGACAA CGCCAAAAATACGCTGTACCTGCAAATGAGCAAAGT GAGATCTGAGGACACAGCCCTTTATTACTGTGCAAGA CATGGTTACTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCAG GGACCACGGTCACCGTCTCCTCA	
68	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTG CCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGC AAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAG CAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACT ACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACC ATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACT TTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCG AGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA	VL; нуклеотиды (клон 10)
69	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTG CCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGC AAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAG CAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACT ACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACC ATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACT TTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCG AGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAACGGGCTGATGC TGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAG CAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCT TGAACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTG GAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCT GAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCAC CTACAGCATGAGCAGCACCCCTCACGTTGACCAAGGAC GAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCC ACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCT TCAACAGGAATGAGTGTTAG	Легкая цепь; нуклеотиды (клон 10)
70	MDFGLIFFIVALLKGVQC	Лидерная последовательность; тяжелая цепь (клон 10)
71	ATGGATTTTGGGCTGATTTTTTTTATTGTTGCTCTTTA AAAGGGGTCCAGTGT	Лидерная последовательность; тяжелая цепь, нуклеотиды (клон 10)
72	MSSAQFLGLLLLCFQGTRC	Лидерная последовательность; легкая цепь (клон 10)

73	ATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTG TTTTCAAGGTACCAGATGT	Лидерная последовательность; легкая цепь, нуклеотиды (клон 10)
74	AYWIE	CDR-H1; Кабат (клон 19)
75	EILPGSGITKYSEKFKG	CDR-H2; Кабат (клон 19)
76	DYYSDNY	CDR-H3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 19)
77	GYTFTAY	CDR-H1; Чотиа (клон 19)
78	LPGSGI	CDR-H2; Чотиа (клон 19)
79	GYTFTAYWIE	CDR-H1; AbM (клон 19)
80	EILPGSGITK	CDR-H2; AbM (клон 19)
81	KSSQSLLDSDGRTYLN	CDR-L1; Кабат, Чотиа, AbM (клон 19)
82	LVSKLDS	CDR-L2; Кабат, Чотиа, AbM (клон 19)
83	WQGTLFPYT	CDR-L3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 19)
84	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTAYWIEWV KQRPBGHGLEWIGELPGSGITKYSEKFKGKATFTADTSS NTAYMQLSSLTTEDSAIYYCARDYYSDNYWGQGTSTV VSS	VH (клон 19)
85	DVVMQTQIPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGRTYLN WLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGYYCWQGTLFPYTFGGGKLEIK	VL (клон 19)
86	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTAYWIEWV	Тяжелая цепь

	KQRPBGHGLEWIGEILPGSGITKYSEKFKGKATFTADTSS NTAYMQLSSLTTEDSAIYYCARDYYSDNYWGQGTSVT VSSAKTTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPES VTVTWNSGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTW PSQTVTCVAHPASSTTVDDKKLEPSGPISTINPCPPCKEC HKCPAPNLEGGPSVFIFPPNIKDVLMSLTPKVTCVVVDV SEDDPDVRISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVS ALPIQHGDWMSGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLV RAPQVYILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWT SNGHTEENYKDTAPVLDSGYSYFIYSKLDIKTSKWEKTD SFSCNVRHEGLKNYYLKKTISRSPGK	(клон 19)
87	DVVMQTQIPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLDSDGRTYLN WLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGVIYCWQGTLPFYTFGGGKLEIKRADA APTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKID GSRQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERH NSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	Легкая цепь (клон 19)
88	CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGATGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGCTTTCCTGCAAGGCTAC TGGCTACACATTCAGTGCCTACTGGATAGAGTGGGTA AAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGA GAGATTTTACCTGGAAGTGGTATTACTAAATACAGTG AGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTCAGTGCAGATA CATCCTCCAATACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCT GACAACTGAGGACTCTGCCATCTATTACTGTGCAAGA GACTACTATAGTGACAACTACTGGGGTCAAGGAACCT CAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACAACACCCCCATC AGTCTATCCACTGGCCCCCTGGGTGTGGAGATACAAC GGTTCCTCTGTGACTCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCT ACTTCCCTGAGTCAGTGACTGTGACTTGGAACCTCTGG ATCCCTGTCCAGCAGTGTGCACACCTTCCCAGCTCTC CTGCAGTCTGGACTCTACACTATGAGCAGCTCAGTGA CTGTCCCCCTCCAGCACCTGGCCAAGTCAGACCGTCAC CTGCAGCGTTGCTCACCCAGCCAGCAGCACCACGGTG GACAAAAAACTTGAGCCCAGCGGGCCCATTTCAACA ATCAACCCCTGTCTCCATGCAAGGAGTGTCACAAAT GCCAGCTCCTAACCTCGAGGGTGGACCATCCGTCTT CATCTTCCCTCCAAATATCAAGGATGTACTCATGATC TCCCTGACACCCAAGGTCACGTGTGTGGTGGTGGATG TGAGCGAGGATGACCCAGACGTCCGGATCAGCTGGTT TGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACA AACCCATAGAGAGGATTACAACAGTACTATCCGGGT GGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCCAGGACTGGATG AGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAA GACCTCCCATCACCCATCGAGAGAACCATCTCAAAAA TTAAAGGGCTAGTCAGAGCTCCACAAGTATACATCTT GCCGCCACCAGCAGAGCAGTTGTCCAGGAAAGATGT CAGTCTCACTTGCTGGTCTGTGGGCTTCAACCCTGGA GACATCAGTGTGGAGTGGACCAGCAATGGGCATACA GAGGAGAACTACAAGGACACCGCACCCAGTCCTGGAC TCTGACGGTTCTTACTTCATATACAGCAAGCTCGATA TAAAAACAAGCAAGTGGGAGAAAACAGATTCCTTCT	Тяжелая цепь; нуклеотиды (клон 19)

	CATGCAACGTGAGACACGAGGGTCTGAAAAATTACT ACCTGAAGAAGACCATCTCCCGGTCTCCGGGTAAATG A	
89	GATGTTGTGATGACCCAGATTCCACTCACTTTGTCGG TTACCATTGGACAACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTC AAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAGGACATAT TTGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAA AGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGG AGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACA GATTTACATTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAG GATTTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGTACACTTTT TCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGAT AAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTC CCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCT CAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCTACCCCAAAGA CATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACG ACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACTGATCAGGA CAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCT CACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAG CTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCA CCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTAG	Легкая цепь; нуклеотиды (клон 19)
90	CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGATGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGCTTTCCTGCAAGGCTAC TGGCTACACATTCAGTGCCTACTGGATAGAGTGGGTA AAGCAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGA GAGATTTTACCTGGAAGTGGTATTACTAAATACAGTG AGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTCAGTGCAGATA CATCCTCCAATACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCT GACAACTGAGGACTCTGCCATCTATTACTGTGCAAGA GACTACTATAGTGACAACTACTGGGGTCAAGGAACCT CAGTCACCGTCTCCTCA	VH; нуклеотиды (клон 19)
91	GATGTTGTGATGACCCAGATTCCACTCACTTTGTCGG TTACCATTGGACAACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTC AAGTCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAGGACATAT TTGAATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAA AGCGCCTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGG AGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACA GATTTACATTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAG GATTTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGTACACTTTT TCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGAT AAAA	VL; нуклеотиды (клон 19)
92	MEWTWVFLFLSVTAGVHS	Лидерная последовательность; тяжелая цепь (клон 19)
93	ATGGAATGGACCTGGGTCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGT AACTGCAGGTGTCCACTCC	Лидерная последовательность; тяжелая цепь,

		нуклеотиды (клон 19)
94	MSPAQFLFLLVLWIRETNG	Лидерная последовательность; легкая цепь (клон 19)
95	ATGAGTCCTGCCCAGTTCCTGTTTCTGTTAGTGCTCTG GATTCGGGAAACCAACGGT	Лидерная последовательность; легкая цепь, нуклеотиды (клон 19)
96	MFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 трансмембранный домен
97	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAA YRS	CD28 (аминокислоты 180- 220 of P10747) Homo sapiens
98	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRS	CD28 (LL to GG) Homo sapiens
99	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGG CEL	4-1BB (аминокислоты 214- 255 of Q07011.1) Homo sapiens
100	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR	Внеклеточный сигнальный домен CD3-дзета
101	ESKYGPPCPPCP	спейсер (шарнир IgG4)
102	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LGK	шарнир-С _H 3 спейсер (aa)
103	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF	шарнир-С _H 2-С _H 3 спейсер (aa)

	YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK	
104	DFYIN	CDR-H1; Кабат (клон 16)
105	WIFPRSGSTYYNEKFKG	CDR-H2; Кабат (клон 16)
106	GDGYSGAMDY	CDR-H3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 16)
107	GYTGTDF	CDR-H1; Чотиа (клон 16)
108	FPRSGS	CDR-H2; Чотиа (клон 16)
109	GYTGTDFYIN	CDR-H1; AbM (клон 16)
110	WIFPRSGSTY	CDR-H2; AbM (клон 16)
111	SASQGIRNYLN	CDR-L1; Кабат, Чотиа, AbM (клон 16)
112	YTSNLHS	CDR-L2; Кабат, Чотиа, AbM (клон 16)
113	QQYNNLPRT	CDR-L3; Кабат, Чотиа, AbM (клон 16)
114	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDFYINWVK QRPQGQLEWI GWIFPRSGSTYYNEKFKGKATLSVDKSSITAYMLLSSLT SEDSAVYFCARGDGYSGAMDYWGQGTSVTVSS	VH (клон 16)
115	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGIRNYLNWYQQK PDGTVKLLI YYTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDATYYC QQYNNLPRTFGGGTKLEIK	VL (клон 16)
116	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDFYINWVK QRPQGQLEWIGWIFPRSGSTYYNEKFKGKATLSVDKSSI TAYMLLSSLTSEDSAVYFCARGDGYSGAMDYWGQGTS VTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNMVTLGCLVKGYP PEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPS STWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTV	Тяжелая цепь (клон 16)

	PEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQ FSWFVDDVEVHTAQTTPREEQINSTFRSVSELPIMHQD WLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKEQMAKDQVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAE NYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCS VLHEGLHNHHTKSLSHSPGK	
117	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGIRNYLNWYQQK PDGTVKLLI YYTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYC QQYNNLPRTEFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSG GASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTD QDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSP IVKSFNRNEC	Легкая цепь (клон 16)
118	CAGGTCCAGCTACAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGA AGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTC TGGCTACACCTTCACTGACTTCTATATAAACTGGGTG AAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGGA TGGATTTTTCCTAGAAGTGGTAGTACTTACTACAATG AGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTTAGTGTAGACA AATCTTCCATCACAGCCTACATGTTGCTCAGCAGCCT GACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGG GGGGATGGTTACTCTGGAGCTATGGACTACTGGGGTC AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGAC ACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCCTGGATCTGCTG CCCAAATACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGT CAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGG AACTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCC CAGCTGTCCTGCAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAG CTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCCAG ACCGTCACCTGCAACGTTGCCACCCGGCCAGCAGCA CCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGATTGTG GTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATC ATCTGTCTTCATCTTCCCCCAAGCCCAAGGATGTG CTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTACAGTGTGTTGT GGTAGACATCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCCAGTTC AGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTC AGACGAAACCCCGGGAGGAGCAGATCAACAGCACTT TCCGTTCACTCAGTGAAGTCTCCCATCATGCACCAGGA CTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAA CAGTGCAGCTTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATC TCCAAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGGTG TACACCATTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAGG ATAAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAACAACTTCTT CCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAAATGG GCAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACAACACTCAGCCCAT CATGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAG CTCAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAAT ACTTTCACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACA ACCACCATACTGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGG TAAATGA	Тяжелая цепь; нуклеотид (клон 16)
119	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTG CCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGTGC	Легкая цепь;

	AAGTCAGGGCATTAGAAATTATTTAAACTGGTATCAG CAGAAACCAGATGGAACCTGTTAAACTCCTGATCTATT ACACATCAAATTTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACC ATCAGCAACCTGGAACCTGAAGATATTGCCACTTACT ATTGTCAGCAGTATAATAACCTTCCTCGGACGTTTCGG TGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGC TGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAG CAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCT TGAACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTG GAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCT GAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCAC CTACAGCATGAGCAGCACCTCACGTTGACCAAGGAC GAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCC ACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCT TCAACAGGAATGAGTGTTAG	нуклеотид (клон 16)
120	CAGGTCCAGCTACAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGA AGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTC TGGCTACACCTTCACTGACTTCTATATAAACTGGGTG AAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGGA TGGATTTTTCTAGAAAGTGGTAGTACTTACTACAATG AGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTTAGTGTAGACA AATCTTCCATCACAGCCTACATGTTGCTCAGCAGCCT GACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGG GGGGATGGTTACTCTGGAGCTATGGACTACTGGGGTC AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA	VH; нуклеотид (клон 16)
121	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTG CCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGTGC AAGTCAGGGCATTAGAAATTATTTAAACTGGTATCAG CAGAAACCAGATGGAACCTGTTAAACTCCTGATCTATT ACACATCAAATTTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACC ATCAGCAACCTGGAACCTGAAGATATTGCCACTTACT ATTGTCAGCAGTATAATAACCTTCCTCGGACGTTTCGG TGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA	VL; нуклеотид (клон 16)
122	MGWSWIFLFLLSGTAGVHC	Лидерная последовательность; тяжелая цепь (клон 16)
123	ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAG GAACTGCAGGTGTCCATTGC	Лидерная последовательность; тяжелая цепь, нуклеотиды (клон 16)
124	MSSAQFLGLLLLCFQGTRC	Лидерная последовательность;

		легкая цепь (клон 16)
125	ATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTG TTTTCAAGGTACCAGATGT	Лидерная последовательность; легкая цепь, нуклеотиды (клон 16)
126	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A пептид (aa)
127	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A пептид (aa)
128	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A пептид (aa)
129	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A пептид (aa)
130	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A пептид (aa)
131	GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A пептид (aa)
132	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A пептид (aa)
133	GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A пептид (aa)
134	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A пептид

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82 или 112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

2. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

3. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85 или 115.

4. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84 или 114; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85 или 115.

5. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 2-4, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность

с SEQ ID NO:74 или 104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75 или 105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76 или 106; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81 или 111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82 или 112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83 или 113.

6. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3 и п. 5, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115.

7. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

8. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:74, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:75, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:76; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:81, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:82, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:83.

9. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-8, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:84, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:85.

10. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:104, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:105, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:106;

и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:111, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:112, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:113.

11. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7 и 10, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:114, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:115.

12. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-11, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий BCMA.

13. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-12, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

14. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 13, где целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

15. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 14, где одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью.

16. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 15, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14.

17. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 14-16, где одноцепочечный фрагмент целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), где необязательно scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

18. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-17, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает эпитоп в пределах CDR целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или эпитоп, включающий всю или часть CDR целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

19. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-18, где:

целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри или включено антигенсвязывающий домен внеклеточной части CAR.

20. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 17 или п. 18, где:

scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть CAR; и/или антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть CAR.

21. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 19 или п. 20, где CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер.

22. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 21, где спейсер представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, необязательно содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50.

23. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 21 или п. 22, где трансмембранный домен содержит трансмембранную часть CD28, который необязательно представляет собой человеческий CD28.

24. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 21-23, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене CAR.

25. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-24, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или специфически не связывает CD28 или его часть, который необязательно является человеческим CD28.

26. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-25, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-доме, который необязательно представляет собой Fc-домен человеческого IgG1.

27. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-26, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывает целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

28. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-27, где антиидиотипическое антитело имеет константу диссоциации с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которая составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ.

29. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-28, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не вступает в перекрестную реакцию с другим анти-BCMA антителом, которое необязательно содержится во внеклеточном антигенсвязывающем домене другого CAR.

30. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 29,

где другое анти-BCMA антитело:

(i) содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:25, и/или VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:26; и/или

(ii) содержит scFv, последовательность которого на менее чем 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13; и/или

(iii) содержит CDR-H1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO:15, и/или CDR-H2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO:16, и/или CDR-H3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO:17, и/или CDR-L1, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO:22, и/или CDR-L2, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности SEQ ID NO:23, и/или CDR-L3, у которой 1, 2, 3 или 4 или более аминокислотных остатков отличаются от аминокислотной последовательности CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO:24; и/или

(iv) связывает эпитоп человеческого BCMA, который не является тем же самым эпитопом человеческого BCMA, с которым связывается целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

31. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-30, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, содержащего целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

32. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 31, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда находится в растворенной форме.

33. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 31 или п. 32, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом CAR, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе.

34. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 33, где подложка представляет собой планшет.

35. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 33, где подложка представляет собой гранулу.

36. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-35, где связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом не блокируется человеческим BCMA или человеческим

BCMA-Fc.

37. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61.

38. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие соответственно аминокислотные последовательности CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащиеся в аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

39. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

40. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39 или 63.

41. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 38-40, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28 или 52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29 или 53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30 или 54; и

VL-область, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35 или 59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36 или 60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37 или 61.

42. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37, 38 и 41, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39 или 63.

43. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-39, 41 и 42, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38 или 62; и

VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39 или 63.

44. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-39, 41 и 42, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:63.

45. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-44, где:

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39; или

VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63.

46. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по

любому из пп. 37-45, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:28, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:29, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:30; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:35, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:36, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:37.

47. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-46, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:38, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:39.

48. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-45, где:

VH-область содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:52, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:53, и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:54; и

VL-область содержит CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:59, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:60, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:61.

49. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-45 и 48, где VH-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:62, и VL-область содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:63.

50. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-49, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий BCMA, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает человеческий BCMA.

51. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-50, где:

первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12; и

второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

52. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 51, где первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой первый одноцепочечный фрагмент, и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой второй

одноцепочечный фрагмент.

53. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 52, где первый одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью, и второй одноцепочечный фрагмент содержит гибкий линкер, расположенный между VH-областью и VL-областью.

54. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 53, где гибкий линкер первого одноцепочечного фрагмента и/или второго одноцепочечного фрагмента содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14.

55. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 52-54, где первый одноцепочечный фрагмент первого целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой первый scFv, и второй одноцепочечный фрагмент второго целевого анти-BCMA антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой второй scFv.

56. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 55, где первый scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13, и второй scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

57. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-56, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает:

эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR первого целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента; и

эпитоп, который находится внутри или включает всю или часть CDR второго целевого анти-BCMA антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

58. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-57, где:

первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части первого CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает первое целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части первого CAR.

59. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-58, где:

второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент находится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части второго CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает второе целевое анти-BCMA антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которое содержится внутри или включено в антигенсвязывающий домен внеклеточной части

второго CAR.

60. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-59, где:

первый scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть первого CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает первый scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть первого CAR.

61. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-60, где:

второй scFv находится внутри или включен во внеклеточную часть второго CAR; и/или

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывает второй scFv, который содержится внутри или включен во внеклеточную часть второго CAR.

62. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 58-61, где первый CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер, и/или второй CAR дополнительно содержит трансмембранный домен, связанный с антигенсвязывающим доменом через спейсер.

63. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 62, где спейсер первого CAR и/или второго CAR представляет собой иммуноглобулиновый спейсер, где необязательно спейсер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:50.

64. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 62 или п. 63, где трансмембранный домен первого CAR и/или второго CAR содержит трансмембранную часть CD28, который необязательно является человеческим CD28.

65. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 62-64, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в спейсерном домене первого CAR и/или второго CAR.

66. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-65, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает или специфически не связывает CD28 или его часть, который необязательно является человеческим CD28.

67. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-66, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент не связывает эпитоп в Fc-доме, который необязательно представляет собой Fc-домен человеческого IgG1.

68. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-67, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент специфически связывает первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

69. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-68, где антиидиотипическое антитело имеет константу диссоциации с первым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и/или вторым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которая составляет или составляет примерно, или меньше чем или меньше чем примерно 100 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 19 нМ, 18 нМ, 17 нМ, 16 нМ, 15 нМ, 14 нМ, 13 нМ, 12 нМ, 11 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или 1 нМ.

70. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-69, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR, содержащего первое целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и/или является агонистом второго CAR, содержащего второе целевое анти-BCMA антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

71. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 70, где:

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR и/или второго CAR, когда находится в растворенной форме; и/или

антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является агонистом первого CAR и/или второго CAR, когда иммобилизовано на подложке или стационарной фазе, при этом подложка или стационарная фаза необязательно представляет собой планшет или гранулу.

72. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-71, где связывание антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с первым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и/или вторым целевым анти-BCMA антителом или его антигенсвязывающим фрагментом не блокируется человеческим BCMA или человеческим BCMA-Fc.

73. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-72, содержащее по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи и/или легкой цепи иммуноглобулина.

74. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 73, где антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит константную область тяжелой цепи, содержащую Fc-область, или часть Fc, содержащую домены CH2 и CH3, и/или константную область легкой цепи, содержащую домен CL.

75. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 73 или п. 74, где константная область иммуноглобулина происходит от IgG, необязательно

IgG1.

76. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 74 или п. 75, где константная область легкой цепи происходит от легкой каппа-цепи.

77. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-76, которое представляет собой интактное антитело или полноразмерное антитело.

78. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-36 и 73-77, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117.

79. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-36 и 73-78, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:87; или

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:117.

80. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-9, 12-36 и 73-79, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:87.

81. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, 10-36 и 73-79, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:116, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:117.

82. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 37-77, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая на по

любому из пп. 1-76, которое представляет собой антигенсвязывающий фрагмент.

89. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 88, где антигенсвязывающий фрагмент выбирают из Fab-фрагментов, F(ab')₂-фрагментов, Fab'-фрагментов, Fv-фрагментов, scFv и однодоменного антитела.

90. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-89, которое является гуманизированным.

91. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-90, которое является рекомбинантным.

92. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-91, которое является моноклональным.

93. Конъюгат, содержащий антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-92 и гетерологичную молекулу или компонент.

94. Конъюгат по п. 93, где гетерологичная молекула или компонент представляет собой метку.

95. Конъюгат по п. 94, где метку выбирают из флуоресцентного красителя, флуоресцентного белка, радиоизотопа, хромофора, иона металла, частицы золота, частицы серебра, магнитной частицы, полипептида, фермента, стрептавидина, биотина, люминесцентного соединения и олигонуклеотида.

96. Конъюгат по п. 94, где гетерологичная молекула или компонент представляет собой белок, пептид, нуклеиновую кислоту или малую молекулу, которая необязательно представляет собой или содержит токсин или стрептококковую метку.

97. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(ие) тяжелую цепь и/или легкую цепь антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-92.

98. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):
последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:62, (ii) вариабельную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:62; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:63, (v) вариабельную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:63; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

99. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):
последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:84, (ii) вариабельную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:84; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) вариабельную область легкой

цепи с SEQ ID NO:85, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:85; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

100. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:114, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:114; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:115, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:115; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

101. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:38, (ii) переменную область тяжелой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:38; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:39, (v) переменную область легкой цепи, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:39; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

102. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:64, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:64; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:65, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:65; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

103. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:86, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:86; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:87, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:87; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

104. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:116, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:116; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:117, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO:117; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

105. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по п. 97, содержащая(ие):

последовательность нуклеотидов, кодирующую (i) тяжелую цепь с SEQ ID NO:40, (ii) тяжелую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:40; или (iii) вырожденную последовательность (i) или (ii); и

последовательность нуклеотидов, кодирующую (iv) легкую цепь с SEQ ID NO:41, (v) легкую цепь, последовательность которой на по меньшей мере 90% идентична последовательности нуклеотидов, приведенной в SEQ ID NO:41; или (vi) вырожденную последовательность (iv) или (v).

106. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по любому из пп. 97-105, где нуклеотидная последовательность, кодирующая тяжелую цепь и/или легкую цепь, содержит сигнальную последовательность.

107. Молекула(ы) нуклеиновой кислоты по любому из пп. 97-106, где молекула(ы) нуклеиновой кислоты содержит(ат) одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO:42, 43, 48, 49, 66-69, 88-91 и 118-121.

108. Вектор, содержащий молекулу(ы) нуклеиновой кислоты по любому из пп. 97-107.

109. Клетка, содержащая антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-92, молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 97-107 или вектор по п. 108.

110. Способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий экспрессию тяжелой и/или легкой цепи, кодируемой молекулой(ами) нуклеиновой кислоты по любому из пп. 97-107 или вектором по п. 108 в подходящей клетке-хозяине, и извлечение или выделение антитела.

111. Способ получения антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий культивирование клетки по п. 109 в условиях, в которых происходит экспрессия тяжелой цепи и/или легкой цепи, и извлечение или выделение антитела.

112. Антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, полученные способом по п. 110 или п. 111.

113. Композиция, содержащая антиидиотипическое антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-92, конъюгат по любому из пп. 93-96 или клетку по п. 109.

