

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202292285** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.10.20

(22) Дата подачи заявки
2021.02.09

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

(54) АНТИТЕЛА И СЛИТЫЕ БЕЛКИ, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С CCR8, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 62/976,869; 63/130,157

(32) 2020.02.14; 2020.12.23

(33) US

(86) PCT/US2021/017268

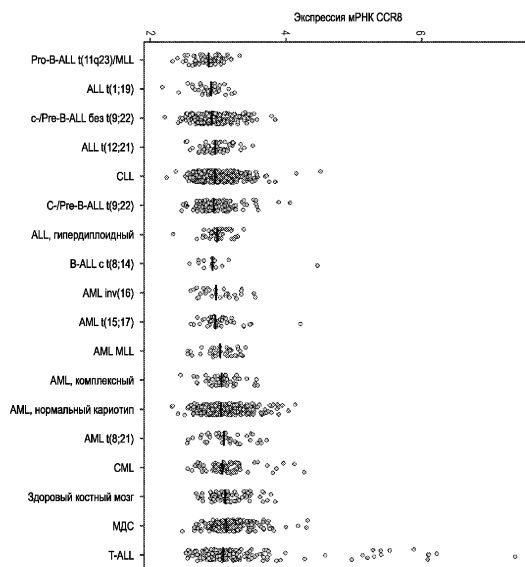
(87) WO 2021/163064 2021.08.19

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

(72) Изобретатель:
Макграт Лара Льюис, Денис Фабьен,
Ху Чаньюнь, Преста Леонард Г., Бугге
Джошуа Адам (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В настоящем документе предложены различные варианты осуществления, относящиеся к антителам и слитым белкам и их применению. Некоторые из вариантов осуществления включают антитела, которые связывают CCR8. Некоторые из вариантов осуществления включают слитые белки, которые связывают CCR8. Такие антитела и слитые белки можно применять в способах лечения, например злокачественного новообразования.



A1

202292285

202292285

A1

АНТИТЕЛА И СЛИТЫЕ БЕЛКИ, КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С CCR8, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет в соответствии с § 119(e) раздела 35 Свода законов США по предварительной заявке на патент США 62/976,869, поданной 14 февраля 2020 г., и предварительной заявке на патент США № 63/130,157, поданной 23 декабря 2020 г. Полное содержание обеих предварительных заявок включено в настоящий документ путем ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, поданный в электронном виде в формате ASCII и полностью включенный в настоящий документ путем ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 7 февраля 2021 г., называется 119835-0178_SL.txt и имеет размер 157 Кб.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Предложены антитела и слитые белки, которые связываются с CCR8. Также предложены способы лечения, включающие введение таких антител и/или слитых белков.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Хемокиновый (C–C мотив) рецептор 8 (CCR8) принадлежит к семейству сопряженных с G-белком рецепторов (GPCR). CCR8 в основном экспрессируется на опухолевых регуляторных Т-клетках (Трег), типе иммуносупрессивных клеток, обнаруживаемых в опухолевом микроокружении.

[0005] Остается потребность в антителах и слитых белках, которые связывают CCR8, для лечения злокачественного новообразования и других заболеваний и нарушений.

ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] В настоящем описании раскрыто выделенное антитело, которое связывает CCR8 человека, причем указанное антитело содержит:

- a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17;
- b) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29;
- c) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39, LCDR2, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41;

- d) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53; или
- e) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; или
- f) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0007] В настоящей заявке также описано выделенное антитело, причем указанное антитело содержит:

- a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; или
- b) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0008] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит:

- a) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 или 74, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или 75; или

- b) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92 или 96, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93 или 97.

[0009] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит:

- a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68 или 74, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69 или 75; или
- b) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92 или 96, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93 или 97.

[0010] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3.

[0011] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит:

- a) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или 76, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или 77; или
- b) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94 или 98, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 95 или 99.

[0012] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70 или 76, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71 или 77; или тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94 или 98, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95 или 99.

[0013] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает уничтожение клеток. В некоторых вариантах осуществления усиленное уничтожение клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой афукозилирование. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой одну или более мутаций константных областей тяжелой цепи в одном или более положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298,

Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций константной области тяжелой цепи представляют собой одну или более мутаций, выбранных из S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций константной области тяжелой цепи выбраны из: F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, S298A/E333A/K334A, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A и D270E/K326D/A330M/K334E. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой галактозилирование.

[0014] В некоторых вариантах осуществления антитело связывает CCR8 человека с аффинностью (K_D) (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (например, KinExA)) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее 100 пМ, или менее 75 пМ, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает CCR8 человека с аффинностью на клетке (K_D) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее более 100 пМ, или менее 75, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ, как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA).

[0015] В настоящем описании также описана выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит выделенную нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит нуклеиновую кислоту или вектор. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин экспрессирует антитело. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин сконструирована для получения афукозилированных антител.

[0016] В некоторых вариантах осуществления способ получения антитела, которое связывает CCR8, включает культивирование клетки-хозяина в условиях, подходящих для экспрессии антитела. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выделение антитела.

[0017] В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит (a) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc. В некоторых вариантах осуществления область Fc представляет собой область Fc IgG1 или IgG3. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

[0018] В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает гибель клеток. В некоторых вариантах осуществления усиленное уничтожение клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой афукозилирование. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой одну или более мутаций области Fc в одном или более положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298, Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций области Fc представляют собой одну или более мутаций, выбранных из S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций области Fc выбраны из: F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, S298A/E333A/K334A, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A и D270E/K326D/A330M/K334E. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой галактозилирование. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит CCL1 или его активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления CCL1 или его активный фрагмент

содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или аминокислоты 24–96 SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или аминокислоты 24–316 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит MC148 или его активный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления MC148 или его активный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5.

[0019] В некоторых вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота кодирует слитый белок. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит выделенную нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит нуклеиновую кислоту или вектор. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин экспрессирует слитый белок. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин сконструирована для получения афукозилированных антител.

[0020] В некоторых вариантах осуществления способ получения слитого белка включает культивирование клетки-хозяина в условиях, подходящих для экспрессии слитого белка. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает выделение слитого белка.

[0021] В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования включает введение субъекту со злокачественным новообразованием эффективного количества антитела, предложенного в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования включает введение субъекту со злокачественным новообразованием эффективного количества слитого белка, представленного в настоящем документе, который связывается с CCR8.

[0022] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование включает инфильтрирующие опухоль регуляторные Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование содержит клетки, экспрессирующие CCR8 (как определено, например, с помощью иммуногистохимии, сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), анализ экспрессии генов (такой как кПЦР или ОТ-ПЦР), вестерн-блоттинг, ИФА и т. д.). В некоторых вариантах осуществления клетки, которые экспрессируют CCR8, представляют собой регуляторные Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления регуляторные Т-клетки представляют собой субпопуляцию Т-клеток, которые являются иммуносупрессорными и по существу подавляют или снижают индукцию и пролиферацию эффекторных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления регуляторные Т-клетки экспрессируют CD4, FOXP3 и CD25 (α -цепь рецептора IL-2). В некоторых вариантах осуществления CCR8 экспрессируется на поверхности регуляторных Т-клеток в количестве менее 10 000 копий на клетку, что можно определить, например, с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) и проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег экспрессируют на поверхности клетки менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег в образце, полученном из опухоли, экспрессируют менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы).

[0023] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование содержит клетки, экспрессирующие CCR8 (как определено, например, с помощью иммуногистохимии, сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), анализ экспрессии генов (такой как кПЦР или ОТ-ПЦР), вестерн-блоттинг, ИФА и т. д.). В некоторых вариантах осуществления клетки, экспрессирующие CCR8, представляют собой регуляторные Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления регуляторные Т-клетки представляют собой субпопуляцию Т-клеток, которые являются иммуносупрессорными и по существу подавляют или снижают индукцию и пролиферацию эффекторных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления регуляторные Т-клетки экспрессируют CD4, FOXP3 и CD25 (α -цепь рецептора IL-2). В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой солидное злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы). В некоторых вариантах осуществления способ лечения солидного злокачественного новообразования включает введение субъекту с солидным злокачественным новообразованием эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует связывание CCL1 с CCR8. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз. В некоторых вариантах осуществления способ лечения гемобластоза включает введение субъекту с гемобластозом эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует связывание CCL1 с CCR8. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз экспрессирует CCR8. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал лечение ингибитором контрольной точки (CPI) и, необязательно, при этом злокачественное новообразование было резистентно к CPI. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI). В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.

[0024] В некоторых вариантах осуществления способ выбора субъекта с солидным злокачественным новообразованием для лечения антителом, которое связывает CCR8 человека, включает определение экспрессии CCR8 в образце от субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека.

[0025] В некоторых вариантах осуществления способ выбора субъекта с гемобластозом для лечения антителом, которое связывает CCR8 человека, включает определение экспрессии CCR8 в образце от субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека.

[0026] В некоторых вариантах осуществления способ лечения гемобластоза включает введение субъекту с гемобластозом эффективного количества слитого белка, обеспеченного в настоящем документе, который связывается с CCR8. В некоторых вариантах осуществления способ выбора субъекта с гемобластозом для

лечения слитым белком, содержащим (а) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc, включает определение экспрессии CCR8 в образце от субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение эффективного количества слитого белка, содержащего (а) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому.

[0027] В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу, которое связывает CCR8 человека, причем указанное антитело содержит HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 86, или вариант SEQ ID NO: 86, содержащий 1, 2 или 3 мутации, и при этом антитело связывается с CCR8 человека и имеет активность ADCC. В некоторых вариантах осуществления мутация представляет собой замену (например, консервативную и/или неконсервативную замену), делецию или вставку. В некоторых вариантах осуществления 1, 2 или 3 мутации расположены в по меньшей мере одном из аминокислотных положений 1–4, 6, 7 или 12 в SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления замена представляет собой консервативную замену. В некоторых вариантах осуществления консервативная замена находится в аминокислотном положении 1, 4 или 12 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления замена представляет собой неконсервативную замену. В некоторых вариантах осуществления неконсервативная замена находится в аминокислотном положении 7 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере 2 замены в HCDR3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 замены расположены в по меньшей мере одном из аминокислотных положений 1–4, 6, 7 или 12 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 замены представляют собой консервативные замены. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из консервативных замен находится в аминокислотном положении 1, 4 или 12 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 замены представляют собой неконсервативные замены. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из неконсервативных замен находится в аминокислотном положении 7 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления мутации включают консервативную замену и неконсервативную замену, когда присутствует более одной мутации по типу замены. В другом аспекте настоящее изобретение относится к выделенному антителу, которое связывает CCR8 человека, причем антитело содержит HCDR3, которая имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с SEQ ID NO: 86, и при этом антитело связывается с CCR8 человека и имеет активность ADCC. В некоторых вариантах осуществления HCDR3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 86 и любой из SEQ ID NO: 104–119. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 84 или SEQ ID NO: 123. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 85 или SEQ ID NO: 124. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 87 или SEQ ID NO: 120. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 88 или SEQ ID NO: 121. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 89 или SEQ ID NO: 122. В некоторых вариантах осуществления активность ADCC включает значение EC50 менее 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 нг/мл при измерении с помощью репортерного биоанализа на основе механизма действия ADCC (MOA).

В некоторых вариантах осуществления активность ADCC является более сильной, чем активность антитела 7-B16. В некоторых вариантах осуществления активность ADCC по меньшей мере такая же, как у антитела 7-B16. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет K_D для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16 (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA)). В некоторых вариантах осуществления антитело имеет K_D на клетке для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16 (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA)). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает уничтожение клеток. В некоторых вариантах осуществления усиленное уничтожение клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой афукозилирование. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой одну или более мутаций константных областей тяжелой цепи в одном или более положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298, Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций константной области тяжелой цепи представляют собой одну или более мутаций, выбранных из S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций константной области тяжелой цепи выбраны из: F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, S298A/E333A/K334A, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A и D270E/K326D/A330M/K334E. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой галактозилирование. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает CCR8 человека с аффинностью (K_D) (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA)) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее 100 пМ, или менее 75 пМ, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает CCR8 человека с аффинностью на клетке (K_D) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее более 100 пМ, или менее 75, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ, как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3.

[0028] В описании также предложены выделенные антитела или слитые белки по любому из аспектов или вариантов осуществления, описанных в настоящем документе, для лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидное злокачественное новообразование / солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления при злокачественном новообразовании экспрессируется CCR8. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников,

рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы). В некоторых вариантах осуществления способ лечения может дополнительно включать введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов (например, других противораковых агентов). В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из антитела к Trog-2 (например, сацитузумаба говитекана, SKB-264, JS-108 (DAC-002), датопотамаба дерукстекана, BAT-8003), антитела к CD47 или блокатора CD47 (например, магролимаба, DSP-107, AO-176, ALX-148, IBI-188, лемзопарлимаба, TTI-621, TTI-622), антитела к SIRPα (например, GS-0189), слитого белка FLT3L-Fc (например, GS-3583), антитела к PD-1 (пембролизумаба, ниволумаба, зимберелимаба), низкомолекулярного ингибитора PD-L1 (например, GS-4224), антитела к PD-L1 (например, атезолизумаба), низкомолекулярного ингибитора MCL1 (например, GS-9716), низкомолекулярного ингибитора HPK1 (например, GS-6451), деструктора HPK1 (PROTAC; например ARV-766), низкомолекулярного ингибитора DGKa, низкомолекулярного ингибитора CD73 (например, AB680), антитела к CD73 (например, олеклумаба), двойного антагониста аденозиновых рецепторов A_{2a}/A_{2b} (например, этрумаденанта (AB928)), антитела к TIGIT (например, тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308), антитела к TREM1 (например, PY159), антитела к TREM2 (например, PY314), ловушки TGFβ (например, бинтрафуспа альфа, AGEN-1423), антитела к TGFβ1 (например, SRK-181) и препарата на основе CAR-T-клеток (например, аксикабтагена цилолейцела, брексукабтагена аутолейцела, тисагенлеклейсела). В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из сацитузумаба говитекан-хзия, магролимаба, GS-0189, GS-3583, зимберелимаба, GS-4224, GS-9716, GS-6451, AB680, этрумаденанта (AB928), домваналимаба, AB308, PY159, PY314, SRK-181, аксикабтагена цилолейцела и брексукабтагена аутолейцела. В некоторых вариантах осуществления введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляется одновременно с введением антитела, тогда как в некоторых вариантах осуществления введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляется до или после введения антитела. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI). В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелимуаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.

[0029] В описании также предложена нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из аспектов или вариантов осуществления, описанных в настоящем документе.

[0030] В описании также предложен способ лечения злокачественного новообразования, включающий введение субъекту со злокачественным новообразованием антитела в соответствии с любым из аспектов или вариантов осуществления, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидное злокачественное новообразование / солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления при злокачественном новообразовании экспрессируется CCR8. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный

острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы). В некоторых вариантах осуществления способ лечения может дополнительно включать введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов (например, других противораковых агентов). В некоторых вариантах осуществления введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляется одновременно с введением антитела, тогда как в некоторых вариантах осуществления введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляется до или после введения антитела. В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов выбрано из антитела к Троп-2 (например, сацитузумаба говитекана, SKB-264, JS-108 (DAC-002), датопотамаба дерукстекана, BAT-8003), антитела к CD47 или блокатора CD47 (например, магролимаба, DSP-107, AO-176, ALX-148, IBI-188, лемзопарлимаба, TTI-621, TTI-622), антитела к SIRPα (например, GS-0189), слитого белка FLT3L-Fc (например, GS-3583), антитела к PD-1 (пембролизумаба, ниволумаба, зимберелимаба), низкомолекулярного ингибитора PD-L1 (например, GS-4224), антитела к PD-L1 (например, атезолизумаба), низкомолекулярного ингибитора MCL1 (например, GS-9716), низкомолекулярного ингибитора HPK1 (например, GS-6451), деструктора HPK1 (PROTAC; например ARV-766), низкомолекулярного ингибитора DGKa, низкомолекулярного ингибитора CD73 (например, AB680), антитела к CD73 (например, олеклумаба), двойного антагониста аденозиновых рецепторов A_{2a}/A_{2b} (например, этрумаденанта (AB928)), антитела к TIGIT (например, тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308), антитела к TREM1 (например, PY159), антитела к TREM2 (например, PY314), ловушки TGFβ (например, бинтрафуспа альфа, AGEN-1423), антитела к TGFβ1 (например, SRK-181) и препарата на основе CAR-Т-клеток (например, аксикабтагена циклолейцела, брексукабтагена аутолейцела, тисагенлеклейсела). В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из сацитузумаба говитекан-хэзия, магролимаба, GS-0189, GS-3583, зимберелимаба, GS-4224, GS-9716, GS-6451, AB680, этрумаденанта (AB928), домваналимаба, AB308, PY159, PY314, SRK-181, аксикабтагена циклолейцела и брексукабтагена аутолейцела.

[0031] В описании также предложено применение лечения злокачественного новообразования, включающее введение субъекту со злокачественным новообразованием антитела в соответствии с любым из аспектов или вариантов осуществления, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидное злокачественное новообразование / солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления при злокачественном новообразовании экспрессируется CCR8. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы). В некоторых вариантах

осуществления способ лечения может дополнительно включать введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов (например, других противораковых агентов). В некоторых вариантах осуществления введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляется одновременно с введением антитела, тогда как в некоторых вариантах осуществления введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляется до или после введения антитела. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI). В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-rwlc и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелимумаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.

[0032] В описании также предложен способ лечения рефрактерного злокачественного новообразования или злокачественного новообразования, резистентного к ингибитору контрольной точки (CPI), включающий введение субъекту со злокачественным новообразованием выделенного антитела в соответствии с любым из предыдущих аспектов или вариантов осуществления или слитого белка в соответствии с любым из вышеизложенных аспектов или вариантов осуществления, причем субъекта ранее лечили химиотерапией или терапией CPI без ответа на химиотерапию или терапию CPI. В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-rwlc и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелимумаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидное злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления при злокачественном новообразовании экспрессируется CCR8. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы (например, трижды негативный рак молочной железы). В некоторых вариантах осуществления способы могут дополнительно включать введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов выбрано из антитела к Tgor-2 (например, сацитумаба говитекана, SKB-264, JS-108 (DAC-002), датопотамаба дерукстекана, BAT-8003), антитела к CD47 или блокатора CD47 (например, магролимаба, DSP-107, AO-176, ALX-148, IBI-188, лемзопарлимаба, TTI-621, TTI-622), антитела к SIRPα (например, GS-0189), слитого белка FLT3L-Fc (например, GS-3583), антитела к PD-1 (пембролизумаба, ниволумаба, зимберелимаба), низкомолекулярного ингибитора PD-L1 (например, GS-4224), антитела к PD-L1 (например, атезолизумаба), низкомолекулярного ингибитора MCL1 (например, GS-9716), низкомолекулярного

ингибитора HPK1 (например, GS-6451), деструктора HPK1 (PROTAC; например ARV-766), низкомолекулярного ингибитора DGKa, низкомолекулярного ингибитора CD73 (например, AB680), антитела к CD73 (например, олеклумаба), двойного антагониста аденозиновых рецепторов A_{2a}/A_{2b} (например, этрумаденанта (AB928)), антитела к TIGIT (например, тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308), антитела к TREM1 (например, PY159), антитела к TREM2 (например, PY314), ловушки TGFβ (например, бинтрафуспа альфа, AGEN-1423), антитела к TGFβ1 (например, SRK-181) и препарата на основе CAR-T-клеток (например, аксикабтагена цилолейцела, брексукабтагена аутолейцела, тисагенлеклейсела). В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из сацитузумаба говитекан-хзия, магролимаба, GS-0189, GS-3583, зимберелимаба, GS-4224, GS-9716, GS-6451, AB680, этрумаденанта (AB928), домваналимаба, AB308, PY159, PY314, SRK-181, аксикабтагена цилолейцела и брексукабтагена аутолейцела. В некоторых вариантах осуществления введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляется одновременно с введением антитела. В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов вводят до или после введения антитела.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0033] На Фиг. 1 показан график рассеяния уровней экспрессии мРНК CCR8, определенных с помощью микроматричного анализа. По оси y указана экспрессия гена CCR8, измеренная по интенсивности флуоресценции (AU). На оси x представлены подтипы лейкемии или нормальный костный мозг. Для каждой группы на оси x прямая линия представляет средний уровень экспрессии CCR8 для этого подтипа лейкемии. Приведенные подтипы лейкемии включают острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), Т-клеточный острый лимфолейкоз (TALL), В-клеточный острый лимфолейкоз (BALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелоидный лейкоз (CML), миелодиспластические синдромы (MDS).

[0034] На Фиг. 2 показана диаграмма размаха, демонстрирующая уровни экспрессии мРНК CCR8, определенные с помощью секвенирования РНК. По оси y указана экспрессия гена CCR8, измеренная по логарифмически преобразованному количеству транскриптов на миллион (TPM). На оси x указаны подтипы лимфомы, подтипы лейкемии или нормальная кровь или ткань.

[0035] На Фиг. 3А и 3В показано, что инфильтрирующие опухоль Трег (TIL) человека, преимущественно экспрессируют CCR8, но с низким количеством рецепторов в пересчете на клетку. Показаны иллюстративные графики для проточной цитометрии (гейтированные по опухолевым CD4⁺ Т-клеткам) (А) и количественные графики (В).

[0036] На Фиг. 4А–4В показано связывание моноклональных антител к CCR8 с клетками CHO-S, экспрессирующими CCR8 человека (А), и клетками CHO-S, экспрессирующими CCR4 (В).

[0037] На Фиг. 5 показана антагонистическая активность химерных антител к CCR8 с помощью анализа DiscoverX (Eurofins).

[0038] На Фиг. 6 показана антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC) некоторых химерных антител к CCR8 с помощью репортерного биоанализа ADCC (Promega).

[0039] На Фиг. 7А–7В показано, что афукозилирование антител IgG1 к CCR8 человека необходимо для уничтожения клеток-мишеней, которые экспрессируют низкие уровни CCR8. Кратность изменения репортерной активности ADCC версий титрованного IgG1 человека (А) и афукозилированного IgG1 человека

(В) клона 1K17 к CCR8 человека. Клетки-мишени CHO экспрессировали 300 000 (черный закрашенный кружок) или 10 000 (белый закрашенный кружок) молекул CCR8 человека клеточной поверхности на клетку.

[0040] На Фиг. 8А–8С показано, что эффекторная функция Fc мкАт к CCR8 мыши необходима для эффективного уничтожения *in vivo* инфильтрирующей опухоли (TIL) Трег. Fc-компетентное (мышиный IgG2a, белый закрашенный кружок) антитело mIgG2a к CCR8 мыши вызывало истощение TIL Трег *in vivo* в сингенной модели MC38 у мышей, в то время как Fc-некомпетентное (мышиный IgG1, черный закрашенный кружок) антитело mIgG1 к CCR8 мыши не вызывало это. На иллюстративных графиках для проточной цитометрии (гейтированные по опухолевым CD4+ Т-клеткам) (А) и количественных графиках (В и С) показана частота TIL Трег через три дня после инъекции 200 мкг указанных антител (n=4).

[0041] На Фиг. 9А–9В показано, что Fc-компетентное (мышиный IgG2a, белый закрашенный кружок) антитело mIgG2a к CCR8 мыши снижает рост опухоли (А) и увеличивает выживаемость (В) в сингенной мышиной модели MC38, в то время как Fc-некомпетентное (мышиный IgG1, черный закрашенный кружок) антитело mIgG1 к CCR8 мыши не вызывало это. Кривые роста опухоли (А) и кривые выживаемости мышей MC38 (В) показаны после терапевтического лечения изотипическим контролем, Fc-компетентным (мышиным IgG2a) или Fc-некомпетентным (мышиным IgG1) антителом к CCR8 мыши (n=10–15).

[0042] На Фиг. 10 показана экспрессия мРНК CCR8 при различных гематологических злокачественных новообразованиях по сравнению с нормальной здоровой кровью. * указывает на типы злокачественных новообразований с *p*-значением с поправкой FDR < 0,05. N указывает на количество образцов для типа злокачественного новообразования. Приведенные злокачественные новообразования включают острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфолейкоз (CLL), диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), хронический миелоидный лейкоз (CML), мантийно-клеточную лимфому (MCL), ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому (ATCL), гепатолиенальную Т-клеточную лимфому (HTCL), периферическую Т-клеточную лимфому без дополнительных уточнений (PTCL NOS), лимфому Беркитта (BL), Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых (ATLL), анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL), хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML), фолликулярную лимфому (FL), Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому (TLL), экстранодальную NK/Т-клеточную лимфому (NKTCL), первичную выпотную лимфому (PEL), острый лимфоцитарный лейкоз/острый миелоидный лейкоз (ALL, AML), гистиоцитарную лимфому (HL), кожную Т-клеточную лимфому (CTCL) и лимфому маргинальной зоны (MZL).

[0043] На Фиг. 11 показана антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC) вариантов CDR НЗ химерного антитела 7-B16 к CCR8 с помощью репортерного биоанализа ADCC (Promega).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0044] Предложены антитела, которые связывают CCR8. Также предложены тяжелые цепи и легкие цепи антител, которые способны образовывать антитела, связывающие CCR8. Кроме того, предложены антитела, тяжелые цепи и легкие цепи, содержащие одну или более конкретных областей, определяющих комплементарность (CDR). Предложены полинуклеотиды, кодирующие антитела к CCR8. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие тяжелые цепи или легкие цепи антител. Предлагаются способы получения и/или очистки антител к CCR8. Также предложены слитые белки, содержащие CCL1 или MC148 и область Fc. Также предложены полинуклеотиды, кодирующие такие слитые белки. Предложены способы получения и/или очистки слитых белков. Предложены способы лечения с помощью антител и/или слитых белков. Такие способы включают, без ограничения, способы лечения рака. Предложены способы

обнаружения CCR8. Такие способы включают способы идентификации индивидуума, который может получить пользу от лечения антителом или слитым белком, предложенным в настоящем документе, для мониторинга лечения индивидуума антителом или слитым белком, предложенным в настоящем документе, и для улучшения терапевтической эффективности антитела или слитого белка, предложенного в настоящем документе, у индивидуума.

[0045] Заголовки разделов, используемые в настоящем документе, предназначены только для организационных целей и не должны рассматриваться как ограничивающие заявленный объект.

[0046] Все ссылки, приведенные в настоящем документе, включая патентные заявки, патентные публикации и учетные номера базы данных Genbank, включены в настоящий документ путем ссылки, как если бы каждая отдельная ссылка была специально и индивидуально указана для включения путем ссылки во всей ее полноте.

[0047] Методы и процедуры, описанные или упомянутые в настоящем документе, по существу хорошо понятны и, как правило, применяются с помощью обычной методологии специалистами в данной области, как, например, широко применяемые методологии, описанные в Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd. edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, *et al. eds.*, (2003)); серии METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.); PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames и G. R. Taylor *eds.* (1995)), Harlow and Lane, *eds.* (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL, and ANIMAL CELL CULTURE (R. I. Freshney, *ed.* (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, *ed.*, 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, *ed.*, 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney), *ed.*, 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, *eds.*, 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, *eds.*); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, *eds.*, 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis *et al.*, *eds.*, 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan *et al.*, *eds.*, 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty, *ed.*, IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, *eds.*, Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, *eds.*, Harwood Academic Publishers, 1995); и Cancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita *et al.*, *eds.*, J.B. Lippincott Company, 1993); и их обновленные версии.

I. Определения

[0048] Если не указано иное, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим описанием, имеют значения, которые традиционно подразумеваются специалистами обычной квалификации в данной области. Кроме того, если контекст не требует иного или явно не указано, термины в единственном числе включают множественное число, а термины во множественном числе включают единственное число. В случае любого противоречия в определениях между различными источниками или ссылками, преимущественную силу будет иметь определение, предоставленное в настоящем документе.

[0049] Понятно, что варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в настоящем документе, включают «состоящий» и/или «состоящий по существу из» вариантов осуществления. В контексте настоящего документа слова в единственном числе означают также и множественное число, если

не указано иное. Использование термина «или» в настоящем документе не означает, что альтернативные варианты являются взаимоисключающими.

[0050] В настоящей заявке использование «или» означает «и/или», если это явно не оговорено и не подразумевается специалистом в данной области. В контексте пункта патентной формулы, зависящего от другого зависимого пункта, использование «или» относится к более чем одному предшествующему независимому или зависимому пункту формулы изобретения.

[0051] Как понятно специалисту в данной области, ссылка на «около» в отношении значения или параметра в настоящем документе включает (и описывает) варианты осуществления, которые относятся к этому значению или параметру как таковым. Например, описание, относящееся к «около X», включает описание «X».

[0052] Термины «молекула нуклеиновой кислоты», «нуклеиновая кислота» и «полинуклеотид» могут использоваться взаимозаменяемо и относятся к полимеру нуклеотидов. Такие полимеры нуклеотидов могут включать природные и/или неприродные нуклеотиды и включать, без ограничения, ДНК, РНК и ПНК. «Нуклеотидная последовательность» относится к линейной последовательности нуклеотидов, которые содержат молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

[0053] Термины «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Такие полимеры аминокислотных остатков могут содержать природные или не встречающиеся в природе аминокислотные остатки и включают, без ограничения, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры аминокислотных остатков. В это определение включены как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Термины также включают модификации полипептида после экспрессии, например гликозилирование, сиамирование, ацетилирование, фосфорилирование и т. п. Кроме того, для целей настоящего описания термин «полипептид» относится к белку, который включает модификации, такие как делеции, добавления и замены (по существу консервативные по природе), в нативной последовательности, при условии, что белок поддерживает требуемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, путем сайт-направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, в результате мутаций хозяев, которые продуцируют белки, или ошибок вследствие ПЦР-амплификации.

[0054] «CCR8» и «С-С хемокиновый рецептор типа 8» и «хемокиновый рецептор 8», используемые в настоящем документе, относятся к любому нативному CCR8, полученному в результате экспрессии и процессинга CCR8 в клетке. Термин включает CCR8 из любого источника позвоночных, включая млекопитающих, например приматов (например, людей и яванских макаков) и грызунов (например, мышей и крыс), если не указано иное. Термин также включает встречающиеся в природе варианты CCR8, например, сплайс-варианты или аллельные варианты. Аминокислотная последовательность иллюстративного белка CCR8 человека показана в SEQ ID NO: 101 (идентификатор UniProt P51685). Аминокислотная последовательность иллюстративного белка CCR8 мыши показана в SEQ ID NO: 102 (идентификатор UniProt P56484). Аминокислотная последовательность иллюстративного белка CCR8 яванского макака показана в SEQ ID NO: 103 (идентификатор UniProt G7NYJ2).

[0055] «CCL1» и «С-С-мотив-хемокин 1», используемые в настоящем документе, относятся к любому нативному CCR1, полученному в результате экспрессии и процессинга CCR1 в клетке. Термин включает CCR1 из любого источника позвоночных, включая млекопитающих, например приматов (например, людей и яванских макаков) и грызунов (например, мышей и крыс), если не указано иное. Термин также включает встречающиеся в природе варианты CCR1, например сплайс-варианты или аллельные варианты.

Аминокислотная последовательность иллюстративного белка CCR1 человека показана в SEQ ID NO: 2 (идентификатор UniProt P22362.1). Иллюстративный зрелый белок CCR1 содержит аминокислоты 24–96 SEQ ID NO: 2.

[0056] «MC148», используемый в настоящем документе, относится к любому нативному MC148, полученному в результате экспрессии и процессинга MC148 в клетке. Термин включает MC148 из любого вирусного источника, включая вирус контагиозного моллюска (подтип 1 или подтип 2), если не указано иное. Термин также включает встречающиеся в природе варианты MC148, например укороченные варианты или аллельные варианты. Аминокислотная последовательность иллюстративного белка MC148 показана в SEQ ID NO: 6 (аминокислоты 25–104 идентификатора UniProt Q98314.1).

[0057] Используемый в настоящем документе термин «антитело 7-B16» следует понимать как любое антитело, которое связывается с CCR8 и содержит (i) тяжелую цепь, содержащую SEQ ID NO: 82, и легкую цепь, содержащую SEQ ID NO: 83, (ii) переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 80, и переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 81, или (iii) HCDR1, HCDR2 и HCDR 3, содержащие SEQ ID NO: 84, 85 и 86, соответственно, и LCDR1, LCDR2 и LCDR 3, содержащие SEQ ID NO: 87, 88 и 89, соответственно; а также химерные, человеческие или гуманизированные версии любого из вышеуказанных (i), (ii) или (iii). В некоторых вариантах осуществления «антитело 7-B16» может использоваться для конкретного обозначения антитела, содержащего тяжелую цепь SEQ ID NO: 82 и легкую цепь SEQ ID NO: 83.

[0058] Термин «специфически связывает» с антигеном или эпитопом является термином, который хорошо известен в данной области, и способы определения такого специфического связывания также хорошо известны в данной области. Термин применим, когда говорят, что молекула проявляет «специфическое связывание» или «преимущественное связывание», если она реагирует или ассоциируется чаще, быстрее, с большей продолжительностью и/или с большей аффинностью с конкретной клеткой или веществом, чем с альтернативными клетками или веществами. Антитело «специфически связывается» или «предпочтительно связывается» с мишенью, если оно связывается с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем оно связывается с другими веществами. Например, антитело, которое специфически или предпочтительно связывается с эпитопом CCR8, представляет собой антитело, которое связывает этот эпитоп с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем оно связывается с другими эпитопами CCR8 или эпитопами не CCR8. Понятно также, что после прочтения данного определения, например, антитело (или фрагмент или эпитоп), которое специфически или предпочтительно связывается с первой мишенью, может или не может специфически или предпочтительно связываться со второй мишенью. В частности, термин «специфическое связывание» или «предпочтительное связывание» не обязательно включает (хотя может включать) исключительное связывание. По существу, но не обязательно, ссылка на связывание означает предпочтительное связывание. Термин «специфичность» относится к способности связывающего белка селективно связывать антиген.

[0059] Термин «по существу чистый», используемый в настоящем документе, относится к веществу, которое по меньшей мере на 50% является чистым (то есть не содержит загрязнений), более предпочтительно по меньшей мере на 90% является чистым, более предпочтительно по меньшей мере на 95% является чистым, еще более предпочтительно по меньшей мере на 98% является чистым и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 99% является чистым.

[0060] Термин «эпитоп», используемый в настоящем документе, относится к сайту на целевой молекуле (например, антиген, такой как белок, нуклеиновая кислота, углевод или липид), с которым связывается

антигенсвязывающая молекула (например, антитело, фрагмент антитела или каркасный белок, содержащий области связывания антител). Эпитопы часто включают химически активную поверхностную группу молекул, например боковые цепи аминокислот, полипептидов или углеводов, и имеют специфические трехмерные структурные характеристики, а также характеристики удельного заряда. Эпитопы могут быть образованы как из смежных, так и/или расположенных рядом несмежных остатков (например, аминокислот, нуклеотидов, сахаров, липидного фрагмента) целевой молекулы. Эпитопы, образованные из смежных остатков (например, аминокислот, нуклеотидов, сахаров, липидного фрагмента), обычно сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные третичным складыванием, обычно теряются при обработке денатурирующими растворителями. Эпитоп может включать, без ограничения, по меньшей мере 3, по меньшей мере 5 или 8–10 остатков (например, аминокислот или нуклеотидов). В некоторых примерах эпитоп имеет длину менее 20 остатков (например, аминокислот или нуклеотидов), менее 15 остатков или менее 12 остатков. Два антитела могут связывать один и тот же эпитоп в антигене, если они демонстрируют конкурентное связывание с антигеном. В некоторых вариантах осуществления эпитоп может быть идентифицирован по определенному минимальному расстоянию до остатка CDR на антигенсвязывающей молекуле. В некоторых вариантах осуществления эпитоп может быть идентифицирован по указанному выше расстоянию и дополнительно ограничен теми остатками, которые вовлечены в связь (например, водородную связь) между остатком антитела и остатком антигена. Эпитоп также может быть идентифицирован с помощью различных сканирований, например, аланиновое или аргининовое сканирование может указывать на один или более остатков, с которыми может взаимодействовать антигенсвязывающая молекула. Если явно не обозначено, набор остатков в качестве эпитопа не исключает других остатков из того, чтобы быть частью эпитопа для конкретного антитела. Скорее наличие такого набора обозначает минимальный ряд (или набор видов) эпитопов. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления набор остатков, идентифицированных как эпитоп, обозначает минимальный эпитоп релевантности для антигена, а не исключительный список остатков для эпитопа на антигене.

[0061] «Нелинейный эпитоп» или «конформационный эпитоп» содержит несмежные полипептиды, аминокислоты и/или сахара в пределах антигенного белка, с которым связывается антитело, специфическое к эпитопу. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из остатков будет несмежным с другими отмеченными остатками эпитопа; однако один или более остатков также могут быть смежными с другими остатками.

[0062] «Линейный эпитоп» включает смежные полипептиды, аминокислоты и/или сахара в пределах антигенного белка, с которым связывается антитело, специфическое к эпитопу. Следует отметить, что в некоторых вариантах осуществления не каждый из остатков в пределах линейного эпитопа должен быть непосредственно связан (или вовлечен в связь) с антителом. В некоторых вариантах осуществления линейные эпитопы могут происходить от иммунизации пептидом, который эффективно состоит из последовательности линейного эпитопа, или из структурных участков белка, которые относительно изолированы от остальной части белка (так что антитело может взаимодействовать по меньшей мере в первую очередь), только с этой секцией последовательности.

[0063] Термин «антитело» в настоящем документе используется в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая, без ограничения, моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические (например, привлекающие Т-клетки биспецифические активаторы) и триспецифические антитела) и фрагменты антител при условии, что они проявляют требуемую антигенсвязывающую активность.

[0064] Термин антитело включает, без ограничения, фрагменты, которые способны связываться с антигеном, таким как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab', ди-scFv, sdAb (однодоменное антитело) и (Fab')₂ (включая химически связанный F(ab')₂). При расщеплении антител папаином образуются два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых «Fab» -фрагментами, каждый из которых имеет один антигенсвязывающий участок, и остаточный «Fc» -фрагмент, название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Обработка пепсином дает фрагмент F(ab')₂, который имеет два антигенсвязывающих участка и все еще способен к перекрестному связыванию антигена. Термин «антитело» также включает, без ограничения, химерные антитела, гуманизированные антитела и антитела различных видов, таких как мышь, человек, яванский макак и т. д. Кроме того, для всех конструкций антител, предложенных в настоящем документе, также рассматриваются варианты, имеющие последовательности из других организмов. Таким образом, если описана версия антитела человека, специалисту в данной области будет понятно, как преобразовать антитело на основе человеческой последовательности в последовательность мыши, крысы, кошки, собаки, лошади и т. д. Фрагменты антител также включают либо ориентацию одноцепочечных scFv, tandemного ди-scFv, диател, tandemного три-sdcFv, миниантител и т. д. Фрагменты антител также включают нанотела (sdAb, антитело, имеющее один мономерный домен, такой как пара переменных доменов тяжелых цепей без легкой цепи). Фрагмент антитела может относиться к специфическим видам в некоторых вариантах осуществления (например, scFv человека или scFv мыши). Это обозначает последовательности по меньшей мере части областей, не относящихся к CDR, а не источника конструкции.

[0065] Термин «моноклональное антитело» относится к антителу по существу гомогенной популяции антител, то есть отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими и направлены против одного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене. Таким образом, образец моноклонального антитела может связываться с одним и тем же эпитопом на антигене. Модификатор «моноклональный» указывает на характер антитела, получаемого из по существу гомогенной популяции антител, и его не следует истолковывать как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела могут быть получены гибридомным способом, впервые описанным Kohler and Milstein, 1975, Nature 256:495, или могут быть получены способами рекомбинантной ДНК, например, описанными в патенте США № 4,816,567. Моноклональные антитела также могут быть выделены из фаговых библиотек, полученных с помощью методов, описанных, например, в McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554.

[0066] Термин «CDR» обозначает область, определяющую комплементарность, как определено по меньшей мере одним способом идентификации для специалиста в данной области. В некоторых вариантах осуществления CDR могут быть определены в соответствии с любой из номенклатур Chothia, номенклатуры Kabat, комбинации Kabat и Chothia, определения AbM, определения контакта и/или комбинации Kabat, Chothia, AbM и/или определений контакта. Примеры CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) соответствуют аминокислотным остаткам 24–34 L1, 50–56 L2, 89–97 L3, 31–35B H1, 50–65 H2 и 95–102 H3. (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)). Определение AbM может включать, например, CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) в аминокислотных остатках 24–34 L1, 50–56 L2, 89–97 L3, H26–

H35B H1, 50–58 H2 и 95–102 H3. Определение по контакту может включать, например, CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) в аминокислотных остатках 30–36 L1, 46–55 L2, 89–96 L3, 30–35 H1, 47–58 H2 и 93–101 H3. Определение по Chothia может включать, например, CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) в аминокислотных остатках 24–34 L1, 50–56 L2, 89–97 L3, 26–32...34 H1, 52–56 H2 и 95–102 H3. CDR также могут быть предложены в том виде, как показано на одной или более сопровождающих фигурах. За исключением CDR1 в V_H, CDR по существу содержат аминокислотные остатки, которые образуют гипервариабельные петли. Различные CDR в антителе могут быть обозначены соответствующим номером и типом цепи, включая, без ограничения, следующие: а) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3; б) CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2 и CDRH3; в) LCDR-1, LCDR-2, LCDR-3, HCDR-1, HCDR-2 и HCDR-3; или д) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 и HCDR3; и т. д. Термин «CDR» используется в настоящем документе для обозначения также HVR или «гипервариабельной области», включая гипервариабельные петли. Примеры гипервариабельных петель соответствуют аминокислотным остаткам 26–32 (L1), 50–52 (L2), 91–96 (L3), 26–32 (H1), 53–55 (H2) и 96–101 (H3). (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987).)