114. Композиция по п. 113, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

115. Набор, содержащий одно или более антиидиотипических антител или их антигенсвязывающих фрагментов по любому из пп. 1-92, конъюгат по любому из пп. 93-96 и молекулу(ы) нуклеиновой кислоты по любой из пунктов 97-107 и необязательно инструкции по применению.

116. Набор по п. 115, дополнительно содержащий реагент или подложку для иммобилизации антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или конъюгата, где указанный реагент или подложка представляет собой гранулу, колонку, микролунку, палочку, фильтр, полоску или растворимый олигомерный реагент мутеина стрептавидина.

117. Способ детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

(а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-92 или конъюгатом по любому из пп. 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) детектирование антиидиотипического антитела, связанного с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

118. Способ по п. 117, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связано с клеткой или экспрессируется на поверхности клетки, и детектирование в (b) включает детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

119. Способ по п. 118, где клетка экспрессирует на своей поверхности CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

120. Способ детектирования CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий:

(а) приведение клетки, экспрессирующей CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-92 или конъюгатом по любому из пп. 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) детектирование клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

121. Способ по п. 120, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент непосредственно или опосредованно метят для детектирования.

122. Способ отбора клеток из популяции клеток, включающий:

(а) приведение популяции клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или клетки, связанной с целевым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-92 или конъюгатом по любому из пп. 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) отбор клеток, связанных с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

123. Способ по п. 122, где клетки, связанные с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, отбирают путем разделения по аффинности.

124. Способ по п. 123, где разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности.

125. Способ по п. 123 или п. 124, где разделение по аффинности осуществляют методом проточной цитометрии.

126. Способ по п. 123 или п. 124, где разделение по аффинности осуществляют методом магнитно-активируемой сортировки клеток.

127. Способ по п. 123 или п. 124, где разделение по аффинности включает аффинную хроматографию.

128. Способ по п. 126 или п. 127, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обратимо связывают или иммобилизуют на подложке или неподвижной фазе.

129. Способ стимуляции клеток, включающий инкубацию исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-92 или конъюгатом по любому из пп. 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, генерируя таким образом выходную композицию, содержащую стимулированные клетки.

130. Способ получения клеточной композиции, включающий:

(а) введение в клетки молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты, кодирующей(их) CAR, с получением таким образом исходной композиции; и

(b) инкубирование исходной композиции с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-92 или конъюгатом по любому из пп. 93-96, которое специфически связывает антигенный рецептор CAR, получая таким образом клеточную композицию.

131. Способ по п. 130, где введение в (а) включает введение молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки путем вирусной трансдукции, транспозиции, электропорации или химической трансфекции.

132. Способ по п. 130 или п. 131, где введение в (а) включает введение

молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки путем трансдукции вирусным вектором, содержащим молекулу(ы) нуклеиновой кислоты, где необязательно вирусный вектор представляет собой ретровирусный вектор или лентивирусный вектор.

133. Способ по п. 130 или п. 131, где введение в (а) включает введение молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки путем транспозиции транспозона, содержащего молекулу(ы) нуклеиновой кислоты.

134. Способ по п. 130 или п. 131, где введение в (а) включает введение молекулы(молекул) нуклеиновой кислоты в клетки путем электропорации или трансфекции вектора, содержащего молекулу(ы) нуклеиновой кислоты.

135. Способ по любому из пп. 130-134, дополнительно включающий этап активации клеток перед этапом (а).

136. Способ по п. 135, где этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с агонистом CD3 и необязательно агонистом CD28.

137. Способ по п. 136, где этап активации клеток включает приведение клеток в контакт с реагентом, содержащим агонистические анти-CD3 и анти-CD28 антитела.

138. Способ по любому из пп. 130-137, где инкубацию выполняют в условиях, при которых антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает CAR, тем самым индуцируя или модулируя сигнал в одной или более клетках в исходной композиции.

139. Способ по любому из пп. 130-138, где клетки включают Т-клетки.

140. Способ по п. 139, где Т-клетки включают CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клетки.

141. Способ по любому из пп. 130-140, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизовано на твердой подложке, которая необязательно содержит или конъюгирована с реагентом, содержащим множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

142. Способ по любому из пп. 130-140, где антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент иммобилизовано на растворимом реагенте, который необязательно представляет собой или содержит множество сайтов связывания, способных обратимо связываться с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

143. Способ по п. 141 или п. 142, где реагент содержит мутеин стрептавидина.

144. Способ по любому из пп. 130-143, где инкубация длится по меньшей мере или по меньшей мере примерно 5 минут, 10 минут, 30 минут, 60 минут, 2 часа, 6 часов, 12 часов, 24 часа, 36, 48 часов, 72 часа или 96 часов.

145. Способ по любому из пп. 130-144, где исходная композиция содержит менее или менее примерно 60%, менее или менее примерно 50%, менее или менее примерно 40%, менее или менее примерно 30%, менее или менее примерно 20% или менее или менее примерно 10% клеток, экспрессирующих CAR, в процентах от общего количества клеток в композиции.

146. Способ по любому из пп. 130-145, где:

количество клеток, экспрессирующих CAR, в выходной композиции увеличивается более чем в 1,2 раза, 1,5 раза, 2,0 раза, 3,0 раза, 4,0 раза, 5,0 раз, 10 раз или более относительно количества клеток, экспрессирующих CAR, в исходной композиции; и/или процент CAR-экспрессирующих в выходной композиции увеличивается относительно общего количества клеток в композиции более чем на 10%, 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или более.

147. Способ по любому из пп. 130-146, где перед введением и/или инкубацией клетки не отбирают на клетки, экспрессирующие CAR, или не обогащают клетками, экспрессирующими CAR.

148. Способ очистки антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

(а) приведение композиции, содержащей целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в контакт с антиидиотипическим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-92 или конъюгатом по любому из пп. 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

(b) выделение комплексов, содержащих антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

149. Способ по п. 148, где комплексы, содержащие антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выделяют путем разделения по аффинности.

150. Способ по п. 149, где разделение по аффинности представляет собой разделение по иммуноаффинности.

151. Способ по п. 150, где разделение по аффинности представляет собой разделение в магнитном поле.

152. Способ по п. 150, где разделение по аффинности включает аффинную хроматографию.

153. Способ истощения клеток, включающий введение субъекту композиции, содержащей антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-92 или конъюгат по любому из пп. 93-96, которое специфически связывает целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, при этом субъекту вводили клетку, экспрессирующую CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

154. Способ по п. 153, где истощение происходит посредством антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC).

155. Способ по любому из пп. 117-154, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

156. Способ по п. 155, где одноцепочечный фрагмент представляет собой scFv.

157. Способ по любому из пп. 117-156, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную

последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

158. Способ по п. 157, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

159. Способ по п. 158, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

160. Способ по любому из пп. 117-156, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

161. Способ по п. 160, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

162. Способ по п. 161, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

163. Готовое изделие, содержащее антиидиотипическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-92 или конъюгат по любому из пп. 93-96, и инструкции по применению антиидиотипического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для:

детектирования целевого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и/или

отбора из популяции клеток сконструированных клеток, экспрессирующих CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или обогащения такими клетками; и/или

стимуляции исходной композиции, содержащей клетки, экспрессирующие CAR, содержащий целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

164. Готовое изделие, содержащее:

связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR, содержащего целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где указанный внеклеточный домен или его часть содержит целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; и

антиидиотипическое антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-92 или конъюгат по любому из пп. 93-96.

165. Готовое изделие по п. 164, где связывающий реагент представляет собой первый связывающий реагент, и готовое изделие дополнительно содержит второй связывающий реагент, содержащий внеклеточный домен CAR или его часть.

166. Готовое изделие по п. 164 или п. 165, где внеклеточные домены CAR или их части в первом и втором связывающих реагентах являются одинаковыми.

167. Готовое изделие по любому из пп. 164-166, дополнительно содержащее инструкции по применению связывающего реагента, необязательно первого и второго связывающих реагентов, для анализа образца на наличие или отсутствие молекулы, которая связывается со связывающим реагентом, с помощью иммуноанализа, где необязательно иммуноанализ представляет собой мостиковый или сэндвич-иммуноанализ, где необязательно образец получен от субъекта, которому вводили клеточную терапию, включающую клетки, сконструированные с CAR, содержащим целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

168. Готовое изделие по любому из пп. 164-167, где связывающий реагент, необязательно первый и/или второй связывающий реагент, является меченным детектируемой меткой или способен генерировать детектируемый сигнал.

169. Готовое изделие по любому из пп. 165-168, где один из первого и второго связывающих реагентов присоединен к твердой подложке или может быть прикреплен к твердой подложке, и другой из первого и второго связывающих реагентов представляет собой детектируемую метку или способен генерировать детектируемый сигнал.

170. Готовое изделие по п. 169, где готовое изделие дополнительно содержит твердую подложку, где необязательно один из первого и второго связывающих реагентов связан непосредственно или опосредованно с биотином, и твердая подложка содержит покрытую стрептавидином поверхность.

171. Готовое изделие по любому из пп. 163-170, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой одноцепочечный фрагмент.

172. Готовое изделие по п. 171, где одноцепочечный фрагмент представляет собой scFv.

173. Готовое изделие по любому из пп. 163-172, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:11, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:12.

174. Готовое изделие по п. 173, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

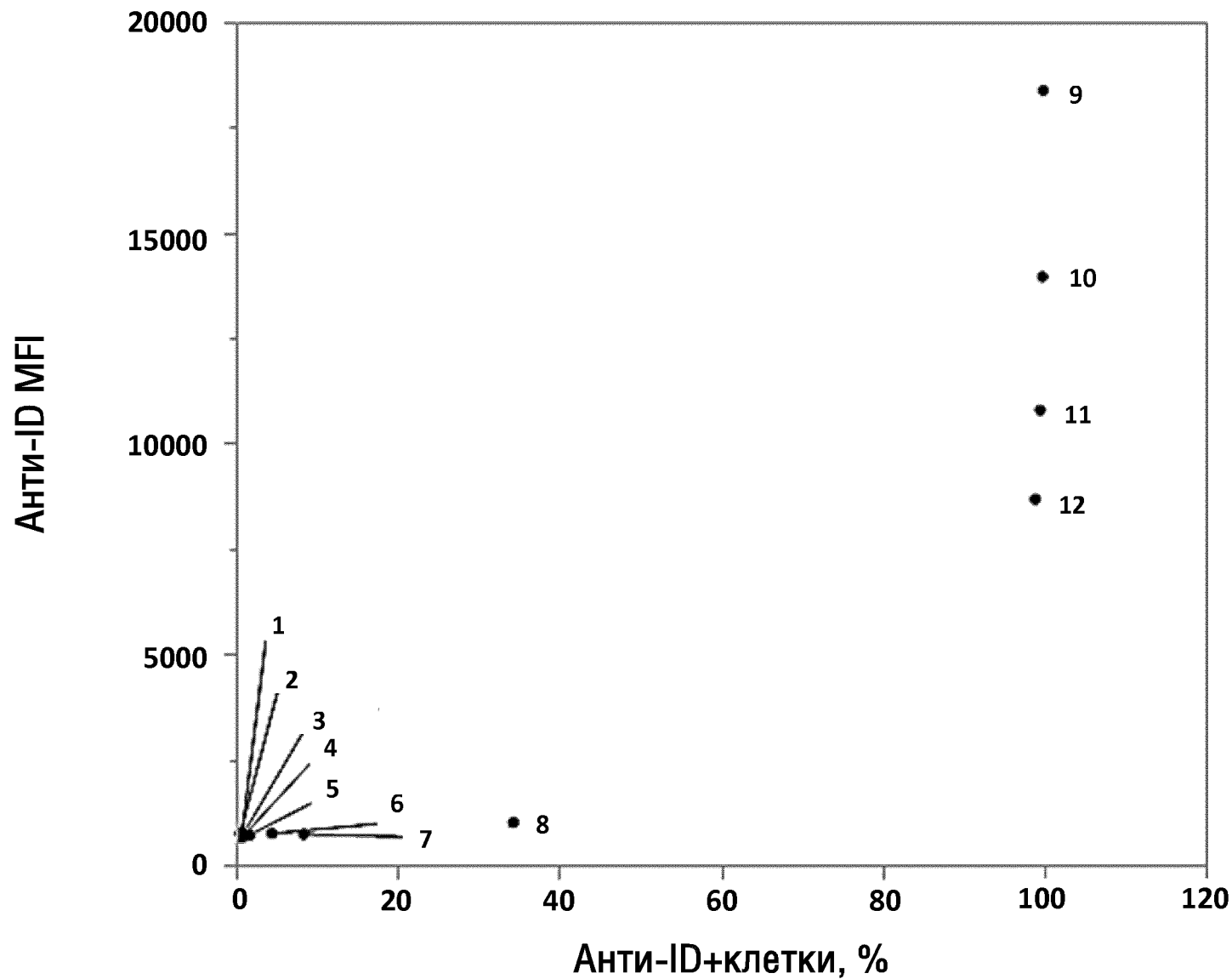
175. Готовое изделие по п. 174, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:13.

176. Готовое изделие по любому из пп. 163-172, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит VH-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:25, и VL-область, содержащую аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:26.

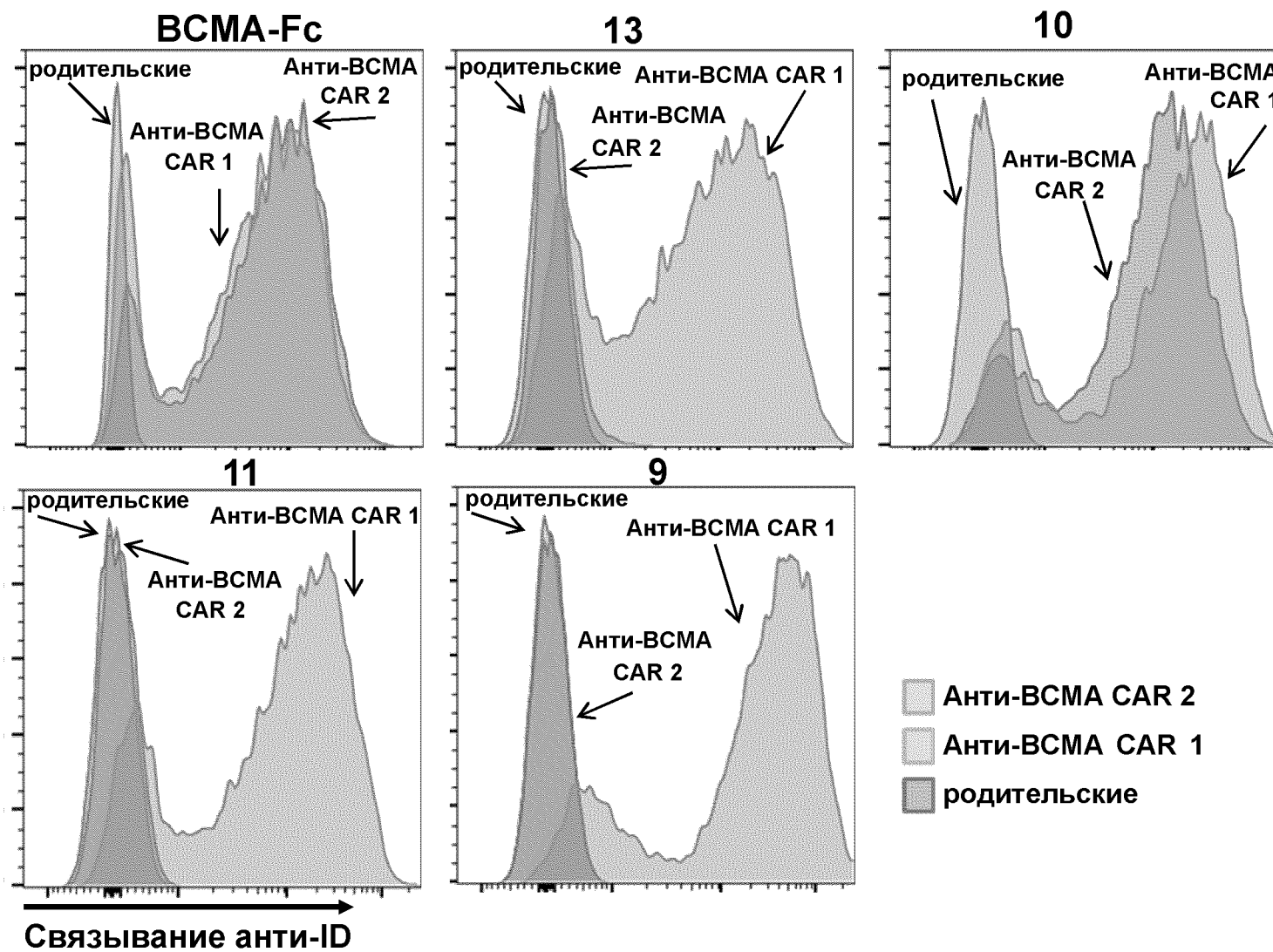
177. Готовое изделие по п. 176, где целевое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv, и VH-область и VL-область соединены гибким линкером.