[0067] Термин «вариабельная область тяжелой цепи», используемый в настоящем документе, относится к области, содержащей по меньшей мере три CDR тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит три CDR и по меньшей мере FR2 и FR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи содержит по меньшей мере тяжелую цепь HCDR1, каркас (FR) 2, HCDR2, FR3 и HCDR3. В некоторых вариантах реализации вариабельная область тяжелой цепи также содержит по меньшей мере часть FR1 и/или по меньшей мере часть FR4.

[0068] Термин «константная область тяжёлой цепи», используемый в настоящем документе, относится к области, содержащей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи, C_H1, C_H2 и C_H3. Конечно, не изменяющие функции делеции и изменения в пределах доменов включены в объем термина «константная область тяжёлой цепи», если не указано иное. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают γ , δ и α . Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи также включают ϵ и μ . Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотипу антитела. Например, антитело, содержащее константную область γ , представляет собой антитело IgG, антитело, содержащее константную область δ , представляет собой антитело IgD и антитело, содержащее константную область α , представляет собой антитело IgA. Кроме того, антитело, содержащее константную область μ , представляет собой антитело IgM, и антитело, содержащее константную область ϵ , представляет собой антитело IgE. Определенные изотипы могут быть дополнительно подразделены на подклассы. Например, антитела IgG включают, без ограничения, антитела IgG1 (содержащие константную область γ_1), IgG2 (содержащие константную область γ_2), IgG3 (содержащие константную область γ_3) и IgG4 (содержащие константную область γ_4); Антитела IgA включают, без ограничения, антитела IgA1 (содержащие константную область α_1) и IgA2 (содержащие константную область α_2); и антитела IgM включают, без ограничения, IgM1 и IgM2.

[0069] Термин «тяжелая цепь», используемый в настоящем документе, относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере вариабельную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи. Термин «полноразмерная тяжелая цепь», в контексте настоящего документа, относится к полипептиду, содержащему вариабельную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[0070] Термин «вариабельная область легкой цепи», используемый в настоящем документе, относится к области, содержащей по меньшей мере три легких цепи CDR. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит три CDR и по меньшей мере FR2 и FR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит по меньшей мере легкую цепь LCDR1, каркас (FR) 2, LCDR2, FR3 и LCDR3. Например, вариабельная область легкой цепи может содержать легкую цепь CDR1, каркас (FR) 2, CDR2, FR3 и CDR3. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи также содержит по меньшей мере фрагмент FR1 и/или по меньшей мере фрагмент FR4.

[0071] Термин «константная область легкой цепи», используемый в настоящем документе, относится к области, содержащей константный домен легкой цепи C_L . Неограничивающие примеры константных областей легкой цепи также содержат λ и κ . Конечно, не изменяющие функции делеции и изменения в пределах доменов включены в объем термина «константная область легкой цепи», если не указано иное.

[0072] Термин «легкая цепь», используемый в настоящем документе, относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере вариабельную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит по меньшей мере часть константной области легкой цепи. Термин «полноразмерная легкая цепь», используемый в настоящем документе, относится к полипептиду, содержащему вариабельную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[0073] «Акцепторный человеческий каркас» для целей настоящего изобретения представляет собой каркас, содержащий аминокислотную последовательность каркаса вариабельного домена легкой цепи (V_L) или каркас вариабельного домена тяжелой цепи (V_H), полученный из каркаса иммуноглобулина человека или консенсусного человеческого каркаса, как определено ниже. Акцепторный человеческий каркас, полученный из каркаса иммуноглобулина человека или консенсусного человеческого каркаса, может содержать такую же аминокислотную последовательность или может содержать изменения аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления число замен аминокислот составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее, или 2 или менее. В некоторых вариантах осуществления акцепторный человеческий каркас V_L идентичен по последовательности каркасной последовательности иммуноглобулина человека V_L или консенсусной каркасной последовательности человека.

[0074] «Аффинность» относится к силе общей суммы нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антителом) и его партнером по связыванию (например, антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно может быть представлена константой диссоциации (K_D). Аффинность может быть измерена общепринятыми способами, известными в данной области (такими как, например, ИФА K_D , KinExA, интерферометрией биослоя (BLI) и/или устройства поверхностного плазмонного резонанса (например, устройство BIAcore®), включая те, которые описаны в настоящем документе).

[0075] Термин « K_D », используемый в настоящем документе, относится к константе равновесной диссоциации взаимодействия антитело-антиген.

[0076] В некоторых вариантах осуществления « K_D », « K_d », « K_d » или «значение K_d » антитела измеряется с помощью анализов поверхностного плазмонного резонанса с помощью BIACORE®-2000 или BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., г. Пискатауэй, штат Нью-Джерси, США) при 25 °C с чипами CM5 с иммобилизованными антигенами при ~ 10 единицах ответа (RU). Вкратце, биосенсорные чипы карбоксиметилированного декстрана (CM5, BIAcore, Inc.) активируют гидрохлоридом N-этил-N'-(3-

диметиламинопропил)карбодимид (EDC) и N-гидроксисукцинимидом (NHS) в соответствии с инструкциями поставщика. Антиген разбавляют 10 mM ацетатом натрия, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~ 0,2 мкМ) перед инъекцией со скоростью потока 5 мкл/минуту, чтобы получить приблизительно 10 единиц ответа (RU) связанного белка. После инъекции антигена вводят 1 M этаноламин для блокировки непрореагировавших групп. Для измерения кинетики серийные разведения полипептида, например, полноразмерного антитела, вводят в PBS с 0,05% поверхностно-активным веществом TWEEN-20™ (PBST) при 25 °C при скорости потока приблизительно 25 мкл/мин. Скорости ассоциации (k_{on}) и скорости диссоциации (k_{off}) рассчитываются с использованием простой однозначной модели связывания Ленгмюра (BIAcore® Evaluation версия программы 3.2) путем одновременного подбора сенсограмм ассоциации и диссоциации. Равновесная константа диссоциации (K_d) рассчитывается как соотношение k_{off}/k_{on} . См., например, Chen et al., *J. Mol. Biol.* 293:865-881 (1999). Если скорость включения превышает $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ с помощью описанного выше анализа методом поверхностного плазмонного резонанса, то скорость ассоциации можно определить с помощью метода затухания флуоресценции, который измеряет увеличение или уменьшение интенсивности флуоресцентного излучения (возбуждение = 295 нМ; испускание=340 нМ, полоса пропускания 16 нМ) при 25°C 20 нМ антиантгенного антитела в PBS, pH 7,2, в присутствии возрастающих концентраций антигена, измеренных в спектрометре, таком как спектрофотометр с устройством остановки потока (Aviv Instruments), или спектрофотометре SLM-AMINCO™ серии 8000 (ThermoSpectronic) с перемешивающей кюветой.

[0077] В некоторых вариантах осуществления разница между указанными двумя значениями (например, значениями K_d) является по существу одинаковой, например, менее чем около 50%, менее чем около 40%, менее чем около 30%, менее чем около 20% и/или менее чем около 10% в зависимости от эталонного/компараторного значения.

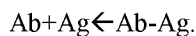
[0078] В некоторых вариантах осуществления разница между указанными двумя значениями (например, значениями K_d) существенно отличается, например, более чем около 10%, более чем около 20%, более чем около 30%, более чем около 40% и/или более чем около 50% в зависимости от значения для эталонной/компараторной молекулы.

[0079] «Поверхностный плазмонный резонанс» обозначает оптическое явление, которое позволяет анализировать биоспецифические взаимодействия в реальном времени путем обнаружения изменений концентрации белка в матрице биосенсора, например, с помощью системы BIAcore™ (BIAcore International AB, компания GE Healthcare, Упсала, Швеция, и Пискатауэй, Нью-Джерси). Более подробное описание см. в Jonsson et al. (1993) *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26.

[0080] «Биослойная интерферометрия» относится к оптическому аналитическому способу, который анализирует интерферограмму света, отраженного от слоя иммобилизованного белка на кончике биосенсора и внутреннем слое сравнения. Изменения в количестве молекул, связанных с кончиком биосенсора, вызывают сдвиги в интерферограмме, которые могут быть измерены в режиме реального времени. Неограничивающим примером устройства для биослойной интерферометрии является система ForteBio Octet® RED96 (Pall Corporation). См., например, Abdiche et al., 2008, *Anal. Biochem.* 377: 209-277.

[0081] Термин « k_{on} », используемый в настоящем документе, относится к константе скорости ассоциации антитела с антигеном. В частности, константы скорости (k_{on} и k_{off}) и константы равновесной диссоциации измеряют с помощью IgG (двухвалентных) с одновалентным антигеном CCR8. « K_{on} », « k_{on} », «константа скорости ассоциации» или « k_a » используются в настоящем документе взаимозаменяемо. Значение указывает на скорость связывания связывающего белка с его антигеном-мишенью или скорость образования комплекса между антителом и антигеном, представленную уравнением: Антитело(«Ab»)+Антиген(«Ag»)→Ab-Ag.

Термин « k_{off} », используемый в настоящем документе, относится к константе скорости диссоциации антитела из комплекса антитело/антиген. k_{off} также обозначается как « K_{off} » или «константа скорости диссоциации». Это значение указывает на скорость диссоциации антитела от его антиген-мишени или разделения комплекса Ab-Ag с течением времени на свободные антитело и антиген, как показано уравнением:



[0081] Термин «биологическая активность» относится к любому одному или более биологическим свойствам молекулы (независимо от того, присутствуют ли в природе так, как было обнаружено *in vivo*, или предоставлены или включены рекомбинантным способом). Биологические свойства включают, без ограничения, связывание цитокина, индукцию пролиферации клеток, ингибирование роста клеток, индукцию других цитокинов, индукцию апоптоза и ферментативную активность. В некоторых вариантах осуществления биологическая активность CCR8 включает антиапоптотическую активность, хемотаксис клеток, иммуносупрессивные функции и способность поляризовать клетки в направлении различных путей клеточной дифференцировки.

[0081] Антитело «с созревшей аффинностью» относится к антителу с одним или более изменениями в одной или более CDR по сравнению с исходным антителом, которое не обладает такими изменениями, причем такие изменения приводят к улучшению аффинности антитела к антигену.

[0081] Термин «химерное антитело», используемый в настоящем документе, относится к антителу, в котором фрагмент тяжелой и/или легкой цепи получен из конкретного источника или вида, в то время как по меньшей мере часть остатка тяжелой и/или легкой цепи получена из другого источника или вида. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну переменную область от первого вида (такого как мышь, крыса, яванский макак и т. д.) и по меньшей мере одну константную область от второго вида (такого как человек, яванский макак и т. д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область мыши и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну переменную область яванского макака и по меньшей мере константную область человека. В некоторых вариантах осуществления все переменные области химерного антитела относятся к первому виду, а все константные области химерного антитела относятся ко второму виду. Химерная конструкция также может представлять собой функциональный фрагмент, как отмечено выше.

[0081] Термин «гуманизированное антитело», используемый в настоящем документе, относится к антителу, в котором по меньшей мере одна аминокислота в каркасной области нечеловеческой переменной области была заменена соответствующей аминокислотой из переменной области человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере одну человеческую константную область или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fab, scFv, (Fab')₂ и т. д. Термин «гуманизированный» также обозначает формы нечеловеческих (например, мышинных) антител, которые представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулина или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность нечеловеческого иммуноглобулина. Гуманизированные антитела могут включать иммуноглобулин человека (реципиентное антитело), в которых остатки комплементарной определяющей области (CDR) реципиента замещены остатками из CDR вида, не относящегося к человеку

(донорское антитело), такого как мышь, крыса или кролик, имеющий требуемую специфичность, аффинность и способность. В некоторых случаях остатки каркасной области Fv (FR) иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками, не относящиеся к человеку. Кроме того, гуманизированное антитело может содержать остатки, которые не обнаружены ни в реципиентном антителе, ни в импортированных CDR или каркасных последовательностях, но включены для дальнейшего уточнения и оптимизации характеристик антитела. В общем, гуманизированное антитело может содержать по существу все из по меньшей мере одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все области CDR соответствуют доменам иммуноглобулина, не относящегося к человеку, и все или по существу все области FR представляют собой последовательности консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело также может содержать по меньшей мере фрагмент константной области или домена иммуноглобулина (Fc), обычно иммуноглобулина человека. Другие формы гуманизированных антител имеют одну или более CDR (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 и/или CDR H3), которые изменены по отношению к исходному антителу, которые также называются одной или более CDR, «полученных из» одного или более CDR из исходного антитела. Следует иметь в виду, что гуманизированная последовательность может быть идентифицирована по ее первичной последовательности и необязательно обозначает способ, с помощью которого было создано антитело.

[0081] Термин «CDR-привитое антитело», используемый в настоящем документе, относится к гуманизированному антителу, в котором одна или более определяющих комплементарность областей (CDR) первого (не принадлежащего человеку) вида, были привиты к каркасным областям (FR) второго (принадлежащего человеку) вида.

[0081] Термин «человеческое антитело», используемый в настоящем документе, включает антитела, продуцируемые у людей, антитела, продуцируемые у отличных от человека животных, которые содержат гены иммуноглобулинов человека, таких как мыши XenoMouse[®], и антитела, отобранные с помощью методов *in vitro*, таких как фаговый дисплей (Vaughan et al., 1996, Nature Biotechnology, 14:309-314; Sheets et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol., 222:581), причем спектр антител основан на последовательности иммуноглобулина человека. Термин «антитело человека» обозначает семейство последовательностей, которые представляет собой последовательности человека. Таким образом, этот термин обозначает не процесс, с помощью которого было создано антитело, а семейство соответствующих последовательностей.

[0081] «Функциональная область Fc» обладает «эффektorной функцией» области Fc с нативной последовательностью. Иллюстративные «эффektorные функции» включают связывание Fc-рецептора; связывание C1q; CDC; ADCC; фагоцитоз; снижение количества рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора; BCR) и т. д. Для таких эффektorных функций по существу необходимо, чтобы область Fc была объединена со связывающим доменом (например, переменным доменом антитела) и их можно оценить со помощью различных анализов.

[0081] «Область Fc с нативной последовательностью» включает аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности области Fc, встречающейся в природе. Области Fc человека с нативной последовательностью включают область Fc IgG1 человека с нативной последовательностью (аллотипы не-A и A); область Fc IgG2 человека с нативной последовательностью; область Fc IgG3 человека с нативной последовательностью; и область Fc IgG4 человека с нативной последовательностью, а также их встречающиеся в природе варианты.

[0090] «Вариантная область Fc» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от области Fc с нативной последовательностью благодаря по меньшей мере одной модификации аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления, «вариантная область Fc» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от области Fc с нативной последовательностью благодаря по меньшей мере одной модификации аминокислоты, но при этом сохраняет по меньшей мере одну эффекторную функцию области Fc с нативной последовательностью. В некоторых вариантах осуществления, вариантная область Fc имеет по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с областью Fc с нативной последовательностью или с областью Fc родительского полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен и, предпочтительно, от около одной до около пяти аминокислотных замен в области Fc с нативной последовательностью или в области Fc родительского полипептида. В некоторых вариантах осуществления, вариантная область Fc в настоящем документе будет идентична по меньшей мере на около 80% области Fc с нативной последовательностью и/или области Fc родительского полипептида, идентична по меньшей мере на около 90% указанной последовательности, идентична по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98% или по меньшей мере на около 99% указанной последовательности.

[0091] Термины «Fc-рецептор» или «FcR» описывают рецептор, который связывается с областью Fc антитела. В некоторых вариантах осуществления Fc γ R представляет собой нативный FcR человека. В некоторых вариантах осуществления, FcR представляет собой рецептор, который связывается с антителом IgG (гамма рецептор) и включает рецепторы подклассов Fc γ RI, Fc γ RII и Fc γ RIII, в том числе аллельные варианты и формы данных рецепторов, которые подверглись альтернативному сплайсингу. Рецепторы Fc γ RII включают Fc γ RIIA («активирующий рецептор») и Fc γ RIIB («ингибирующий рецептор»), которые содержат аналогичные аминокислотные последовательности, отличающиеся преимущественно цитоплазматическими доменами. Активирующий рецептор Fc γ RIIA содержит в цитоплазматическом домене иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM). Ингибирующий рецептор Fc γ RIIB содержит в цитоплазматическом домене иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM). (см., например, Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). Обзор FcR приведен в публикациях Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel *et al.*, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); и de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995). Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, включены в термин «FcR» в настоящем документе.

[0092] Термин «Fc-рецептор» или «FcR» также включает неонатальный рецептор, FcRn, отвечающий за перенос материнских IgG в плод (Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) и Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24:249 (1994)) и регуляция гомеостаза иммуноглобулинов. Способы измерения связывания с FcRn являются известными (см., например, Ghetie and Ward., *Immunol. Today* 18(12):592-598 (1997); Ghetie *et al.*, *Nature Biotechnology*, 15(7):637-640 (1997); Hinton *et al.*, *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216 (2004); WO 2004/92219 (Hinton *et al.*).

[0093] «Эффекторные функции» относятся к биологической активности, относящейся к области Fc антитела, которая варьируется в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают: связывание C1q и комплементзависимую цитотоксичность (CDC); связывание Fc-рецептора; антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; снижение количества рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора); и активацию B-клеток.

[0094] «Эффекторные клетки человека» представляют собой лейкоциты, которые экспрессируют один или более FcR и осуществляют эффекторные функции. В некоторых вариантах осуществления такие клетки

экспрессируют по меньшей мере FcγRIII и осуществляют эффекторную функцию (функции) ADCC. Примеры лейкоцитов человека, которые опосредуют ADCC, включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), клетки естественные киллеры (NK), моноциты, цитотоксические Т-клетки и нейтрофилы. Эффекторные клетки могут быть выделены из нативного источника, например из крови.

[0095] «Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность» или «ADCC» относится к форме цитотоксичности, при которой секретированный Ig, связанный с Fc-рецепторами (FcR), присутствующими на определенных цитотоксических клетках (например, клетках NK, нейтрофилах и макрофагах), позволяет этим цитотоксическим эффекторным клеткам специфически связываться с антиген-несущей клеткой-мишенью, а затем убивают клетку-мишень цитотоксинами. Первичные клетки для опосредования ADCC, NK-клетки, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. данные по экспрессии FcR на гемопоэтических клетках обобщены в таблице 3 на странице 464 публикации Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991). Для оценки активности ADCC представляющей интерес молекулы может быть осуществлен *in vitro* анализ ADCC, например, описанный в патенте США № 5,500,362, или 5,821,337, или патенте США № 6,737,056 (Presta). Пригодные эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови и NK-клетки. В альтернативном или дополнительном варианте активность ADCC представляющей интерес молекулы можно оценить *in vivo*, например, на животной модели, как раскрыто в Clynes *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95:652-656 (1998). Дополнительные варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями области Fc (полипептиды с вариантной областью Fc) и повышенной или пониженной активностью ADCC описаны, например, в патенте США № 7,923,538 и патенте США № 7,994,290.

[0096] «Комплементзависимая цитотоксичность» или «CDC» относится к лизису клетки-мишени в присутствии комплемента. Активация классического пути комплемента инициируется связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с антителами (соответствующего подкласса), которые связаны с их распознанным антигеном. Для оценки активацию комплемента, может быть выполнен анализ CDC, например, как описано в Gazzano-Santoro *et al., J. Immunol. Methods* 202:163 (1996). Варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями области Fc (полипептиды с вариантной областью Fc) и повышенной или пониженной способностью связывания C1q описаны, например, в патенте США № 6,194,551 B1, патенте США № 7,923,538, патенте США № 7,994,290 и WO 1999/51642. Также, см., например, Idusogie *et al., J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000).

[0097] Полипептидный вариант с «измененной» аффинностью связывания FcR или активностью ADCC представляет собой вариант, который имеет либо повышенную, либо пониженную активность связывания FcR и/или активность ADCC по сравнению с родительским полипептидом или с полипептидом, содержащим область Fc с нативной последовательностью. Полипептидный вариант, который «демонстрирует повышенное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с лучшей аффинностью, чем родительский полипептид. Полипептидный вариант, который «демонстрирует пониженное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с более низкой аффинностью, чем родительский полипептид. Такие варианты, которые демонстрируют пониженное связывание с FcR, могут обладать незначительным или отсутствующим заметным связыванием с FcR, например, 0–20% связывания с FcR по сравнению с областью Fc IgG с нативной последовательностью.

[0098] Полипептидный вариант, который «опосредует антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC) в присутствии эффекторных клеток человека более эффективно», чем родительское антитело, представляет собой полипептидный вариант, который более эффективно опосредует

ADCC *in vitro* или *in vivo*, когда количества полипептидного варианта и родительского антитела, применяемые в анализе, по существу одинаковы. По существу такие полипептиды можно обнаружить с применением анализа ADCC *in vitro*, описанного в настоящем документе, однако можно также применять другие анализы или способы определения активности ADCC, например модель на животных и т. д.

[0099] Термин «по существу аналогичный» или «по существу одинаковый», используемый в настоящем документе, обозначает достаточно высокую степень сходства между двумя или более числовыми значениями, так что специалист в данной области будет рассматривать разницу между этими двумя или более значениями как малой или нулевой биологической и/или статистической значимости в контексте биологической характеристики, измеряемой указанным значением. В некоторых вариантах осуществления два или более по существу одинаковых значения отличаются не более чем на около любое из 5%, 10%, 15%, 20%, 25% или 50%.

[0100] Термин «существенно отличающийся», используемый в настоящем документе, обозначает достаточно высокую степень различия между двумя числовыми значениями, так что специалист в данной области будет считать, что различие между этими двумя значениями имеет статистическую значимость в контексте биологической характеристики, измеренной указанными значениями. В некоторых вариантах осуществления два по существу различных числовых значения отличаются более чем на около любое из 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%.

[0101] Термин «существенно уменьшенный», используемый в настоящем документе, обозначает достаточно высокую степень уменьшения между числовым значением и ссылочным числовым значением, так что специалист в данной области сочтет, что разница между этими двумя значениями имеет статистическую значимость в пределах контекста биологической характеристики, измеренной указанными значениями. В некоторых вариантах осуществления существенно уменьшенные числовые значения уменьшаются более чем на около любое из 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% по сравнению с контрольным значением.

[0102] Термин «лидерная последовательность» относится к последовательности аминокислотных остатков, расположенных на N-конце полипептида, которая облегчает секрецию полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может быть отщеплена при экспорте полипептида из клетки млекопитающего, образуя зрелый белок. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, и могут быть гетерологичными или гомологичными белку, к которому они присоединены.

[0103] Полипептид с «нативной последовательностью» включает полипептид, имеющий ту же аминокислотную последовательность, что и полипептид, встречающийся в природе. Таким образом, полипептид с нативной последовательностью может иметь аминокислотную последовательность встречающегося в природе полипептида от любого млекопитающего. Такой полипептид с нативной последовательностью может быть выделен из природного источника или может быть получен рекомбинантным или синтетическим путем. Термин полипептид «с нативной последовательностью», в частности, охватывает встречающиеся в природе укороченные или секретируемые формы полипептида (например, последовательность внеклеточного домена), встречающиеся в природе вариантные формы (например, которые подверглись альтернативному сплайсингу) и встречающиеся в природе аллельные варианты полипептида.

[0104] «Вариант» полипептида означает биологически активный полипептид, имеющий по меньшей мере около 80% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом с нативной последовательностью после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для

достижения максимальной процентной идентичности последовательности и без учета каких-либо консервативных замен, как часть идентичности последовательности. Такие варианты включают, например, полипептиды, в которых один или более аминокислотных остатков добавлены или удалены на N- или C-конце полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант будет иметь по меньшей мере около 80% идентичности аминокислотных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления вариант будет иметь по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления вариант будет идентичен на по меньшей мере около 95% аминокислотной последовательности с полипептидом с нативной последовательностью.

[0105] Используемые в настоящем документе термины «процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» и «гомология» в отношении последовательности пептида, полипептида или антитела определяется как процент аминокислотных остатков в кандидатской последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в конкретной пептидной или полипептидной последовательности после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если необходимо, для достижения наибольшего процента идентичности последовательности и без принятия каких-либо консервативных замен за часть идентичной последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть выполнено различными способами, известными специалисту в данной области, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить нужные параметры для выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[0106] Замена аминокислоты может включать, без ограничения, замену одной аминокислоты в полипептиде другой аминокислотой. Иллюстративные консервативные замены приведены в таблице 1. Аминокислотные замены можно вносить в представляющее интерес антитело, и проводить скрининг полученных продуктов в отношении необходимой активности, например, сохранения/улучшения связывания антигена, снижения иммуногенности или улучшения ADCC или CDC.

ТАБЛИЦА 1

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

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

[0107] Аминокислоты можно поделить на группы в соответствии с общими свойствами боковых цепей:

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

[0108] Неконсервативные замены приводят к замене члена одного из этих классов на члена другого класса.

[0109] Термин «вектор» используется для описания полинуклеотида, который может быть сконструирован таким образом, чтобы содержать клонированный полинуклеотид или полинуклеотиды, которые могут размножаться в клетке-хозяине. Вектор может включать один или более из следующих элементов: источник репликации, одну или более регуляторных последовательностей (таких как, например, промоторы и/или энхансеры), которые регулируют экспрессию интересующего полипептида, и/или один или более селективируемых маркерных генов (таких как, например, гены устойчивости к антибиотикам и гены, которые могут быть применены в колориметрических анализах, например β -галактозидаза). Термин «вектор»

экспрессии» относится к вектору, который применяют для экспрессии представляющего интерес полипептида в клетке-хозяине.

[0110] «Клетка-хозяин» относится к клетке, которая может быть или была реципиентом вектора или выделенного полинуклеотида. Клетки-хозяева могут представлять собой прокариотические клетки или эукариотические клетки. Примеры эукариотических клеток включают клетки млекопитающих, такие как клетки приматов или отличных от приматов животных; грибные клетки, такие как дрожжи; растительные клетки; и клетки насекомых. Неограничивающие типовые клетки млекопитающих включают, без ограничения, клетки NSO, клетки PER.C6[®] (Crucell) и клетки 293, и CHO и их производные, например, клетки 293-6E и DG44, соответственно. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и потомство необязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или по комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(-ами), предложенным(-и) в настоящем документе.

[0111] Термин «изолированный», используемый в настоящем документе, относится к молекуле, которая была отделена от по меньшей мере некоторых компонентов, с которыми она обычно встречается в природе или продуцируется. Например, полипептид называется «выделенным», когда он отделен по меньшей мере от некоторых компонентов клетки, в которой он был получен. В случае, когда полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид, от клетки, которая его вырабатывает, считается «выделением» полипептида. Аналогично, полинуклеотид называют «выделенным», когда он не является частью более крупного полинуклеотида (такого как, например, геномная ДНК или митохондриальная ДНК, в случае полинуклеотида ДНК), в котором он обычно находится в природе, или отделен от по меньшей мере некоторых компонентов клетки, в которой он был продуцирован, например, в случае полинуклеотида РНК. Таким образом, полинуклеотид ДНК, который содержится в векторе внутри клетки-хозяина, может называться «выделенным».

[0112] Термины «индивидуум» или «субъект» используются в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения животного; например, млекопитающее. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения млекопитающих, включая, без ограничения, людей, грызунов, обезьян, кошачьих, собак, лошадей, крупный рогатый скот, свиней, овец, коз, лабораторных животных-млекопитающих, сельскохозяйственных животных-млекопитающих, спортивных животных-млекопитающих и домашних животных-млекопитающих. В некоторых примерах «индивидуум» или «субъект» относится к индивидууму или субъекту, нуждающемуся в лечении заболевания или нарушения. В некоторых вариантах осуществления, субъектом, который должен получать лечение, может быть пациент, что обозначает, что субъект был идентифицирован как имеющий нарушение, относящееся к лечению, или имеющий достаточный риск заболевания данным расстройством.

[0113] Термин «заболевание» или «нарушение», используемый в настоящем документе, относится к состоянию, при котором лечение необходимо и/или желательно.

[0114] «Злокачественное новообразование» и «опухоль», используемые в настоящем документе, являются взаимозаменяемыми терминами, которые относятся к любому аномальному росту или пролиферации клеток или тканей у животного. Термины «злокачественное новообразование» и «опухоль», используемые в настоящем документе, охватывают солидную и гематологическую злокачественную/лимфатическую опухоль, а также охватывают злокачественную, предопухолевую и доброкачественную опухоль, такую как дисплазия. Примеры злокачественного новообразования

включают, без ограничения, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких видов злокачественных новообразований включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого, рак брюшины, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичников, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак толстой и прямой кишки, рак эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак почки, рак печени, рак простаты, рак влагалища, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому, мезотелиому и различные типы рака головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления гематологические/лимфатические злокачественные новообразования называют «гемобластомом». Неограничивающие примеры гемобластомом включают В- и Т-клеточный смешанный лейкоз, В-клеточную лимфому, хронический миелоидный лейкоз (CML), хронический миеломоноцитарный лейкоз, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBC), лимфому, мантийно-клеточную лимфому (MCL), множественную миелому, миелодиспластические синдромы (MDS), миелопролиферативные заболевания, периферическую Т-клеточную лимфому, Т-клеточный лейкоз, острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфолейкоз (CLL), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (SLL), CLL/SLL, зрелые Т-клеточную и NK-клеточную лимфомы, фолликулярную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), Т-клеточный острый лимфолейкоз (TALL), Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, кожную Т-клеточную лимфому (CTCL), Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых (ATLL), Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому (TLL), ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому (ATCL), гепатолиенальную Т-клеточную лимфому (HTCL), периферическую Т-клеточную лимфому без дополнительных уточнений (PTCL NOS), лимфому Беркитта (BL), хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML), экстранодальную NK/Т-клеточную лимфому (NKTCL), первичную выпотную лимфому (PEL), острый лимфоцитарный лейкоз/острый миелоидный лейкоз (ALL, AML), гистиоцитарную лимфому (HL), лимфому маргинальной зоны (MZL), В-клеточный острый лимфолейкоз и анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL).

[0115] Термин «лечение», используемый в настоящем документе, относится к подходу для получения полезных или требуемых клинических результатов. Термин «лечение», используемый в настоящем документе, охватывает любое введение или применение лекарственного средства для лечения заболевания у млекопитающего, включая человека. Для целей настоящего описания полезные или требуемые клинические результаты включают, без ограничения, одно или более из следующего: ослабление одного или более симптомов, уменьшение степени заболевания, предотвращение или задержка распространения (например, метастазирования, например, метастазирования в легкое или в лимфатический узел) заболевания, предотвращение или задержка рецидива заболевания, задержка или замедление прогрессирования заболевания, ослабление болезненного состояния, ингибирование заболевания или прогрессирование заболевания, ингибирование или замедление заболевания или его прогрессирования, задержка его развития и ремиссия (частичная или полная). Термин «лечение» также включает уменьшение патологических последствий пролиферативного заболевания. Способы, предложенные в настоящем документе, предусматривают любой один или более из этих аспектов лечения. В соответствии с вышеизложенным, термин «лечение» не требует стопроцентного устранения всех аспектов нарушения.

[0116] «Улучшение» означает уменьшение или улучшение одного или более симптомов по сравнению со случаем отсутствия введения антитела к CCR8. «Улучшение» также включает сокращение или уменьшение продолжительности симптома.

[0117] В контексте злокачественного новообразования термин «лечение» включает любое или все из следующего: ингибирования роста раковых клеток, ингибирования репликации раковых клеток, уменьшения общей опухолевой нагрузки и ослабления одного или более симптомов, связанных с заболеванием.

[0118] Используемый в настоящем документе термин «регуляторные Т-клетки» (также известный как «Трег» или «клетки Трег» или «супрессорные Т-клетки») представляет собой субпопуляцию Т-клеток, которые являются иммуносупрессивными и по существу подавляют или снижают индукцию и пролиферацию эффекторных Т-клеток. Трег экспрессируют CD4, FOXP3 и CD25 (α -цепь рецептора IL-2). Foxp3+CD4+ Т-клетки человека были разделены на три субфракции на основании уровня экспрессии Foxp3 и молекул клеточной поверхности CD25 и CD45RA. Фенотипы Foxp3hiCD45RA-CD25hi и Foxp3loCD45RA+CD25lo соответствуют супрессивным клеткам Трег, тогда как фракция Foxp3loCD45RA-CD25lo метят активированные эффекторные Т-клетки (Тэфф) без супрессивной активности. Кроме того, клетки Трег пациентов со злокачественным новообразованием по сравнению со здоровыми субъектами, как правило, характеризуются отчетливым профилем экспрессии хемокиновых рецепторов, таких как CCR4, CXCR4 и CCR5, что облегчает их миграцию в опухоли в ответ на соответствующие хемокиновые лиганды, происходящие из опухолевого микроокружения. См., например, Liu, et al., FEBS J. (2016) 283(14):2731-48 и Miyara, et al., Immunity (2009) 30, 899–911.

[0119] «Обычные Т-клетки» или «ТconV» представляют собой популяцию Т-клеток, которые по существу являются положительными по CD4 (т. е. CD4+), но которые отличаются от Трег тем, что ТconV по существу являются отрицательными по FoxP3 (т. е. FoxP3-).

[0120] Термин «биологический образец» означает количество вещества из живого или ранее живого существа. Такие вещества включают, без ограничения, кровь (например, цельную кровь), плазму, сыворотку, мочу, амниотическую жидкость, синовиальную жидкость, клетки эндотелия, лейкоциты, моноциты, другие клетки, органы, ткани, костный мозг, лимфоузлы и селезенку.

[0121] Термин «контроль» относится к композиции, не содержащей аналит («отрицательный контроль») или содержащей аналит («положительный контроль»). Положительный контроль может содержать известную концентрацию аналита. «Контроль», «положительный контроль» и «калибратор» могут использоваться в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения композиции, содержащей известную концентрацию аналита. «Положительный контроль» может применяться для определения характеристик анализа и является полезным индикатором целостности реагентов (например, аналитов).

[0122] «Предварительно определенный предел» и «предварительно определенный уровень» обычно относятся к граничному значению анализа, которое применяется для оценки результатов диагностической/прогностической/терапевтической эффективности путем сравнения результатов анализа с предварительно определенным пределом/уровнем, где предварительно определенный предел/уровень уже связан или ассоциирован с различными клиническими параметрами (например, тяжесть заболевания, прогрессия/отсутствие прогрессии/улучшение и т. д.). Хотя настоящее описание может обеспечить примерные заранее определенные уровни, хорошо известно, что значения ограничения могут варьироваться в зависимости от природы иммуноанализа (например, применяемых антител и т. д.). Кроме того, специалист в данной области может приспособить описание, приведенное в настоящем документе, для других иммуноанализов для получения специфичных для иммуноанализа предельных значений для данных

других иммуноанализов на основании настоящего описания. Принимая во внимание, что точное значение предварительно определенного ограничения/уровня может варьироваться между анализами, корреляции, как описано в настоящем документе (если таковые имеются), могут быть по существу применимы.

[0123] Термины «ингибирование» или «ингибировать» относятся к уменьшению или прекращению любого фенотипического свойства или к снижению или прекращению частоты, степени или вероятности этого свойства. «Снизить» или «ингибировать» означает уменьшить, снизить или остановить активность, функцию и/или количество по сравнению с эталоном. В некоторых вариантах осуществления «снизить» или «ингибировать» означает способность вызывать общее уменьшение на 20% или более. В некоторых вариантах осуществления, «снизить» или «ингибировать» означает способность вызывать общее уменьшение на 50% или более. В некоторых вариантах осуществления «снизить» или «ингибировать» означает способность вызывать общее уменьшение на 75%, 85%, 90%, 95% или более. В некоторых вариантах осуществления количество, указанное выше, ингибируется или уменьшается в течение периода времени относительно контрольной дозы (такой как плацебо) в течение того же периода времени. Термин «эталонный», используемый в настоящем документе, относится к любому образцу, стандарту или уровню, которые применяются для целей сравнения. Эталонный образец может быть получен из здорового и/или нездорового образца. В некоторых примерах эталонный образец может быть получен из необработанного образца. В некоторых примерах эталонный образец получен от не заболевшего на необработанном образце индивидуума-субъекта. В некоторых примерах эталонный образец получен от одного или более здоровых индивидуумов, которые не являются субъектом или пациентом.

[0124] Термин «задержка развития заболевания», используемый в настоящем документе, означает задержку, препятствование, замедление, торможение, стабилизацию, подавление и/или откладывание развития заболевания (такого как злокачественное новообразование). Эта задержка может быть различной продолжительности, в зависимости от анамнеза болезни и/или индивидуума, который подлежит лечению. Как очевидно для специалиста в данной области, достаточная или значительная задержка может, в действительности, включать предотвращение, поскольку у индивидуума не развивается заболевание. Например, поздняя стадия злокачественного новообразования, такая как развитие метастазирования, может быть отсрочена.

[0125] Термин «предотвращение», используемый в настоящем документе, включает обеспечение профилактических мероприятий в отношении возникновения или рецидива заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но заболевание еще не было диагностировано. Если не указано иное, термины «уменьшить», «ингибировать» или «предотвратить» не обозначают и не требуют полного предотвращения в течение всего времени.

[0126] Используемый в настоящем документе термин «подавить» функцию или действие означает уменьшение функции или активности по сравнению с другими такими же условиями, за исключением представляющего интерес состояния или параметра или, альтернативно, по сравнению с другим условием. Например, антитело, которое подавляет рост опухоли, снижает скорость роста опухоли по сравнению со скоростью роста опухоли в отсутствие антитела.

[0127] «Терапевтически эффективное количество» вещества/молекулы, агониста или антагониста может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст, пол и вес индивидуума, а также способность вещества/молекулы, агониста или антагониста вызывать требуемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также является таким, в котором любые токсичные или вредные эффекты вещества/молекулы, агониста или антагониста перевешиваются терапевтически

полезными эффектами. Терапевтически эффективное количество может быть доставлено за одно или более введений. Терапевтически эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого терапевтического и/или профилактического результатов.

[0128] «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого профилактического результата. Как правило, но не обязательно, поскольку профилактическую дозу применяют у субъектов до или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество.

[0129] Термины «фармацевтический состав» и «фармацевтическая композиция» относятся к препарату, который находится в такой форме, которая позволяет биологической активности активного ингредиента (ингредиентов) быть эффективной, и которая не содержит никаких дополнительных компонентов, которые неприемлемо токсичны для субъекта, которому будет вводиться состав. Такие составы могут быть стерильными.

[0130] «Фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному составу или носителю, общепринятому в данной области для применения с терапевтическим агентом, который вместе содержит «фармацевтическую композицию» для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель нетоксичен для реципиентов в применяемых дозировках и концентрациях и совместим с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель соответствует применяемому составу.

[0131] «Стерильная» композиция является асептической или практически не содержит живых микроорганизмов и их спор.

[0132] Термин «IDO-ингибитор» относится к агенту, способному ингибировать активность индоламин 2,3-диоксигеназы (IDO) и, таким образом, обращать IDO-опосредованную иммуносупрессию. Ингибитор IDO может ингибировать IDO1 и/или IDO2 (INDOL1). Ингибитор IDO может представлять собой обратимый или необратимый ингибитор IDO. «Обратимый ингибитор IDO» представляет собой соединение, которое обратимо ингибирует активность фермента IDO на каталитическом сайте или на некаталитическом сайте, а «необратимый ингибитор IDO» представляет собой соединение, которое необратимо ингибирует активность фермента IDO путем образования ковалентной связи с ферментом. Неограничивающие типовые ингибиторы IDO включают индоксимод (New Link Genetics), INCB024360 (Incyte Corp.), 1-метил-D-триптофан (New Link Genetics) и GDC-0919 (Genentech, Inc.).

[0133] «Т-клеточная терапия химерным антигенным рецептором» или «CAR-T-терапия» относится к терапевтическому агенту, содержащему Т-клетку, генетически модифицированную для экспрессии рецептора, который распознает антиген, экспрессируемый опухолевой клеткой. Антиген может представлять собой антиген, специфически экспрессируемый опухолью, или антиген, экспрессируемый как раковыми клетками, так и здоровой тканью. В некоторых вариантах осуществления CAR-T-терапия представляет собой адаптивную CAR-T-терапию, в которой Т-клетки пациента удаляются и модифицируются для экспрессии химерного антигенного рецептора, а затем возвращаются пациенту. См., например, Dai et al., 2016, *J Natl Cancer Inst*, 108 (7): djv439, doi: 10.1093/jnci/djv439; Gill et al., 2015, *Blood Rev*, pii: S0268-960X(15)00080-6, doi: 10.1016/j.blre.2015.10.003; Gill et al., 2015, *Immunol Rev*, 263(1):68-89. doi: 10.1111/imr.12243.

[0134] Введение «в комбинации с» одним или более дополнительными терапевтическими агентами включает одновременное (совместное) и последующее или последовательное введение в любом порядке.

[0135] Термин «одновременно» используется в данном документе для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда по меньшей мере часть введения перекрывается во времени или когда введение одного терапевтического агента происходит в течение короткого периода времени относительно введения другого терапевтического агента. Например, два или более терапевтических агента вводят с временным интервалом не более чем около определенного количества минут.

[0136] Термин «последовательно» используется в настоящем документе для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда введение одного или более агента продолжается после прекращения введения одного или более других агентов, или когда введение одного или более агента начинается до введения одного или более других агентов. Например, введение двух или более терапевтических агентов вводят с временным разделением, превышающим определенное количество минут.