178. Готовое изделие по п. 177, где гибкий линкер содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:14, и scFv содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO:27.

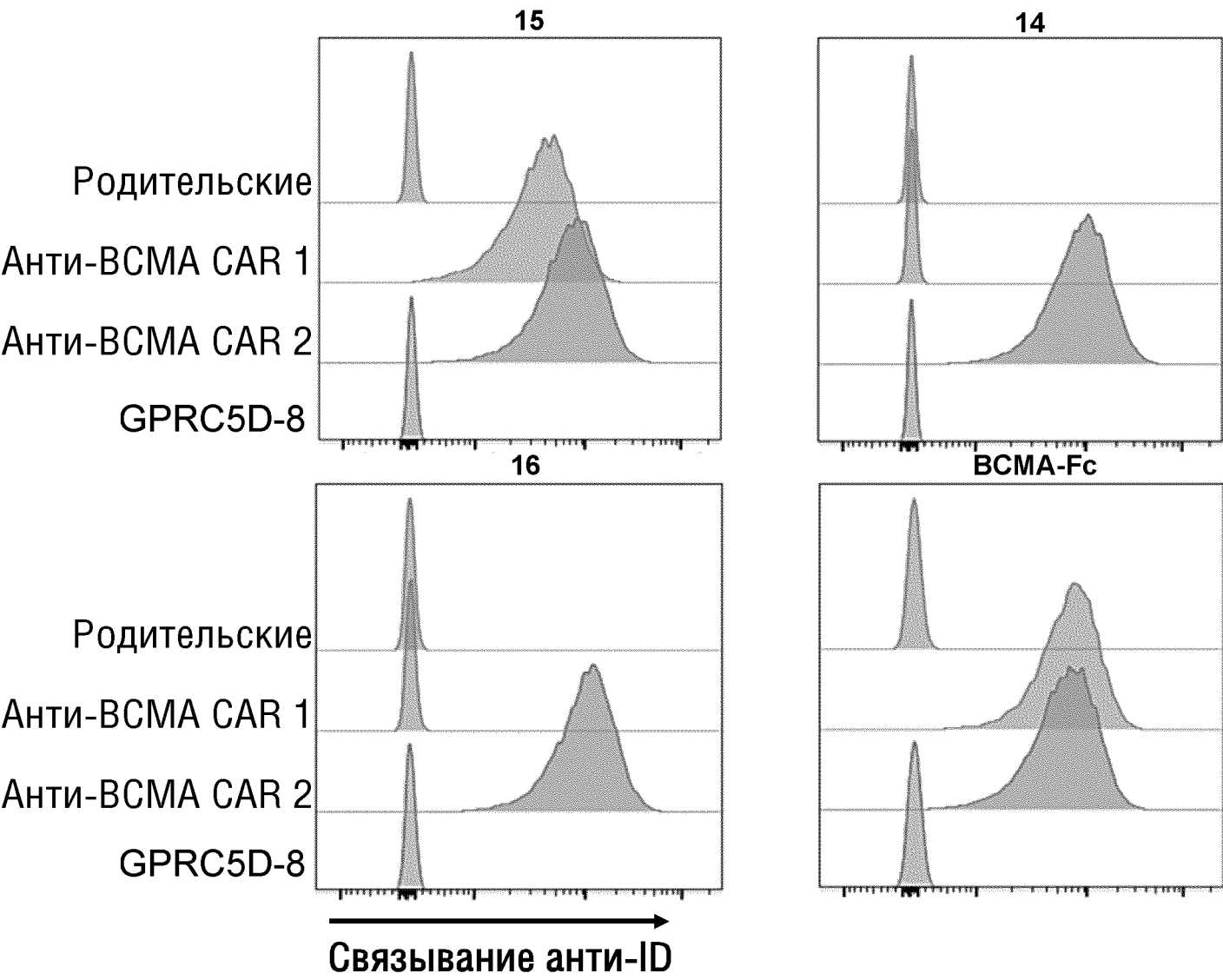