[0137] Используемый в настоящем документе термин «в сочетании с» относится к применению одного способа лечения в дополнение к другому способу лечения. Таким образом, «в сочетании с» относится к применению одного способа лечения до, во время или после применения другого способа лечения для индивидуума.

[0138] Термин «инструкция по применению лекарственного препарата» 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 терапевтических продуктов.

[0139] «Готовое изделие» представляет собой любое изделие (например, упаковку или контейнер) или набор, содержащий по меньшей мере один реагент, например, лекарственное средство для лечения заболевания или нарушения (например, злокачественного новообразования), или зонд для специфического обнаружения биомаркера, описанного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления готовое изделие или набор рекламируются, распространяются или продаются как единица для выполнения способов, описанных в настоящем документе.

[0140] Термины «метка» и «обнаруживаемая метка» обозначают фрагмент, присоединенный к антителу или его аналиту для обнаруживаемой реакции (например, связывание) между членами пары специфического связывания. Меченый член пары специфического связывания относится к «обнаруживаемому меченному». Таким образом, термин «меченый связывающий белок» относится к белку с внедренной меткой, которая обеспечивает идентификацию связывающего белка. В некоторых вариантах осуществления метка представляет собой обнаруживаемый маркер, который может продуцировать сигнал, который можно обнаружить с помощью визуальных или инструментальных средств, например, включения радиоактивно меченной аминокислоты или присоединения к полипептиду биотинильных фрагментов, которые могут быть обнаружены с помощью маркированного авидина (например, стрептавидин, содержащий флуоресцентный маркер или ферментативную активность, которая может быть обнаружена оптическими или колориметрическими способами). Примеры меток для полипептидов включают, без ограничения, следующее: радионуклиды или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{177}Lu , ^{166}Ho или ^{153}Sm); хромофены, флуоресцентные метки (например, FITC, родамин, лантанидные люминофоры), ферментативные метки (например, пероксидаза хрена, люцифераза, щелочная фосфатаза); хемилюминесцентные маркеры; биотинильные группы; предварительно определенные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновой молнии, сайты связывания вторичных антител, домены связывания металлов, эпитопные метки); и магнитные агенты, такие как хелаты гадолиния. Типичные примеры меток, обычно применяемых для иммуноанализов, включают фрагменты, которые продуцируют свет, например, соединения акридиния,

и фрагменты, которые продуцируют флуоресценцию, например флуоресцеин. В связи с этим сам фрагмент может быть не обнаруживаемо помечен, но может стать обнаруживаемым при реакции с еще одним фрагментом.

[0141] Термин «конъюгат» относится к антителу, которое химически связано со вторым химическим фрагментом, таким как терапевтический или цитотоксический агент. Термин «агент» включает химическое соединение, смесь химических соединений, биологическую макромолекулу или экстракт, полученный из биологических материалов. В некоторых вариантах осуществления терапевтические или цитотоксические агенты включают, без ограничения, коклюшный токсин, таксол, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, дауномицин, дигидрокси антрацин дион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромидин, и их аналоги или гомологи. При применении в контексте иммуноанализа конъюгатное антитело может представлять собой обнаруживаемо меченое антитело, применяемое в качестве детектирующего антитела.

II. Антитела к CCR8

[0142] Предложены новые антитела, направленные против CCR8. Антитела к CCR8 включают, без ограничения, гуманизированные антитела, химерные антитела, мышинные антитела, антитела человека и антитела, содержащие CDR тяжелой цепи и/или легкой цепи, обсуждаемые в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предложено выделенное антитело, которое связывается с CCR8. В некоторых вариантах осуществления предложено моноклональное антитело, которое связывается с CCR8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 представляет собой антагонистическое антитело к CCR8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8, предложенное в настоящем документе, ингибирует связывание CCR8 с CCL1. В некоторых вариантах осуществления введение антител к CCR8, описанных в настоящем документе, снижает инфильтрацию клеток Трег при злокачественном новообразовании у субъекта. В некоторых вариантах осуществления введение антител к CCR8 по настоящему изобретению лечит гемобластоз, который экспрессирует CCR8.

[0143] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

[0144] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29.

[0145] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 36; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38; (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0146] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53.

[0147] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79; (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0148] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR, выбранных из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0149] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и по меньшей мере одну легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит две тяжелые цепи, причем каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи и по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи, и две легкие цепи, причем каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи и по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В контексте настоящего документа считается, что одноцепочечный Fv (scFv) или любое другое антитело, которое содержит, например, одну полипептидную цепь, содержащую все шесть CDR (три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи), имеет тяжелую цепь и легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой область антитела к CCR8, которое содержит три CDR тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь представляет собой область антитела к CCR8, которое содержит три CDR легкой цепи.

[0150] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит шесть CDR, включая (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; (b) HCDR2, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; (с) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (е) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

[0151] В некоторых вариантах осуществления, антитело к CCR8 содержит шесть CDR, включая (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (с) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; (е) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29.

[0152] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит шесть CDR, включая (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; (с) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; (е) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0153] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит шесть CDR, включая (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; (с) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51; (е) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53.

[0154] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит шесть CDR, включая (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78; (с) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; (е) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0155] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит шесть CDR, включая (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (с) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (е) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0156] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит шесть CDR, как описано выше, и связывается с CCR8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит шесть CDR, как описано выше, и связывается с CCR8 и ингибирует связывание CCR8 с CCL1. В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит шесть CDR, как описано выше, и связывается с CCR8 и усиливает иммунный ответ у субъекта и/или увеличивает активацию Т-клеток у субъекта после введения антитела субъекту.

[0157] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CCR8, которое конкурирует с антителом к CCR8, описанным в настоящем документе, за связывание с CCR8. В некоторых вариантах

осуществления, антитело, которое конкурирует за связывание с любым из антител, предложенных в настоящем документе, может быть получено и/или применено.

[0158] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

[0159] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26.

[0160] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38.

[0161] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50.

[0162] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79.

[0163] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; и (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

[0164] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VL, выбранные из (a) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (b) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (c) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

[0165] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VL, выбранные из (a) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; (b) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и (c) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29.

[0166] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VL, выбранные из (a) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; (b) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40; и (c) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0167] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VL, выбранные из (a) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51; (b) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; и (c) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53.

[0168] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VL, выбранные из (a) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; (b) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и (c) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0169] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VL, выбранные из (a) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (b) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; и (c) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0170] В некоторых вариантах осуществления любой из шести CDR, предложенных в настоящем документе, может быть объединен в качестве составных участков с любым из других CDR, предложенных в настоящем документе, для получения в общей сложности шести CDR в конструкции. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления два CDR от первого антитела (например, HCDR1 и HCDR2) могут быть скомбинированы с четырьмя CDR от второго антитела (HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3). В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков в одной или более CDR могут быть заменены для получения их варианта. В некоторых вариантах осуществления два или менее остатков могут быть заменены в 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR.

[0171] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (I) домен VH, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14; и (II) домен VL, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL CDR, выбранные из (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17.

[0172] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (I) домен VH, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26; и (II) домен VL, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL CDR, выбранные из (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 27; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 28; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29.

[0173] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (I) домен VH, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38; и (II) домен VL, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL CDR, выбранные из (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 41.

[0174] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (I) домен VH, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 49; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 50; и (II) домен VL, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL CDR, выбранные из (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 51; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 53.

[0175] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (I) домен VH, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79; и (II) домен VL, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL CDR, выбранные из (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0176] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (I) домен VH, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности CDR VH, выбранные из (a) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; и (II) домен VL, содержащий по меньшей мере одну, по меньшей мере две или все три последовательности VL CDR, выбранные из (d) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (e) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; и (f) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0177] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 или 74. В некоторых вариантах осуществления последовательность VH, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связывания с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10

аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 68 или 74. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 68 или 74, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

[0178] В некоторых вариантах осуществления VH содержит: (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78; (c) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79.

[0179] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92 или 96. В некоторых вариантах осуществления последовательность VH, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связывания с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 92 или 96. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 92 или 96, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

[0180] В некоторых вариантах осуществления VH содержит: (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100; (b) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86.

[0181] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CCR8, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи (VL), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или 75. В некоторых вариантах осуществления последовательность VL, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связывания с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 69 или 75. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 69 или 75, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

[0182] В некоторых вариантах осуществления VL содержит: (a) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; (b) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и (c) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0183] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CCR8, причем антитело содержит переменный домен легкой цепи (VL), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93 или 97. В некоторых вариантах осуществления последовательность VL, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например,

консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связывания с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 93 или 97. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 93 или 97, включая посттрансляционные модификации этой последовательности.

[0184] В некоторых вариантах осуществления VL содержит: (a) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (b) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; и (c) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0185] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 или 74, и переменный домен легкой цепи (VL), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или 75. В некоторых вариантах осуществления последовательность VH, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, и последовательность VL, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связываться с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 68 или 74. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 69 или 75. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65.

[0186] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 68 или 74, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей, и содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 69 или 75, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

[0187] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи (VH), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92 или 96, и переменный домен легкой цепи (VL), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93 или 97. В некоторых вариантах осуществления последовательность VH,

имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, и последовательность VL, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связывания с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 92 или 96. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 93 или 97. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (а) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0188] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 92 или 96, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей, и содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 93 или 97, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

[0189] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит VH, как в любом из вариантов осуществления, предложенных в настоящем документе, и VL, как в любом из вариантов осуществления, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности VH и VL в SEQ ID NO: 68 или 74 и SEQ ID NO: 69 или 75, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности VH и VL в SEQ ID NO: 92 или 96 и SEQ ID NO: 93 или 97, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

[0190] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CCR8, причем антитело содержит тяжелую цепь (HC), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или 76. Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность HC в SEQ ID NO: 70 или 76, включая посттрансляционные модификации.

[0191] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CCR8, причем антитело содержит HC, имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94 или 98. Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность HC в SEQ ID NO: 94 или 98, включая посттрансляционные модификации.

[0192] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CCR8, причем антитело содержит легкую цепь (LC), имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или 77. Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность LC в SEQ ID NO: 71 или 77, включая посттрансляционные модификации.

[0193] В некоторых вариантах осуществления предложено антитело к CCR8, причем антитело содержит LC, имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 95 или 99. Необязательно, антитело к CCR8 содержит последовательность LC в SEQ ID NO: 95 или 99, включая посттрансляционные модификации.

[0194] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит HC, как в любом из вариантов осуществления, предложенных в настоящем документе, и LC, как в любом из вариантов осуществления, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности HC и LC в SEQ ID NO: 70 или 76 и SEQ ID NO: 71 или 77, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательности HC и LC в SEQ ID NO: 94 или 98 и SEQ ID NO: 95 или 99, соответственно, включая посттрансляционные модификации этих последовательностей.

[0195] В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, которые конкурируют с антителами к CCR8, предложенными в настоящем документе, за связывание с CCR8. В некоторых вариантах осуществления антитела конкурируют с антителами к CCR8, предложенными в настоящем документе, за связывание с эпитопом на CCR8.

[0196] В некоторых вариантах осуществления конкурентные анализы можно применять для идентификации моноклонального антитела, которое конкурирует с антителом к CCR8, описанным в настоящем документе (например, 1-K16, 1-K17, 6-B09, 7-B16, 13-E16 и/или 19-O07) за связывание с CCR8. Конкурентные анализы можно применять для определения того, связывают ли два антитела один и тот же эпитоп, распознавая идентичные или стерически перекрывающиеся эпитопы, или одно антитело конкурентно ингибирует связывание другого антитела с антигеном. В некоторых вариантах осуществления такое конкурирующее антитело связывается с тем же эпитопом, что и антитело, описанное в настоящем документе. Примеры конкурентных анализов включают, без ограничения, рутинные анализы, такие как представленные в Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.). Подробное описание иллюстративных способов картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлено в Morris (1996) «*Epitope Mapping Protocols*,» in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, N.J.). В некоторых вариантах осуществления считается, что два антитела связываются с одним и тем же эпитопом, если каждое из них блокирует связывание другого на 50% или более. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое конкурирует с антителом к CCR8, описанным в настоящем документе, представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с химерным, гуманизированным или человеческим антителом к CCR8, как описано в настоящем документе.

[0197] Кроме того, в настоящем описании также предложены варианты описанных выше антител, такие как варианты антитела 7-B16. Например, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложено выделенное антитело, которое связывает CCR8 человека, причем указанное антитело содержит HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 86, или вариант SEQ ID NO: 86, содержащий 1, 2 или 3 мутации, и при этом антитело связывается с CCR8 человека и имеет активность ADCC. В некоторых вариантах осуществления мутация представляет собой замену (например, консервативную или неконсервативную замену), делецию или вставку. В некоторых вариантах осуществления 1, 2 или 3 мутации расположены в по меньшей мере одном из аминокислотных положений 1-4, 6, 7 или 12 в SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления замена представляет собой консервативную замену. В некоторых вариантах осуществления консервативная замена

находится в аминокислотном положении 1, 4 или 12 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления замена представляет собой неконсервативную замену. В некоторых вариантах осуществления неконсервативная замена находится в аминокислотном положении 7 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере 2 замены в HCDR3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 замены расположены в по меньшей мере одном из аминокислотных положений 1–4, 6, 7 или 12 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 замены представляют собой консервативные замены. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из консервативных замен находится в аминокислотном положении 1, 4 или 12 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 замены представляют собой неконсервативные замены. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из неконсервативных замен находится в аминокислотном положении 7 SEQ ID NO: 86. В некоторых вариантах осуществления мутации включают консервативную замену и неконсервативную замену, когда присутствует более одной мутации по типу замены. В некоторых вариантах осуществления в описании предложено выделенное антитело, которое связывает CCR8 человека, причем указанное антитело содержит HCDR3, который имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с SEQ ID NO: 86, и при этом антитело связывается с CCR8 человека и имеет активность ADCC. В некоторых вариантах осуществления HCDR3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 86 и любой из SEQ ID NO: 104–119. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 84 или SEQ ID NO: 123. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 85 или SEQ ID NO: 124. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 87 или SEQ ID NO: 120. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 88 или SEQ ID NO: 121. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 89 или SEQ ID NO: 122. В некоторых вариантах осуществления активность ADCC включает значение EC₅₀ менее 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, или 1 нг/мл при измерении с помощью репортерного биоанализа на основании механизма действия ADCC (MOA), такого как репортерный анализ Promega, описанный в примере 7 ниже. В некоторых вариантах осуществления активность ADCC является более сильной, чем активность антитела 7-B16. В некоторых вариантах осуществления активность ADCC по меньшей мере такая же, как у антитела 7-B16. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет K_D для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16 (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA)). В некоторых вариантах осуществления антитело имеет K_D на клетке для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16 (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA)). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает уничтожение клеток. В некоторых вариантах осуществления усиленное уничтожение клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой афукозилирование. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой одну или более мутаций константных областей тяжелой цепи в одном или более положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298, Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций константной области тяжелой цепи представляют собой одну или более мутаций, выбранных из S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L. В некоторых вариантах осуществления одна или более мутаций

константной области тяжелой цепи выбраны из: F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, S298A/E333A/K334A, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A и D270E/K326D/A330M/K334E. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна модификация представляет собой галактозилирование. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает CCR8 человека с аффинностью (K_D) (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (например, KinExA)) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее 100 пМ, или менее 75 пМ, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ. В некоторых вариантах осуществления антитело связывает CCR8 человека с аффинностью на клетке (K_D) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее более 100 пМ, или менее 75, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ, как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3. Такие варианты можно применять в способах лечения злокачественного новообразования, включая как гемобластозы, так и солидные опухоли.

[0198] В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, которые связываются с любым одним или более эпитопами, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предложены антитела, которые связываются и перекрываются с эпитопом, с которым связываются настоящие антитела. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с по меньшей мере одним из антител, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с по меньшей мере двумя антителами, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предложено антитело, которое конкурирует с по меньшей мере тремя антителами, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с перекрывающимся эпитопом, как антитело, описанное в приведенных в настоящем документе примерах. В некоторых вариантах осуществления весь эпитоп связывается и/или блокируется конкурирующим антителом. В некоторых вариантах осуществления часть эпитопа связана и/или блокируется конкурирующим антителом. В некоторых вариантах осуществления паратоп конкурирующего антитела связывается с по меньшей мере частью эпитопа антитела, предложенного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления паратоп конкурирующего антитела связывается с мишенью, а другой участок структуры конкурирующего антитела блокирует по меньшей мере часть эпитопа антитела, предложенного в настоящем документе.

Иллюстративные химерные антитела

[0199] В некоторых вариантах осуществления антитело, предложенное в настоящем документе, представляет собой химерное антитело. Некоторые химерные антитела описаны, например, в патенте США № 4,816,567; и Morrison et al., (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). В одном примере химерное антитело содержит нечеловеческую вариабельную область (например, вариабельную область, полученную от мыши, крысы, хомяка, кролика или отличного от человека примата, такого как обезьяна) и человеческую константную область. В дополнительном примере химерное антитело представляет собой антитело с «переключенным классом», в котором класс или подкласс был изменен по сравнению с исходным антителом. Химерные антитела включают их антигенсвязывающие фрагменты.

[0200] Неограничивающие примеры химерных антител включают химерные антитела, содержащие переменные области тяжелой и/или легкой цепи антитела, выбранного, например, из антител 1-K16, 1-K17, 6-B09, 7-B16, 13-E16 и 19-O07, как описано в настоящем документе. Дополнительные неограничивающие примеры химерных антител включают химерные антитела, содержащие CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, выбранного из антител 1-K16, 1-K17, 6-B09, 7-B16, 13-E16 и 19-O07, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело к CCR8 содержит переменные области, описанные выше, и связывается с CCR8. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело к CCR8 содержит переменные области, описанные выше, связывается с CCR8 и ингибирует связывание CCR8 с CCL1. В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит переменные области, описанные выше, связывается с CCR8 и усиливает иммунный ответ у субъекта и/или увеличивает активацию Т-клеток у субъекта после введения антитела субъекту. В некоторых вариантах осуществления введение антител к CCR8, описанных в настоящем документе, стимулирует активность иммунной клетки, снижает модуляцию иммунной клетки или усиливает Т-клеточный ответ у субъекта.

[0201] В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем документе, содержит одну или более константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG, IgD и IgE. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область человеческого IgG4 и легкую цепь к человеку.

[0202] Как отмечено выше, необходима эффекторная функция или нет, может зависеть от конкретного способа лечения, выбранного для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают химерное антитело к CCR8, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция нежелательна, выбирают химерное антитело к CCR8, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления желательна усиленная эффекторная функция.

Иллюстративные гуманизированные антитела

[0203] В некоторых вариантах осуществления предложены гуманизированные антитела, которые связывают CCR8. Гуманизированные антитела целесообразно применять в качестве терапевтических молекул, поскольку гуманизированные антитела снижают или устраняют иммунный ответ человека по сравнению с нечеловеческими антителами, что может привести к иммунному ответу на терапевтическое антитело (например, образованию человеческих антимышиных антител (HAMA)) и снижению эффективности терапии.

[0204] В некоторых вариантах осуществления химерное антитело представляет собой гуманизированное антитело. Как правило, антитело нечеловеческого происхождения гуманизируют с целью снижения иммуногенности для человека, сохраняя при этом специфичность и аффинность исходного антитела нечеловеческого происхождения. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более

вариабельных доменов, в которых CDR (или их части) получают из нечеловеческого антитела, а FR (или их части) получают из последовательностей человеческих антител. Гуманизированное антитело необязательно также будет содержать по меньшей мере часть человеческой константной области. В некоторых вариантах осуществления некоторые остатки FR в гуманизированном антителе замещены соответствующими остатками нечеловеческого антитела (например, антитела, из которого получены остатки CDR), например, для восстановления или улучшения специфичности или аффинности антитела.

[0205] Гуманизированные антитела и способы их получения рассмотрены, например, в Almagro and Fransson, (2008) *Front. Biosci.* 13: 1619-1633, и дополнительно описаны, например, в Riechmann *et al.*, (1988) *Nature* 332:323-329; Queen *et al.*, (1989) *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86: 10029-10033; Патенты США №№ 5,821,337, 7,527,791, 6,982,321 и 7,087,409; Kashmiri *et al.*, (2005) *Methods* 36:25-34; Padlan, (1991) *Mol. Immunol.* 28:489-498 (где описано «изменение поверхности»); Dall'Acqua *et al.*, (2005) *Methods* 36:43-60 (где описана «перетасовка FR»); и Osbourn *et al.*, (2005) *Methods* 36:61-68 и Klimka *et al.*, (2000) *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (где описан подход «направленного отбора» к перетасовке FR).

[0206] Каркасные области человека, которые можно применять для гуманизации, включают, без ограничения: каркасные области, выбранные с помощью способа «наилучшего соответствия» (см., например, Sims *et al.* (1993) *J. Immunol.* 151:2296); каркасные области, полученные из консенсусной последовательности человеческих антител определенной подгруппы вариабельных областей легкой или тяжелой цепи (см., например, Carter *et al.* (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; и Presta *et al.* (1993) *J. Immunol.* 151:2623); зрелые каркасные области человека (соматически мутированные) или каркасные области зародышевой линии человека (см., например, Almagro and Fransson, (2008) *Front. Biosci.* 13:1619-1633); и каркасные области, полученные из скрининга библиотек FR (см., например, Vasa *et al.*, (1997) *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684 и Rosok *et al.*, (1996) *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618).

[0207] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело к CCR8 содержит последовательность вариабельного домена тяжелой цепи (VH), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 или 74, и вариабельный домен легкой цепи (VL), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или 75. В некоторых вариантах осуществления последовательность VH, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, и последовательность VL, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связывания с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 68 или 74. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 69 или 75. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (а) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 60; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 61, 72 или 78; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 73 или 79; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 63; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет активность ADCC. В некоторых вариантах осуществления активность ADCC включает значение EC50 менее 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 нг/мл при измерении с помощью репортерного биоанализа на основе механизма действия ADCC (MOA). В некоторых вариантах осуществления активность ADCC является более сильной, чем активность антитела 7-B16. В некоторых вариантах осуществления активность ADCC по меньшей мере такая же, как у антитела 7-B16. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет K_D для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16 (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA)). В некоторых вариантах осуществления антитело имеет K_D на клетке для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16 (как определено, например, с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA)).

[0208] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело к CCR8 содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 68 или 74, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей, и содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 69 или 75, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

[0209] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело к CCR8 содержит последовательность варибельного домена тяжелой цепи (VH), которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92 или 96, и варибельный домен легкой цепи (VL), имеющий по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93 или 97. В некоторых вариантах осуществления последовательность VH, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, и последовательность VL, имеющая по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности, содержит замены (например, консервативные замены), вставки или делеции относительно эталонной последовательности, но антитело к CCR8, содержащее эту последовательность, сохраняет способность связывания с CCR8. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 92 или 96. В некоторых вариантах осуществления было заменено, вставлено и/или удалено в общей сложности от 1 до 10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в SEQ ID NO: 93 или 97. В некоторых вариантах осуществления замены, вставки или делеции происходят в областях за пределами CDR (то есть в FR). В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 содержит (a) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100; (b) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85; (c) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86; (d) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; (e) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88; и (f) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.

[0210] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело к CCR8 содержит последовательность VH в SEQ ID NO: 92 или 96, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей, и содержит последовательность VL в SEQ ID NO: 93 или 97, включая посттрансляционные модификации одной или обеих последовательностей.

[0211] Примеры гуманизированных антител к CCR8 включают антитела, которые конкурируют за связывание с CCR8 с антителом или его фрагментом, описанным в настоящем документе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложено гуманизированное антитело к CCR8, которое конкурирует за связывание с CCR8 с антителом или его фрагментом, выбранным из антител 1-K16, 1-K17, 6-B09, 7-B16, 13-E16 и 19-O07. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело к CCR8 конкурирует за связывание с CCR8 с антителом, описанным в настоящем документе, и ингибирует связывание CCR8 с CCL1. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело к CCR8 конкурирует за связывание с CCR8 с антителом, описанным в настоящем документе.

Иллюстративные человеческие антитела

[0212] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8, предложенное в настоящем документе, представляет собой человеческое антитело. Человеческие антитела могут быть получены с помощью различных способов, известных в данной области. Человеческие антитела по существу описаны в van Dijk and van de Winkel, (2001) *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-374 и Lonberg, (2008) *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело не представляет собой встречающееся в природе антитело. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело представляет собой моноклональное антитело; таким образом, в некоторых вариантах осуществления каждое из антител человека в наборе может связываться с одним и тем же эпитопом на антигене.

[0213] Антитела человека можно получить путем введения иммуногена трансгенному животному, модифицированному с целью продукции интактных антител человека или интактных антител с человеческими переменными областями в ответ на антигенную стимуляцию. Такие животные обычно содержат все или часть локусов иммуноглобулинов человека, которые заменяют эндогенные локусы иммуноглобулинов, или которые присутствуют вне хромосом, или интегрируются случайным образом в хромосомы животного. У таких трансгенных мышей эндогенные локусы иммуноглобулинов обычно инактивируют. Обзор способов получения антител человека из трансгенных животных см. в Lonberg, (2005) *Nat. Biotech.* 23: 1117-1125. См. также, например, патенты США № 6,075,181 и 6,150,584, в которых описана технология XENOMOUSE™; патент США № 5,770,429, в котором описана технология HUMAB®, патент США № 7,041,870, в котором описана технология K-M MOUSE®, и публикацию заявки на патент США № US 2007/0061900, в которой описана технология VELOCIMOUSE®). Человеческие переменные области из интактных антител, образованных такими животными, могут дополнительно модифицироваться, например, путем объединения с разными человеческими консервативными областями.

[0214] Антитела человека также можно получать при помощи способов на основе гибридом. Описаны линии клеток миеломы человека и гетеромиеломы мыши и человека для продуцирования моноклональных антител человека. (См., например, Kozbor (1984) *J. Immunol.*, 133: 3001; Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); и Boerner *et al.*, (1991) *J. Immunol.*, 147:86). Человеческие антитела, полученные с помощью технологии человеческой В-клеточной гибридомы, также описаны в Li *et al.*, (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562. Дополнительные способы включают способы, описанные, например, в патенте США № 7,189,826 (описывающем получение моноклональных антител-IgM человека из линий гибридомных клеток) и Ni, (2006) *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (описывающей гибридомы человек-человек). Технология с применением человеческих гибридом (технология Trioma) также описана в Vollmers and Brandlein, (2005) *Histology and Histopathology*,

20(3):927-937 (2005) и Vollmers and Brandlein, (2005) *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3): 185-191.

[0215] Человеческие антитела также можно получать путем выделения последовательностей переменного домена клона Fv из библиотек фагового дисплея человеческого происхождения. Такие последовательности переменного домена можно затем объединять с требуемым константным доменом человека. Методы отбора человеческих антител из библиотек антител описаны ниже.

[0216] Антитела могут быть выделены путем скрининга комбинаторных библиотек антител с необходимой активностью или свойствами. Например, в данной области техники известно множество способов получения библиотек фагового дисплея и скрининга таких библиотек в отношении антител, обладающих необходимыми связывающими характеристиками. Такие способы рассмотрены, например, в Hoogenboom *et al.* in *Methods in Molecular Biology* 178: 1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) и дополнительно описаны, например, в McCafferty *et al.*, (1990) *Nature* 348:552-554; Clackson *et al.*, (1991) *Nature* 352: 624-628; Marks *et al.*, (1992) *J. Mol. Biol* 222: 581-597; Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu *et al.*, (2004) *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310; Lee *et al.*, (2004) *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093; Fellouse, (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472; и Lee *et al.*, (2004) *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 и публикацию PCT WO 99/10494.

[0217] В некоторых способах фагового дисплея репертуары генов V_H и V_L отдельно клонируют при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР) и повторно комбинируют случайным образом в фаговых библиотеках, которые затем можно подвергнуть скринингу на антигенсвязывающий фаг, как описано в Winter *et al.*, (1994) *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455. Фаг, как правило, представляет фрагменты антител как одноцепочечные фрагменты Fv (scFv) или как фрагменты Fab. Библиотеки из иммунизированных источников позволяют получить антитела с высокой аффинностью к иммуногену без необходимости конструирования гибридом. Альтернативно, можно клонировать наивный репертуар (например, от человека), чтобы обеспечить единый источник человеческих антител к широкому диапазону несобственных, а также собственных антигенов без какой-либо иммунизации, как описано в публикации Griffiths *et al.*, (1993) *EMBO J* 12:725-734. и наконец, наивные библиотеки также можно создавать синтетически, путем клонирования неперестроенных V-генных сегментов из стволовых клеток и применения ПЦР-праймеров, содержащих случайную последовательность, для кодирования высоковариабельных областей CDR3 и для осуществления перестройки *in vitro*, как описано в Hoogenboom and Winter (1992), *J. Mol. Biol.*, 227:381-388. Патентные публикации, в которых описаны фаговые библиотеки антител человека, включают, например: патент США № 5,750,373, и публикации патентов США №№ 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 и 2009/0002360.

[0218] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело к CCR8 связывается с CCR8 и ингибирует связывание CCR8 с CCL1.

[0219] Примеры человеческих антител к CCR8 также включают антитела, которые конкурируют за связывание с CCR8 с человеческим антителом или его фрагментом, описанным в настоящем документе. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления предложено человеческое антитело к CCR8, которое конкурирует за связывание с CCR8 с антителом или его фрагментом, выбранным из антител 1-K16, 1-K17, 6-B09, 7-B16, 13-E16 и 19-O07. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело к CCR8 конкурирует за связывание с CCR8 с антителом, описанным в настоящем документе, и ингибирует связывание CCR8 с CCL1.

[0220] В некоторых вариантах осуществления предложено химерное человеческое антитело к CCR8, причем антитело содержит вариабельную область человеческого антитела, которое связывает CCR8, и константную область другого человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления предложено химерное человеческое антитело к CCR8, причем антитело содержит CDR человеческого антитела, которое связывает CCR8, и каркас другого человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело не представляет собой встречающееся в природе человеческое антитело.

[0221] В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело к CCR8 содержит одну или более константных областей человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG, IgD и IgE. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область IgG4 человека и легкую цепь κ человека.

[0222] В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают человеческое антитело к CCR8, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция нежелательна, выбирают человеческое антитело к CCR8, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека.

[0223] Как указано в настоящем документе, термин «человеческое антитело» обозначает род возможных последовательностей конструкции антитела, а не источник антитела.

II. Слитые белки

[0224] В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в настоящем документе, содержит CCL1 или активный фрагмент CCL1. «Активный фрагмент» CCL1 в настоящем контексте относится к фрагменту CCL1, который связывает CCR8. Специалист обычной квалификации в данной области может идентифицировать активный фрагмент CCL1, который связывает CCR8. В некоторых вариантах осуществления активный фрагмент CCL1 связывает CCR8 с аффинностью, которая на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95% выше, чем аффинность нативного CCL1 к CCR8. Во избежание сомнений, аффинность, которая на по меньшей мере 50% сильнее аффинности в 1 нМ, составляет 2 нМ или менее. Специалист обычной квалификации в данной области может определить аффинность активного фрагмента CCL1 к CCR8 и сравнить ее с аффинностью нативного CCL1 к CCR8. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в настоящем документе, содержит SEQ ID NO: 2 или аминокислоты 24–96 SEQ ID NO: 2.

[0225] В некоторых вариантах осуществления слитый белок, содержащий CCL1 или его активный фрагмент, содержит область Fc, такую как область Fc, предложенную в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает гибель клеток. В некоторых таких вариантах осуществления усиленная гибель клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В настоящем документе предложены неограничивающие примеры модификаций, которые усиливают гибель клеток, и включают, например, афукозилирование.

[0226] В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в настоящем документе, содержит MC148 или активный фрагмент MC148. «Активный фрагмент» MC148 в контексте настоящего документа относится к фрагменту MC148, который связывает CCR8. Специалист в данной области может идентифицировать активный фрагмент MC148, который связывает CCR8. В некоторых вариантах осуществления активный фрагмент MC148 связывает CCR8 с аффинностью, которая на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или на по меньшей мере 95% выше, чем аффинность нативного MC148 к CCR8. Во избежание сомнений, аффинность, которая на по меньшей мере 50% сильнее аффинности в 1 нМ, составляет 2 нМ или менее. Специалист в данной области может определить аффинность активного фрагмента MC148 к CCR8 и сравнить ее с аффинностью нативного MC148 к CCR8. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в настоящем документе, содержит SEQ ID NO: 2 или аминокислоты 24–96 SEQ ID NO: 2.

[0227] В некоторых вариантах осуществления слитый белок, содержащий MC148 или его активный фрагмент, содержит область Fc, такую как область Fc, предложенную в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления область Fc содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает гибель клеток. В некоторых таких вариантах осуществления усиленная гибель клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). В настоящем документе предложены неограничивающие примеры модификаций, которые усиливают гибель клеток, и включают, например, афукозилирование.

III. Примеры константных областей и областей Fc антител

[0228] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит одну или более человеческих константных областей. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи человека относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG, IgD и IgE. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область IgG человека. В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают антитело к CCR8, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция нежелательна, человеческое антитело к CCR8, содержащее константную область тяжелой цепи IgG4 или IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления константная область легкой цепи человека имеет изотип, выбранный из κ и λ . В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в настоящем документе, содержит константную область IgG1 человека и легкую цепь к человека.

[0229] В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в настоящем документе, содержит одну или более областей Fc человека. В некоторых вариантах осуществления область Fc относится к изотипу, выбранному из IgA, IgG, IgD и IgE. В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в настоящем документе, содержит область Fc человека. В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают слитый белок, содержащий область Fc IgG1 человека или область Fc IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда эффекторная функция нежелательна, выбирают слитый белок, содержащий область Fc IgG4 или IgG2 человека.

[0230] В настоящем описании и формуле изобретения, если явно не указано или не известно специалисту в данной области, нумерация остатков в тяжелой цепи иммуноглобулина соответствует индексу EU

в соответствии с номенклатурой Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), содержание которой специально включено в настоящий документ путем ссылки. «Индекс EU в соответствии с Kabat» относится к нумерации остатков EU антитела IgG1 человека.

[0231] Как отмечено выше, необходима эффекторная функция или нет, может зависеть от конкретного способа лечения, выбранного для антитела. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают антитело к CCR8, содержащее константную область тяжелой цепи IgG1 человека или константную область тяжелой цепи IgG3 человека. В некоторых вариантах осуществления, когда желательна эффекторная функция, выбирают слитый белок, содержащий область Fc IgG1 человека или область Fc IgG3 человека.

[0232] В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок содержит вариант области Fc, имеющий по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с областью Fc IgG дикого типа. В некоторых вариантах осуществления вариант области Fc имеет две или более аминокислотных замен по сравнению с областью Fc дикого типа. В некоторых вариантах осуществления вариант области Fc имеет три или более аминокислотных замен по сравнению с областью Fc дикого типа. В некоторых вариантах осуществления вариант области Fc имеет по меньшей мере одну, две или три или более аминокислотных замен области Fc, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления вариантная область Fc в настоящем документе будет обладать по меньшей мере около 80% гомологией с областью Fc с нативной последовательностью и/или с областью Fc исходного полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант области Fc в настоящем документе будет обладать по меньшей мере приблизительно 90% гомологией с областью Fc с нативной последовательностью и/или с областью Fc исходного полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант области Fc в настоящем документе будет обладать по меньшей мере около 95% гомологией с областью Fc с нативной последовательностью и/или с областью Fc исходного полипептида. В некоторых вариантах осуществления в константной области тяжелой цепи или области Fc отсутствует С-концевой остаток лизина (K). В некоторых таких вариантах осуществления константная область тяжелой цепи или область Fc могут обозначаться как «desK». В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи или область Fc, в которой отсутствует С-концевой лизин, представляет собой IgG, такой как IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[0233] В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок, предложенные в настоящем документе, изменены для увеличения или уменьшения степени гликозилирования антитела. Добавление или удаление сайтов гликозилирования в антителе легко осуществить путем изменения аминокислотной последовательности, приводящего к созданию или удалению одного или более сайтов гликозилирования.

[0234] Углевод, присоединенный к области Fc, может быть изменен. Нативные антитела, вырабатываемые клетками млекопитающих, как правило, содержат разветвленный, биантеннальный олигосахарид, который в общем случае присоединен посредством N-линкера к Asn297 домена CH2 области Fc. См., например, Wright *et al.* *TIBTECH* 15:26-32 (1997). Олигосахарид может включать различные углеводы, например, маннозу, N-ацетилглюкозамин (GlcNAc), галактозу и сиаловую кислоту, а также фукозу, присоединенную к GlcNAc в «стволе» биантеннальной олигосахаридной структуры. В некоторых вариантах осуществления модификации олигосахарида в антителе или слитом белке могут быть выполнены для создания вариантов антител с определенными улучшенными свойствами.

[0235] В некоторых вариантах осуществления предложены варианты антитела или слитого белка, имеющие углеводную структуру, в которой отсутствует фукоза, присоединенная (прямо или косвенно) к области Fc (т. е.

афукозилированная). Например, количество фукозы в таких вариантах может составлять от 1% до 80%, от 1% до 65%, от 5% до 65% или от 20% до 40%. Количество фукозы определяют, рассчитывая среднее количество фукозы в сахарной цепи Asn297 относительно общего количества гликоструктур, присоединенных к Asn297 (например, комплексных, гибридных или содержащих большое количество маннозы структур), согласно данным масс-спектрометрии MALDI-TOF, как описано, например, в WO 2008/077546. Asn297 относится к остатку аспарагина, расположенному примерно в положении 297 в области Fc (нумерация EU остатков области Fc); однако Asn297 также может быть расположен примерно на ± 3 аминокислоты выше или ниже положения 297, то есть между положениями 294 и 300, из-за незначительных вариаций последовательности в антителах. Такие фукозилированные варианты могут обладать улучшенной функцией ADCC. См., например, публикации патентов США №№ US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Примеры публикаций, связанных с «дефукозилированными» или «фукозодефицитными» вариантами антитела включают: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki *et al. J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki *et al. Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Примеры линий клеток, способных вырабатывать дефукозилированные антитела, включают клетки CHO Lec13 с дефицитом фукозилирования белка (Ripka *et al. Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); заявка на патент США № US 2003/0157108 A1, Presta, L.; и WO 2004/056312 A1, Adams *et al.*, особенно в примере 11), и нокаутные линии клеток, такие как нокаутные клетки CHO по гену альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8 (см., например, Yamane-Ohnuki *et al. Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004); Kanda, Y. *et al., Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006); и WO2003/085107).

[0236] Дополнительно предложены варианты антитела и слитого белка с разделенными пополам олигосахаридами, например, в которых биантеннальный олигосахарид, присоединенный к области Fc антитела, разделен пополам с помощью GlcNAc. Такие варианты антител или слитых белков могут иметь сниженное фукозилирование и/или улучшенную функцию ADCC. Примеры таких вариантов описаны, например, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et al.*); патент США № 6,602,684 (Umana *et al.*); и US 2005/0123546 (Umana *et al.*). Также предлагаются варианты с по меньшей мере одним остатком галактозы в олигосахариде, присоединенном к области Fc. Такие варианты могут иметь улучшенную функцию CDC. Такие варианты описаны, например, в WO 1997/30087 (Patel *et al.*); WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

[0237] Варианты антитела или области Fc обеспечены мутациями Fc, которые повышают активность ADCC. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела или области Fc содержит одну или более мутаций, которые усиливают связывание FcγRIIIa и/или снижают связывание FcγRIIIb. Неограничивающие примеры таких мутаций могут быть выполнены в одном или более аминокислотных положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298, Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396. Неограничивающие иллюстративные мутации включают L234Y, L235Q, G236W, S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела или области Fc содержит мутации F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L. См., например, Stavenhagen *et al.*, 2007, *Cancer Res.* 67:8882-8890. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела или области Fc содержит мутации S239D/I332E или S239D/I332E/A330L. См., например, Lazar *et al.*, 2006, *PNAS USA*, 103: 4005-4010. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела или области Fc содержит мутации S298A/E333A/K334A. См., например, Shields *et al.*, 2001, *J. Biol. Chem.*, 276: 6591-6604. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела

или области Fc содержит мутации L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A или мутации D270E/K326D/A330M/K334E, или одну константную область тяжелой цепи, или Fc содержит мутации L234Y/L235Q/G236W./S239M/H268D/D270E/S298A и другую константную область тяжелой цепи, или Fc содержит мутации D270E/K326D/A330M/K334E. См., например, Mimoto et al., 2013, *MAbs*, 5:229-236.

[0238] Также предложены варианты антитела и области Fc с аминоконцевыми лидерными удлинениями. Например, один или более аминокислотных остатков аминоконцевой лидерной последовательности присутствуют на аминоконце любой одной или более тяжелых или легких цепей антитела. Иллюстративное аминоконцевое лидерное удлинение содержит или состоит из трех аминокислотных остатков VHS, присутствующих в одной или обеих легких цепях варианта антитела.

[0239] *In vivo* или период полужизни полипептидов в сыворотке, связывающих с высокой аффинностью человеческий FcRn, можно проанализировать, например, у трансгенных мышей, у людей или у отличных от человека приматов, которым вводят полипептиды с вариантом области Fc. См. также, например, Petkova et al. *International Immunology* 18(12):1759-1769 (2006).