ФИГ.1



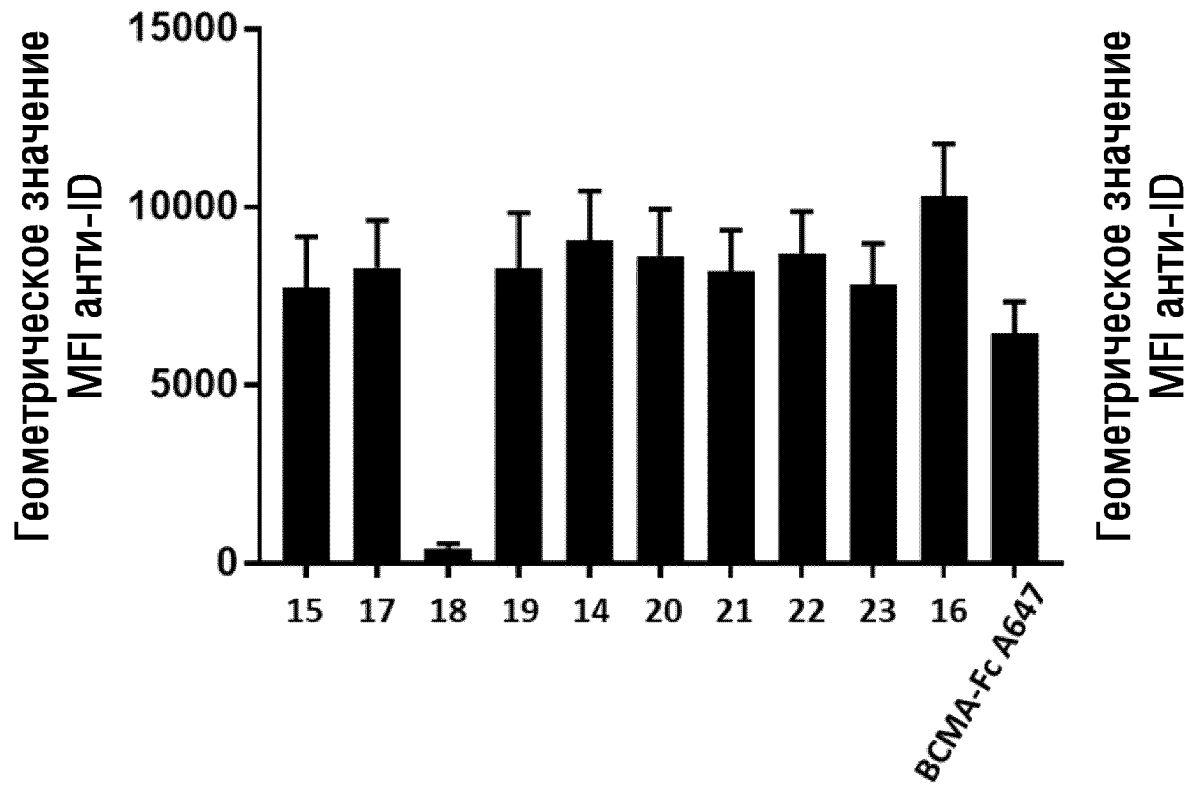
ФИГ.2



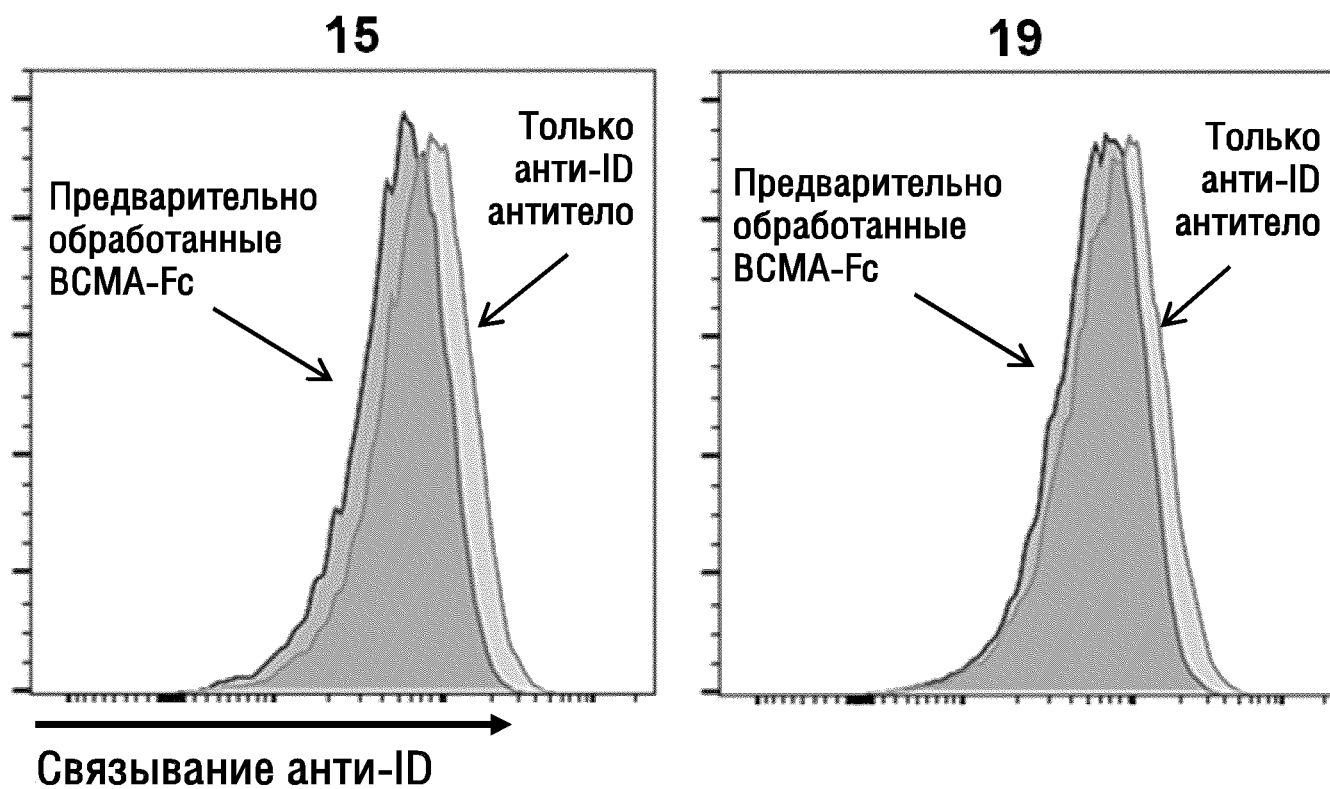
ФИГ.3А



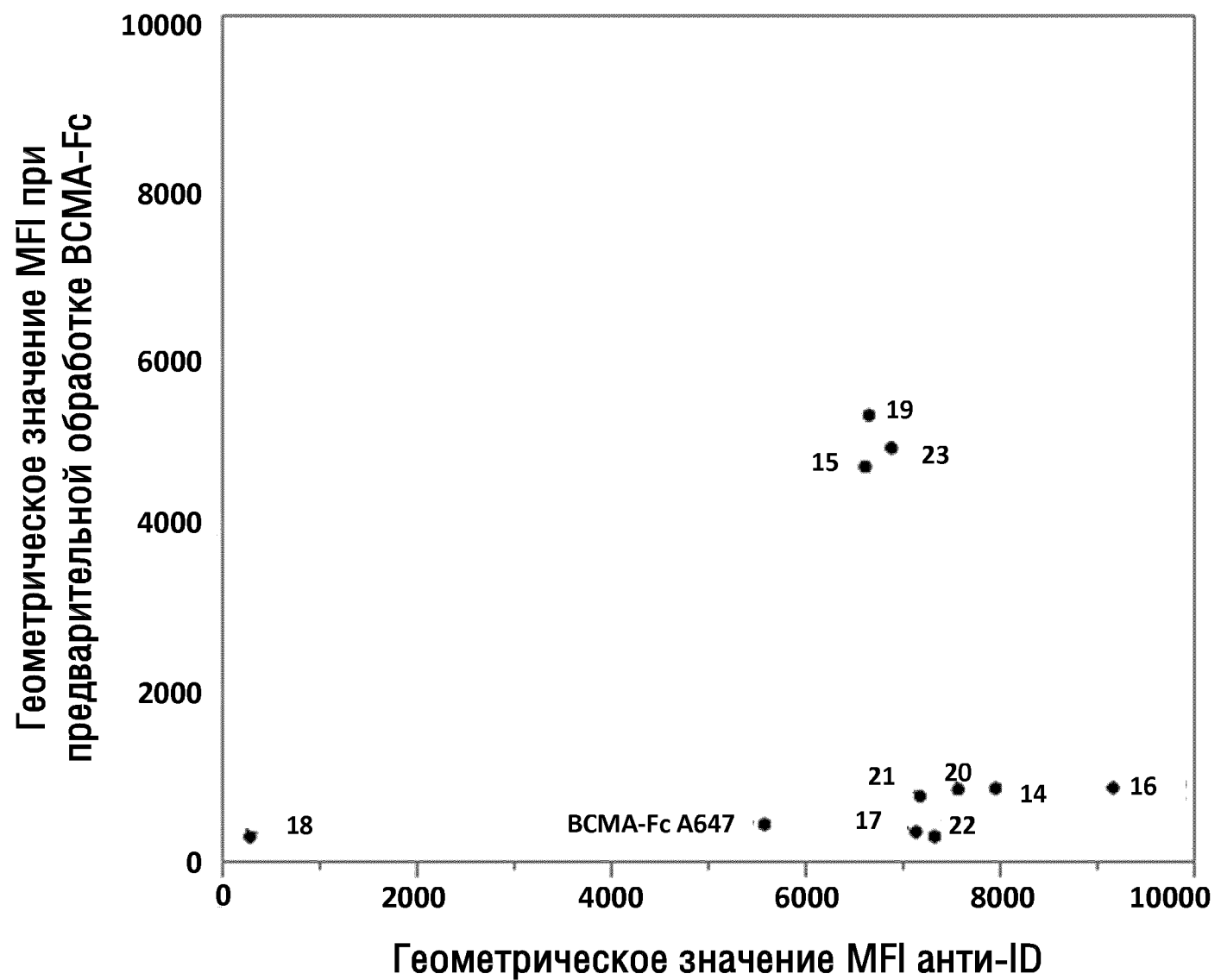
ФИГ.3В



ФИГ.4А

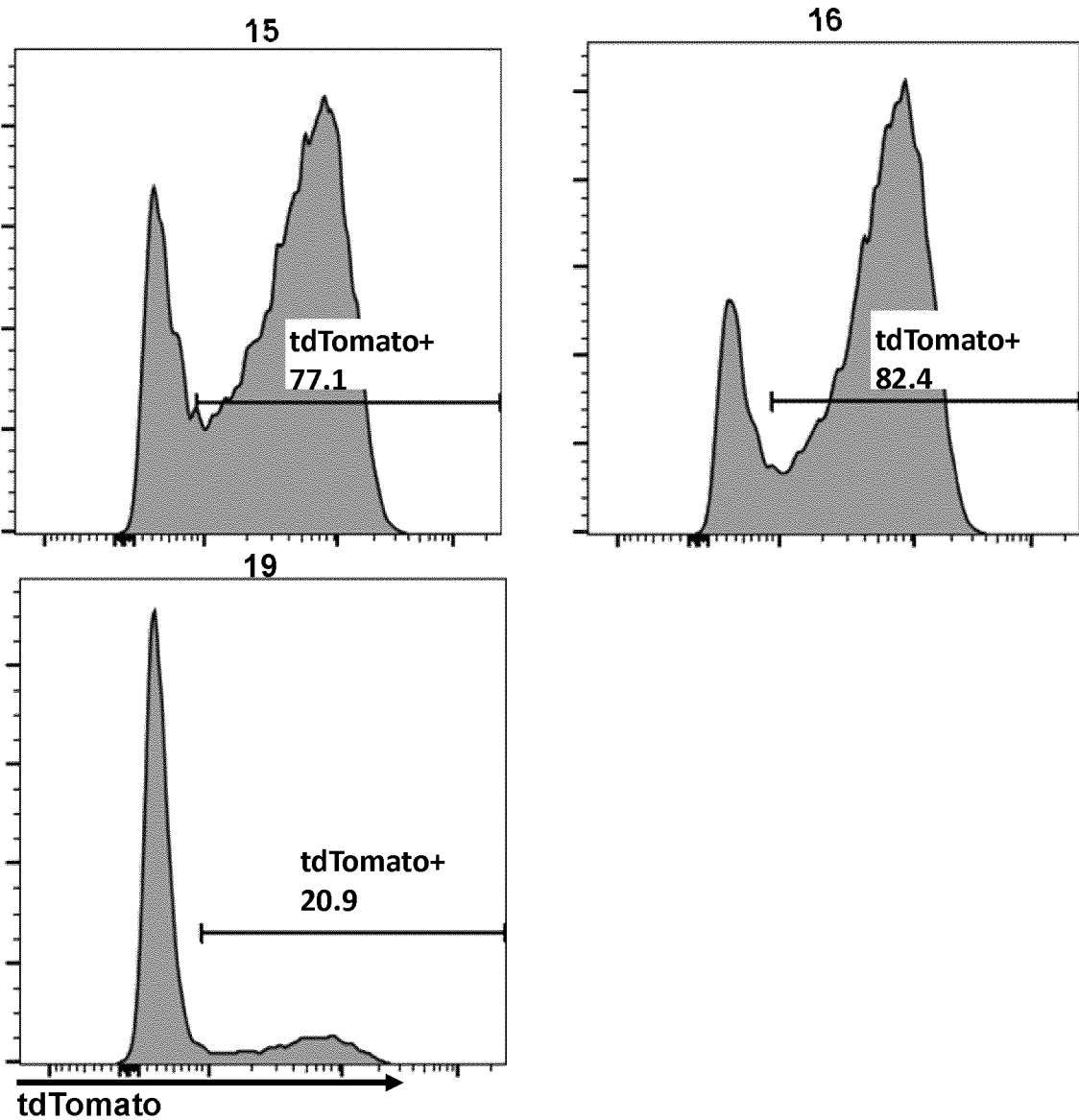


ФИГ.4В