[0240] В некоторых вариантах осуществления антитело или вариант области Fc опосредует ADCC в присутствии эффекторных клеток человека более эффективно, чем исходное антитело. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела или области Fc значительно более эффективен в опосредовании ADCC *in vitro*, когда количество варианта полипептида и количество исходного антитела или области Fc, применяемые в анализе, по существу одинаковы. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела или области Fc значительно более эффективен в опосредовании ADCC *in vivo*, когда количество варианта полипептида и количество исходного антитела или области Fc, применяемые в анализе, по существу одинаковы. По существу такие полипептиды можно обнаружить с применением анализа ADCC *in vitro*, описанного в настоящем документе, однако можно также применять другие анализы или способы определения активности ADCC, например модель на животных и т. д.

IV. Иллюстративные конъюгаты

[0241] В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок, предложенные в настоящем документе, конъюгированы с другой молекулой. В некоторых вариантах осуществления дополнительная молекула может представлять собой обнаруживаемый маркер, такой как метка. В некоторых вариантах осуществления дополнительная молекула может представлять собой терапевтическую молекулу, такую как цитотоксический агент. В некоторых вариантах осуществления метка и/или цитотоксический агент могут быть конъюгированы с антителом или слитым белком, предложенными в настоящем документе. Используемый в настоящем документе термин «метка» представляет собой фрагмент, облегчающий обнаружение антитела или слитого белка и/или облегчающий обнаружение молекулы, с которой связывается антитело или слитый белок. Неограничивающие примеры меток включают, без ограничения, радиоизотопы, флуоресцентные группы, ферментные группы, хемилюминесцентные группы, биотин, эпитопные метки, метки, связывающие металлы, и т. д. Специалист в данной области может выбрать подходящую метку в соответствии с конкретным применением.

[0242] В контексте данного документа цитотоксический агент представляет собой фрагмент, который уменьшает пролиферативную способность одной или более клеток. Клетка обладает пониженной пролиферативной способностью, когда клетка становится менее способной к пролиферации, например, потому что клетка подвергается апоптозу или иным образом умирает, клетка не может пройти через клеточный цикл и/или не может делиться, клетка дифференцируется и т. д. Неограничивающие типичные

цитотоксические агенты включают, но не ограничиваются ими, радиоизотопы, токсины и химиотерапевтические агенты. Специалист в данной области может выбрать подходящий цитотоксический агент в соответствии с предполагаемым применением. В некоторых вариантах осуществления цитотоксическое средство представляет собой по меньшей мере одно из антиметаболитов, алкилирующих агентов, антибиотиков, факторов роста, цитокинов, антиангиогенных средств, антимиотических средств, антрациклинов, токсинов или апоптотического средства.

[0243] В некоторых вариантах осуществления метка и/или цитотоксический агент конъюгированы с антителом или слитым белком, предложенными в настоящем документе, с помощью химических способов *in vitro*. Неограничивающие иллюстративные химические способы конъюгации известны в данной области и включают услуги, способы и/или реагенты, коммерчески доступные, например, от Thermo Scientific Life Science Research Productions (ранее Pierce; г. Рокфорд, штат Иллинойс, США), Prozyme (г. Хэйворд, штат Калифорния, США), SACRI Antibody Services (г. Калгари, Канада), AbD Serotec (г. Роли, штат Северная Каролина, США) и т. п. В некоторых вариантах осуществления, когда метка и/или цитотоксический агент представляет собой полипептид, метка и/или цитотоксический агент могут быть экспрессированы из одного и того же вектора экспрессии с по меньшей мере одной цепью антитела или слитым белком с получением полипептида, содержащего метку и/или цитотоксический агент, которые слиты с антителом или слитым белком. Специалист в данной области может выбрать подходящий способ конъюгирования метки и/или цитотоксического агента с антителом или слитым белком в соответствии с предполагаемым применением.

[0244] В некоторых вариантах осуществления конъюгация может быть ковалентной. В некоторых вариантах осуществления конъюгация может быть нековалентной. В некоторых вариантах осуществления конъюгация может осуществляться посредством специфического связывающего взаимодействия, например посредством связывания вторичного антитела.

[0245] Иллюстративный вариант осуществления конъюгата, содержащего лекарственное средство (или производное лекарственного средства) и антитело или слитый белок, как описано в настоящем документе, может иметь общую формулу 1:



где линкер представляет собой расщепляемый или нерасщепляемый линкер, мкАт представляет собой антитело или слитый белок, описанные в настоящем документе, а лекарственное средство представляет собой любое лекарственное средство или цитотоксический агент.

[0246] В некоторых вариантах осуществления конъюгат может иметь общую формулу 2:

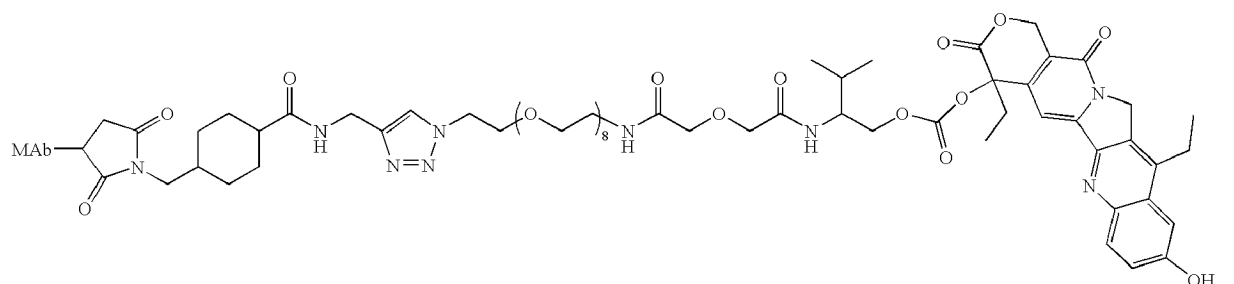


где мкАт представляет собой антитело или слитый белок, описанные в настоящем документе; L2 представляет собой сшивающий агент, содержащий связывающий антитело фрагмент и одну или более ацетиленовых (или азидных) групп; L1 содержит определенный ПЭГ с азидом (или ацетиленом) на одном конце, комплементарным ацетиленовому (или азидному) фрагменту в L2, и реакционноспособной группой, такой как карбоксильная или гидроксильная группа, на другом конце; AA представляет собой L-аминокислоту; m представляет собой целое число со значениями 0, 1, 2, 3 или 4; и A' представляет собой дополнительный спейсер, выбранный из группы, состоящей из этаноламина, 4-гидроксibenзильного спирта, 4-аминобензильного спирта или замещенного или незамещенного этилендиамина. L-аминокислоты AA' выбрано из аланина, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, цистеина, глутамина, глутаминовой кислоты, глицина, гистидина, изолейцина, лейцина, лизина, метионина, фенилаланина, пролина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина. Если

группа A' содержит гидроксил, она связана с гидроксильной группой или аминогруппой лекарственного средства в форме карбоната или карбамата, соответственно.

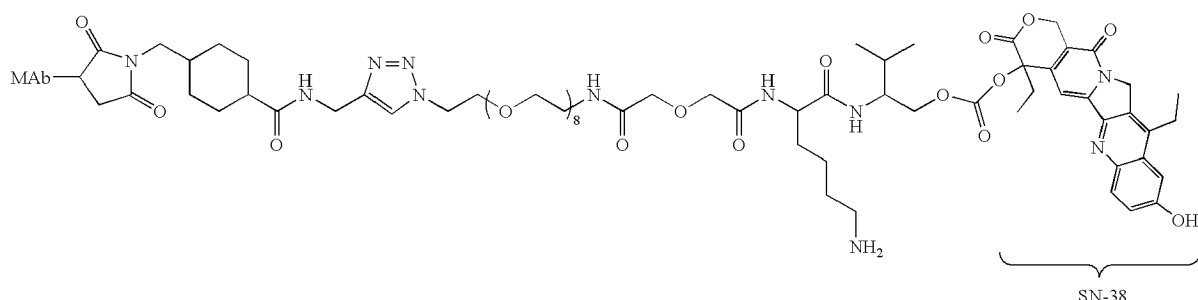
[0247] В некоторых вариантах осуществления формулы 2 A' представляет собой замещенный этаноламин, полученный из L-аминокислоты, причем карбоксильная группа аминокислоты заменена гидроксиметильным фрагментом. A' может быть получен из любой из следующих L-аминокислот: аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, цистеин, глутамин, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, пролин, серин, треонин, триптофан, тирозин и валин.

[0248] В примере конъюгата по такому варианту осуществления формулы 2 m равен 0, A' представляет собой L-валинол, и примером лекарственного средства является SN-38. Результирующая структура показана в формуле 3.



(3)

[0249] В еще одном примере конъюгата по данному варианту осуществления формулы 2 m равен 1 и представлен дериватизированным L-лизином, A' представляет собой L-валинол, и примером лекарственного средства является SN-38. Структура показана в формуле 4.



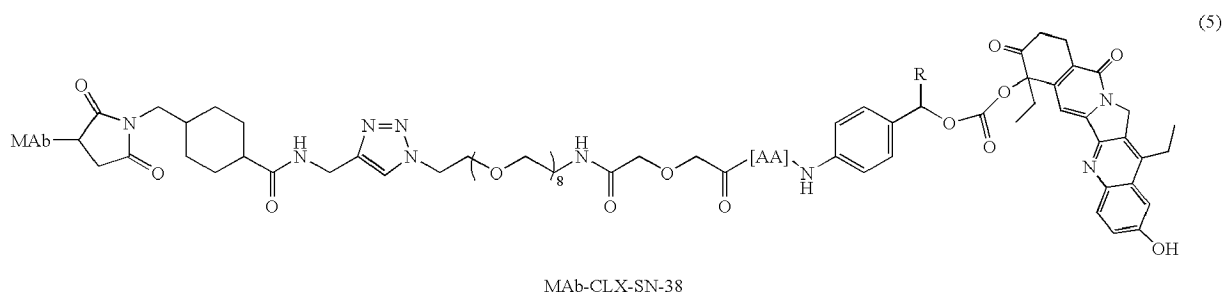
(4)

[0250] В этом варианте осуществления сначала образуется амидная связь между карбоновой кислотой аминокислоты, такой как лизин, и аминогруппой валинола с применением ортогональных защитных групп для аминогрупп лизина. Защитную группу на N-конце лизина удаляют, сохраняя защитную группу на боковой цепи лизина нетронутой, и N-конец соединяется с карбоксильной группой на определенном ПЭГ с азидом (или ацетиленом) на другом конце. Затем гидроксильная группа валинола присоединяется к 20-хлорформатному производному 10-гидроксизащищенного SN-38, и это промежуточное соединение соединяется с компонентом L2, несущим нацеливающий вектор-связывающий фрагмент, а также группу комплементарного ацетилена (или азиды), участвующую в химии клик-циклоприсоединения. Наконец, удаление защитных групп как на боковой цепи лизина, так и на SN-38 дает продукт по этому примеру, показанный в формуле 3.

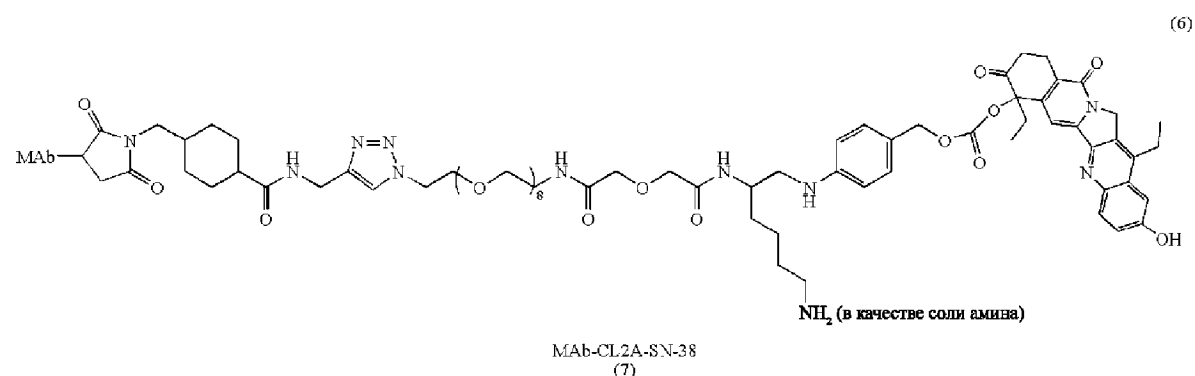
[0251] Не желая быть связанным теорией, продукт SN-38 с малой молекулярной массой, а именно валинол-SN-38 карбонат, образующийся после внутриклеточного протеолиза, имеет дополнительный путь высвобождения интактного SN-38 посредством внутримолекулярной циклизации с участием аминогруппы валинола и карбонила карбоната.

[0252] В другом варианте осуществления A' общей формулы 2 представляет собой A-OH, где A-OH представляет собой разрушаемый фрагмент, такой как 4-аминобензиловый спирт или замещенный 4-аминобензиловый спирт, замещенный C₁-C₁₀ алкильной группой в бензильном положении, и последний через свою аминогруппу присоединен к L-аминокислоте или полипептиду, содержащему до четырех групп L-аминокислот; где N-конец присоединен к сшивающему агенту, оканчивающемуся в группе связывания нацеливающего фрагмента.

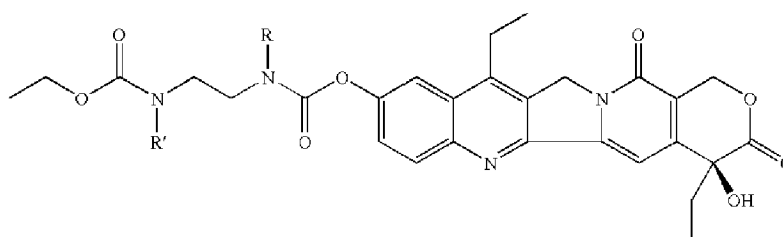
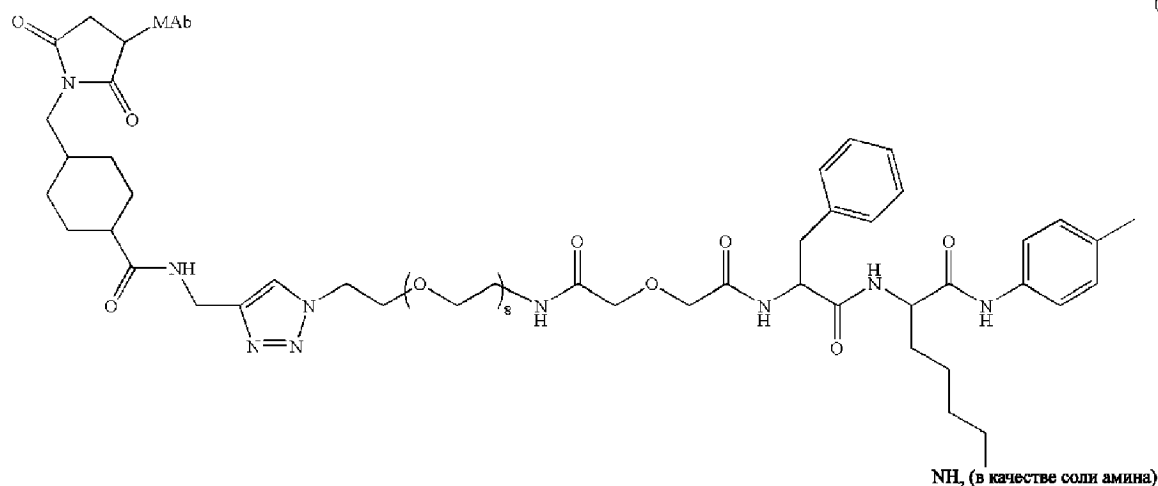
[0253] Пример такого варианта осуществления приведен ниже, где вариант осуществления A-OH соединения A' общей формулы (2) получен из замещенного 4-аминобензинового спирта, а «AA» состоит из одной L-аминокислоты с m=1 в общей формуле (2), а примером лекарственного средства является SN-38. Структура представлена ниже (формула 5, обозначаемая как MAb-CLX-SN-38). Одна аминокислота AA выбрана из любой из следующих L-аминокислот: аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, цистеин, глутамин, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, пролин, серин, треонин, триптофан, тирозин и валин. Заместитель R в фрагменте 4-аминобензинового спирта (вариант осуществления A-OH A') представляет собой водород или алкильную группу, выбранную из C₁-C₁₀ алкильных групп.



[0254] Вариант осуществления MAb-CLX-SN-38 формулы 5, где единственная аминокислота AA представляет собой L-лизин, R=H, а примером лекарственного средства является SN-38 (формула 6; обозначаемый как MAb-CL2A-SN-38).



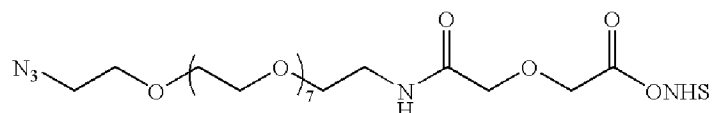
[0255] Другие варианты осуществления возможны в контексте камптотецинов, содержащих 10-гидроксигруппы, таких как SN-38. В примере с SN-38 в качестве лекарственного средства более реакционноспособная 10-гидроксильная группа лекарственного средства дериватизована, оставляя незатронутой 20-гидроксильную группу. В общей формуле 2 A' представляет собой замещенный этилендиамин. Пример этого варианта осуществления представлен формулой «7» ниже, где фенольная гидроксильная группа SN-38 дериватизирована в виде карбамата с замещенным этилендиамином, а другой амин диамина дериватизирован в виде карбамата с 4-аминобензиловым спиртом, и аминогруппа последнего присоединена к дипептиду Phe-Lys. В этой структуре (формула 7) R и R' независимо представляют собой водород или метил. Его называют MAb-CL17-SN-38 или MAb-CL2E-SN-38, когда R=R'=метил.



[0256] В некоторых вариантах осуществления АА содержит полипептидную часть, такую как ди-, три- или тетрапептид, которая расщепляется внутриклеточной пептидазой. Примерами являются: Ala-Leu, Leu-Ala-Leu и Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 129; Trouet et al., 1982).

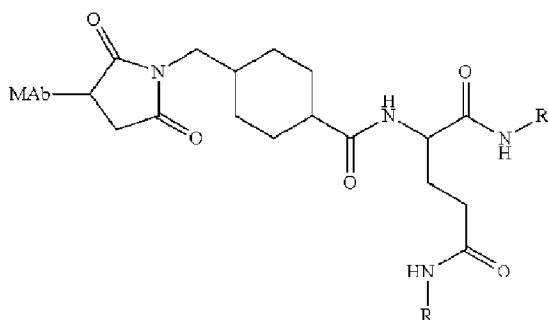
[0257] В некоторых вариантах осуществления компонент конъюгата L1 содержит определенный спейсер из полиэтиленгликоля (ПЭГ) с 1–30 повторяющимися мономерными звеньями. В другом варианте осуществления ПЭГ представляет собой определенный ПЭГ с 1–12 повторяющимися мономерными звеньями. Введение ПЭГ может включать применение гетеробифункционализированных производных ПЭГ, которые имеются в продаже. Гетеробифункциональный ПЭГ может содержать азидную или ацетиленовую группу. Пример гетеробифункционального определенного ПЭГ, содержащего 8 повторяющихся мономерных звеньев, где «NHS» означает сукцинимидил, приведен ниже в формуле 8:

(8)

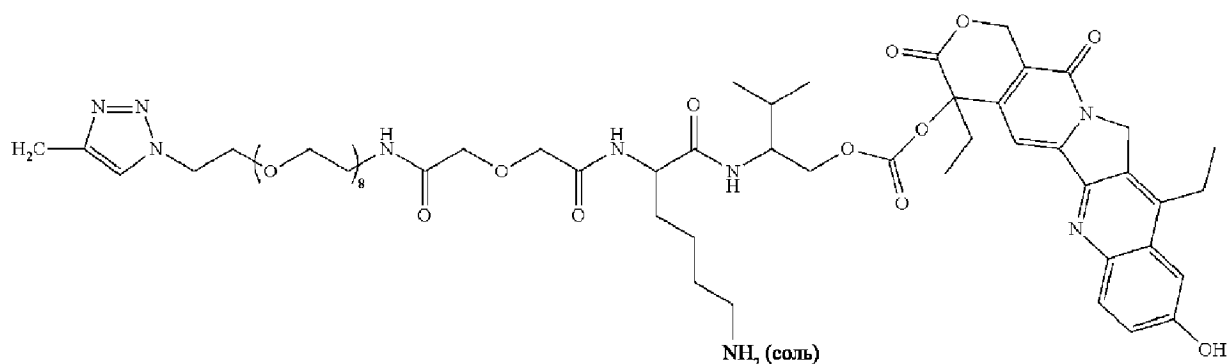


[0258] В некоторых вариантах осуществления L2 имеет множество ацетиленовых (или азидных) групп в диапазоне от 2 до 40, но предпочтительно от 2 до 20 и более предпочтительно от 2 до 5, и один нацеливающий вектор-связывающий фрагмент.

[0259] Типичный конъюгат антитела SN-38, содержащий несколько молекул лекарственного средства и один фрагмент, связывающийся с нацеливающим вектором, показан ниже. Компонент «L2» этой структуры присоединен к 2 ацетиленовым группам, что приводит к присоединению двух молекул SN-38, присоединенных к азиду. Связывание с MAb представлено в виде сукцинимидила.