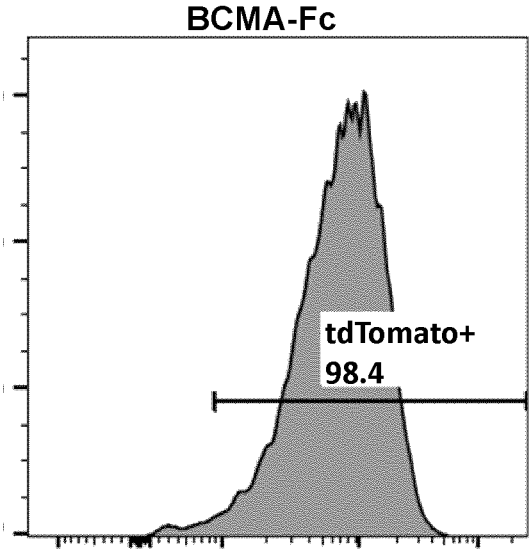
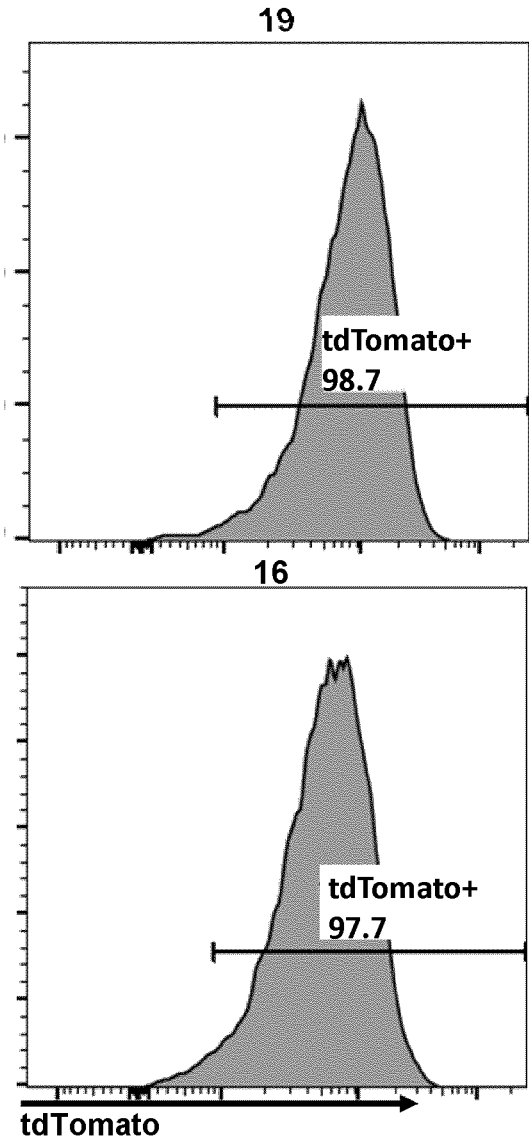
ФИГ.5А

Растворенное анти-ID

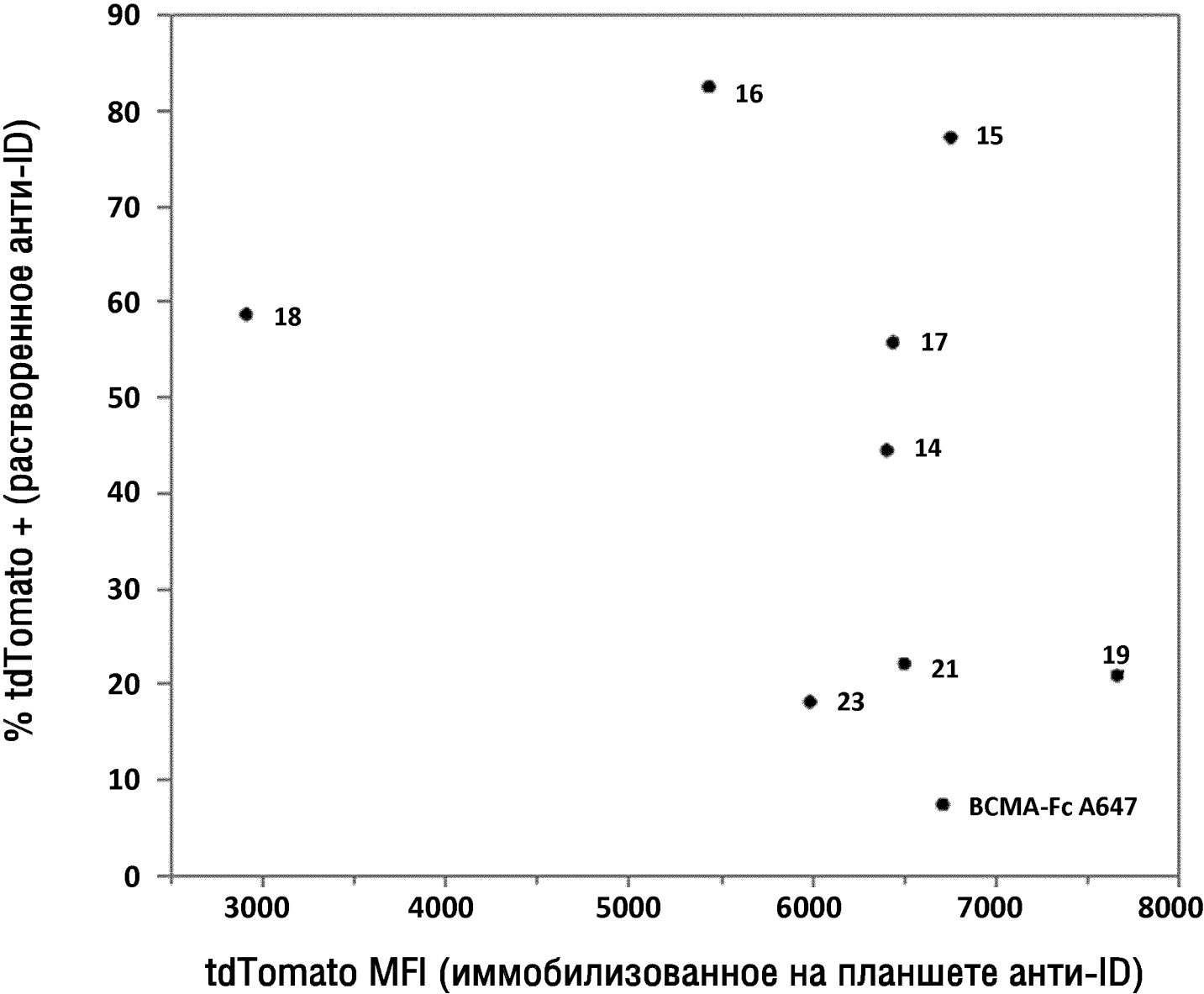


ФИГ.5В

Иммобилизованное
на планшете анти-ID



ФИГ.5С



ФИГ.6