где остаток R представляет собой:



[0260] В некоторых вариантах осуществления, когда бифункциональное лекарственное средство содержит реакционноспособный в отношении тиола фрагмент в качестве группы, связывающей антитело, тиолы на антителе образуются на лизиновых группах антитела с помощью тиолирующего реагента. Способы введения тиоловых групп в антитела путем модификации лизиновых групп мкАт хорошо известны в данной области (Wong in *Chemistry of protein conjugation and cross-linking*, CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla. (1991), pp 20-22). Альтернативно, умеренное уменьшение межцепочечных дисульфидных связей на антителе (Willner et al., *Bioconjugate Chem.* 4:521-527 (1993)) с помощью восстанавливающих агентов, таких как дитиотреитол (ДТТ), может образовывать от 7 до 10 тиолов на антителе; преимуществом которого является встраивание множества фрагментов лекарственного средства в межцепочечную область мкАт вдали от антигенсвязывающей области.

[0261] В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтический компонент выбран из группы, состоящей из доксорубина (DOX), эпирубина, морфолинодоксорубина (морфолино-DOX), цианоморфолино-доксорубина (цианоморфолино-DOX), 2-пирролино-доксорубина (2-PDOX), CPT, 10-гидроксикамптотецина, SN-38, топотекана, луртотекана, 9-аминокамптотецина, 9-нитрокамптотецина, таксанов, гелданамицина, ансамицинов и эпотилонов. В еще одном варианте осуществления химиотерапевтический фрагмент представляет собой SN-38. Предпочтительно в конъюгатах по некоторым вариантам осуществления нацеливающий фрагмент связан с по меньшей мере одним химиотерапевтическим фрагментом; предпочтительно от 1 до около 12 химиотерапевтических фрагментов; наиболее предпочтительно от около 6 до около 12 химиотерапевтических фрагментов.

[0262] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления линкерный компонент «L2» содержит тиоловую группу, которая взаимодействует с реакционноспособным в отношении тиола остатком, введенным в одну или более аминогрупп боковой цепи лизина указанного нацеливающего фрагмента. В таких случаях антитело может быть предварительно дериватизировано реакционноспособной в отношении

тиол группой, такой как малеимид, винилсульфон, бромацетамид или йодацетамид, с помощью процедур, хорошо описанных в данной области.

Иллюстративные лидерные последовательности

[0263] Для экспрессии и секреции некоторых секретируемых белков в больших количествах может потребоваться лидерная последовательность из гетерологичного белка. В некоторых вариантах осуществления применение гетерологичных лидерных последовательностей может быть выгодным, поскольку полученный зрелый полипептид может оставаться неизменным, поскольку лидерная последовательность удаляется в ER в процессе секреции. Добавление гетерологичной лидерной последовательности может быть полезным для экспрессии и секреции некоторых белков.

[0264] Некоторые иллюстративные последовательности лидерных последовательностей описаны, например, в онлайн базе данных лидерных последовательностей, поддерживаемой Департаментом биохимии Национального университета Сингапура. См. Choo *et al.*, *BMC Bioinformatics*, 6: 249 (2005); и публикацию РСТ № WO 2006/081430.

V. Экспрессия и продуцирование полипептидов

Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие антитела или слитые белки

[0265] В настоящем документе предложены молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют одну или более цепей антитела к CCR8. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь или легкую цепь антитела к CCR8. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит как полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, так и полинуклеотид, который кодирует легкую цепь антитела к CCR8. В некоторых вариантах осуществления первая молекула нуклеиновой кислоты содержит первый полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, а вторая молекула нуклеиновой кислоты содержит второй полинуклеотид, который кодирует легкую цепь.

[0266] В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются из одной молекулы нуклеиновой кислоты или из двух отдельных молекул нуклеиновой кислоты в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления, например, когда антитело представляет собой scFv, один полинуклеотид кодирует один полипептид, содержащий как тяжелую цепь, так и легкую цепь, связанные вместе.

[0267] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела к CCR8, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует по меньшей мере одну из CDR, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела к CCR8, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует по меньшей мере 3 из CDR, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела к CCR8, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует по меньшей мере 6 из CDR, предложенных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или легкую цепь антитела к CCR8, содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует лидерную последовательность, которая при трансляции находится на N-конце тяжелой цепи или легкой цепи. Как обсуждалось выше, лидерная последовательность может быть нативной лидерной последовательностью тяжелой или легкой цепи или может быть другой гетерологичной лидерной последовательностью.

[0268] В настоящем документе предложены молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие полинуклеотиды, кодирующие слитый белок. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий слитый белок, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность, которая при трансляции расположена на N-конце слитого белка. Лидерная последовательность может представлять собой нативную лидерную последовательность или может представлять собой другую гетерологичную лидерную последовательность.

[0269] В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой нуклеиновую кислоту, которая кодирует любую из аминокислотных последовательностей антител и слитых белков в таблице последовательностей в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой нуклеиновую кислоту, которая имеет по меньшей мере 80% идентичности с нуклеиновой кислотой, кодирующей любую из аминокислотных последовательностей антител и слитых белков в таблице последовательностей в настоящем документе, например имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой нуклеиновую кислоту, которая гибридизуется с любой одной или более последовательностями нуклеиновой кислоты, предложенными в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления гибридизацию проводят в умеренных условиях. В некоторых вариантах осуществления гибридизацию проводят в очень строгих условиях, например: по меньшей мере примерно 6X SSC и 1% SDS при 65°C с первой промывкой в течение 10 минут при температуре около 42°C с около 20% (об./об.) формамида в 0,1X SSC и с последующей промывкой 0,2 X SSC и 0,1% SDS при 65°C.

[0270] Молекулы нуклеиновой кислоты могут быть сконструированы с помощью методов рекомбинантной ДНК, общепринятых в данной области. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты представляет собой вектор экспрессии, который подходит для экспрессии в выбранной клетке-хозяине.

[0271] Предложены векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи анти-CCR8 и/или легкие цепи анти-CCR8. Также предложены векторы, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют тяжелые цепи анти-CCR8 и/или легкие цепи анти-CCR8. Такие векторы включают, без ограничения, ДНК-векторы, фаговые векторы, вирусные векторы, ретровирусные векторы и т. д. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит первую полинуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, и вторую полинуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются из вектора в виде двух отдельных полипептидов. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь и легкая цепь экспрессируются в виде части одного полипептида, например, как в случае, когда антитело представляет собой scFv.

[0272] В некоторых вариантах осуществления первый вектор содержит полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь, а второй вектор содержит полинуклеотид, который кодирует легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления первый вектор и второй вектор трансфицируют в клетки-хозяев в сходных количествах (таких как сходные молярные количества или сходные массовые количества). В некоторых вариантах осуществления молярное или массовое соотношение между 5:1 и 1:5 первого вектора и второго вектора трансфицируют в клетки-хозяев. В некоторых вариантах осуществления используется массовое соотношение между 1:1 и 1:5 для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь. В некоторых вариантах осуществления применяют массовое соотношение 1:2 для вектора, кодирующего тяжелую цепь, и вектора, кодирующего легкую цепь.

[0273] Предложены векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие слитые белки. Такие векторы включают, без ограничения, ДНК-векторы, фаговые векторы, вирусные векторы, ретровирусные векторы и т. д.

[0274] В некоторых вариантах осуществления выбран вектор, который оптимизирован для экспрессии полипептидов в клетках CHO или клетках, полученных из CHO, или в клетках NSO. Примеры таких векторов описаны, например, в Running Deer *et al.*, *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004).

Клетки-хозяева

[0275] В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок, предложенные в настоящем документе, могут быть экспрессированы в прокариотических клетках, таких как бактериальные клетки, или в эукариотических клетках, таких как грибные клетки (такие как дрожжи), растительные клетки, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Такая экспрессия может проводиться, например, в соответствии с процедурами, известными в данной области. Примеры эукариотических клеток, которые можно применять для экспрессии полипептидов, включают, без ограничений, клетки COS, включая клетки COS 7; клетки 293, включая клетки 293-6E; клетки CHO, включая CHO-S, DG44, клетки Lec13 CHO, и клетки FUT8 CHO; клетки PER.C6® (Crucell); и клетки NSO. В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок, предложенные в настоящем документе, могут быть экспрессированы в дрожжах. См., например, публикацию США № US 2006/0270045 A1. В некоторых вариантах осуществления конкретная эукариотическая клетка-хозяин выбрана на основании ее способности производить требуемые посттрансляционные модификации антитела или слитого белка, предложенных в настоящем документе. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки CHO продуцируют полипептиды, которые имеют более высокий уровень синалирования, чем тот же полипептид, продуцируемый в клетках 293.

[0276] Введение одной или более нуклеиновых кислот в требуемую клетку-хозяина может быть осуществлено любым способом, включая, без ограничения, трансфекцию фосфатом кальция, трансфекцию, опосредованную DEAE-декстраном, трансфекцию, опосредованную катионными липидами, электропорацию, трансдукцию, инфекцию и т. д. Неограничивающие примеры способов описаны, например, в Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Нуклеиновые кислоты могут быть временно или стабильно трансфицированы в требуемые клетки-хозяев в соответствии с любым подходящим способом.

[0277] Также предложены клетки-хозяева, содержащие любой из полинуклеотидов или векторов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления предложена клетка-хозяин, содержащая антитело или слитый белок. Любые клетки-хозяева, способные сверхэкспрессировать гетерологичные ДНК, можно применять для выделения генов, кодирующих представляющие интерес антитела, полипептиды или белки. Неограничивающие примеры клеток-хозяев млекопитающих включают, без ограничения, клетки COS, HeLa и CHO. См. также публикацию PCT № WO 87/04462. Подходящие клетки-хозяева, не относящиеся к млекопитающим, включают прокариоты (такие как *E. coli* или *B. subtilis*) и дрожжи (такие как *S. cerevisiae*, *S. pombe*; или *K. lactis*).

Очистка полипептидов

[0278] Антитела и слитые белки, предложенные в настоящем документе, могут быть очищены любым подходящим способом. Такие способы включают, без ограничения, применение аффинных матриц или хроматографию с гидрофобным взаимодействием. Подходящие аффинные лиганды включают ВКД ROR1 и лиганды, которые связывают константные области антител. Например, для связывания константной

области или области Fc и для очистки антитела или слитого белка можно применять колонку с белком А, белком G, белком A/G или колонку с иммобилизованными антителами. Хроматография с гидрофобным взаимодействием, например, бутильная или фенильная колонка, также может подходить для очистки некоторых полипептидов. Ионообменная хроматография (например, анионообменная хроматография и/или катионообменная хроматография) также может подходить для очистки некоторых полипептидов. Смешанная хроматография (например, обращенно-фазовая/анионообменная, обращенно-фазовая/катионообменная, гидрофильное взаимодействие/анионообменная, гидрофильное взаимодействие/катионообменная и т. д.) также может подходить для очистки некоторых полипептидов. В данной области известны многие способы очистки полипептидов.

Бесклеточное продуцирование полипептидов

[0279] В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок получают в бесклеточной системе. Неограничивающие 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).

Композиции

[0280] В некоторых вариантах осуществления предложены антитела или слитые белки, полученные способами, описанными выше. В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок получают в клетке-хозяине. В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок получают в бесклеточной системе. В некоторых вариантах осуществления антитело или слитый белок очищают. В некоторых вариантах осуществления предложена среда для культивирования клеток, содержащая антитело или слитый белок. В некоторых вариантах осуществления предложена жидкость культуры клетки-хозяина, содержащая антитело или слитый белок.

[0281] В некоторых вариантах осуществления предложены композиции, содержащие антитела или слитые белки, полученные способами, описанными выше. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело или слитый белок, полученные в клетке-хозяине. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело или слитый белок, полученные в бесклеточной системе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит очищенное антитело или слитый белок.

[0282] В некоторых вариантах осуществления предложена композиция, содержащая антитело или слитый белок в концентрации более чем около любого из следующих значений: 10 мг/мл, 20 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл, 50 мг/мл, 60 мг/мл, 70 мг/мл, 80 мг/мл, 90 мг/мл, 100 мг/мл, 125 мг/мл, 150 мг/мл, 175 мг/мл, 200 мг/мл, 225 мг/мл или 250 мг/мл.

VI. Терапевтические композиции и способы

Способы лечения заболеваний с помощью антител или слитых белков

[0283] Антитела (например, 7-B16, 1-K17 и т.д.) и слитые белки и композиции, содержащие антитела и слитые белки, предложены для применения в способах лечения людей или животных. В настоящем документе также предложены фармацевтические и терапевтические варианты применения описанных антител и слитых белков. Также предложены способы лечения заболеваний и фармацевтические/терапевтические варианты применения, включающие введение антител и слитых белков, предложенных в настоящем документе. Неограничивающие иллюстративные заболевания, которые

можно лечить с помощью антител и слитых белков, предложенных в настоящем документе, включают, без ограничения, злокачественное новообразование.

[0284] В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования (или терапевтического/фармацевтического применения раскрытых антител или слитых белков) включает введение субъекту со злокачественным новообразованием эффективного количества антитела (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.) или слитого белка, представленного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой солидное злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз (т. е. рак крови). В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование включает инфильтрирующие опухоль регуляторные Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал терапию ингибиторами контрольных точек (CPI) или имеет CPI-резистентного или рефрактерного злокачественного новообразования, так как многие субъекты с CPI-резистентным или рефрактерным злокачественным новообразованием будут иметь повышенные уровни внутриопухолевых Трег. В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелимумаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование содержит клетки, которые экспрессируют CCR8 (например, CCR8-экспрессирующие Трег). Экспрессию CCR8 можно определить, например, с помощью иммуногистохимии, сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), анализа экспрессии генов (такого как кПЦР или ОТ-ПЦР), вестерн-блоттинга, ИФА или других известных способов оценки экспрессии на генетическом или белковом уровне. В некоторых вариантах осуществления клетки, которые экспрессируют CCR8, представляют собой клетки Трег (например, внутриопухолевые Трег), и в некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии CCR8 таких внутриопухолевых Трег повышен по сравнению с периферическими Трег. В некоторых вариантах осуществления CCR8 экспрессируется на поверхности регуляторных Т-клеток в количестве менее 10 000 копий на клетку, что можно определить, например, с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), и проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование содержит опухолевые клетки, которые экспрессируют CCR8. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег экспрессируют на поверхности клетки менее 10 000 копий CCR8 на клетку.

[0285] В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование может быть метастатическим. В некоторых вариантах осуществления, когда злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы, рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы (т. е. TNBC). В некоторых вариантах осуществления, когда злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы, рак молочной железы представляет собой метастатический TNBC.

[0286] В некоторых вариантах осуществления способ лечения солидного злокачественного новообразования с инфильтрирующими опухоль Трег, которые экспрессируют CCR8, включает введение субъекту со злокачественным новообразованием эффективного количества антитела (например, 7-B16, 1-K17

и т. д.) или слитого белка, предложенного в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления инфильтрирующие опухоль Трег экспрессируют CCR8 на уровнях, которые повышены по сравнению с уровнями экспрессии CCR8 периферических Трег. Экспрессию CCR8 можно определить, например, с помощью иммуногистохимии, сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS), анализа экспрессии генов (такого как кПЦР или ОТ-ПЦР), вестерн-блоттинга, ИФА или других известных способов оценки экспрессии на генетическом или белковом уровне. В некоторых вариантах осуществления солидное злокачественное новообразование может быть выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы.

[0287] В некоторых вариантах осуществления способ лечения гемобластоза (или терапевтического/фармацевтического применения) включает введение субъекту с гемобластозом эффективного количества антитела (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), которое связывает CCR8 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует связывание CCL1 с CCR8. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз экспрессирует CCR8. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал терапию ингибиторами контрольных точек (CPI) или имеет CPI-резистентного или рефрактерное злокачественное новообразование, так как многие субъекты с CPI-резистентным или рефрактерным злокачественным новообразованием будут иметь повышенные уровни CCR8-экспрессирующих Трег. В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз включает клетки, которые экспрессируют CCR8 (например, CCR8-экспрессирующие Трег). В некоторых вариантах осуществления клетки, которые экспрессируют CCR8, представляют собой регуляторные Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз может быть метастатическим.

[0288] В некоторых вариантах осуществления способ или применение выбора субъекта с гемобластозом для лечения антителом, которое связывает CCR8 человека, включает определение экспрессии CCR8 в образце от субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ или применение дополнительно включает введение эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека.

[0289] В некоторых вариантах осуществления способ лечения гемобластоza (или терапевтического/фармацевтического применения) включает введение субъекту с гемобластозом эффективного количества слитого белка. В некоторых вариантах осуществления способ выбора субъекта с гемобластозом для лечения слитым белком, содержащим (a) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc, включает определение экспрессии CCR8 в образце от субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение эффективного количества слитого белка, содержащего (a) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз экспрессирует CCR8. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал терапию ингибиторами контрольных точек (CPI) или имеет CPI-резистентного или рефрактерное злокачественное новообразование, так как многие субъекты с CPI-резистентным или рефрактерным злокачественным новообразованием будут иметь повышенные уровни CCR8-экспрессирующих Трег. В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1

выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; антитело к CLTA4 представляет собой ипилимумаб или тремелимуаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз включает клетки, которые экспрессируют CCR8 (например, CCR8-экспрессирующие Трег). В некоторых вариантах осуществления клетки, которые экспрессируют CCR8, представляют собой регуляторные Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления Трег экспрессируют CCR8 в количестве менее 10 000 копий на клетку, что можно определить, например, с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) и проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег экспрессируют на поверхности клетки менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег в образце, полученном из опухоли, экспрессируют менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз может быть метастатическим.

[0290] В некоторых вариантах осуществления гемобластоз представляет собой В- и Т-клеточный смешанный лейкоз, В-клеточную лимфому, хронический миелоидный лейкоз (CML), хронический миеломоноцитарный лейкоз, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBC), лимфому, мантийно-клеточную лимфому (MCL), множественную миелому, миелодиспластические синдромы (MDS), миелопролиферативные заболевания, периферическую Т-клеточную лимфому, Т-клеточный лейкоз, острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфолейкоз (CLL), мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (SLL), CLL/SLL, зрелые Т-клеточную и NK-клеточную лимфомы, фолликулярную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), Т-клеточный острый лимфолейкоз (TALL), Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, кожную Т-клеточную лимфому (CTCL), Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых (ATLL), Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому (TLLL), ангиоимунобластную Т-клеточную лимфому (ATCL), гепатолиенальную Т-клеточную лимфому (HTCL), периферическую Т-клеточную лимфому без дополнительных уточнений (PTCL NOS), лимфому Беркитта (BL), хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML), экстранодальную NK/Т-клеточную лимфому (NKTCL), первичную выпотную лимфому (PEL), острый лимфоцитарный лейкоз/острый миелоидный лейкоз (ALL, AML), гистиоцитарную лимфому (HL), лимфому маргинальной зоны (MZL), В-клеточный острый лимфолейкоз или анапластическую крупноклеточную лимфому (ALCL).

[0291] В некоторых вариантах осуществления гемобластоз представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому.

[0292] В некоторых вариантах осуществления способ лечения солидного злокачественного новообразования (или терапевтического/фармацевтического применения) включает введение субъекту с солидным злокачественным новообразованием эффективного количества антитела (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), которое связывает CCR8 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело ингибирует связывание CCL1 с CCR8. В некоторых вариантах осуществления солидное злокачественное новообразование (или инфильтрирующие опухоль Трег) экспрессирует CCR8. В некоторых вариантах осуществления солидное злокачественное новообразование содержит внутриопухолевые Трег. В некоторых

вариантах осуществления внутриопухолевые Трег имеют повышенные уровни экспрессии CCR8 по сравнению с периферическими Трег. В некоторых вариантах осуществления CCR8 экспрессируется на поверхности внутриопухолевых клеток Трег в количестве менее 10 000 копий на клетку (например, если вся популяция Трег имеет низкую экспрессию Трег), что можно определить, например, с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) и проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления внутриопухолевые Трег содержат Трег, экспрессирующие CCR8 в количестве менее 10 000 копий на клетку (что относится к субпопуляции Трег с низкой экспрессией CCR8). В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег экспрессируют на поверхности клетки менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег в образце, полученном из опухоли, экспрессируют менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал терапию ингибиторами контрольных точек (CPI) или имеет CPI-резистентное или рефрактерное злокачественное новообразование, так как многие субъекты с CPI-резистентным или рефрактерным злокачественным новообразованием будут иметь повышенные уровни внутриопухолевых Трег. В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелимуаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба. В некоторых вариантах осуществления внутриопухолевые Трег истощены. Истощение Трег может быть результатом активности ADCC и/или CDC, которой обладают описанные антитела.

[0293] В некоторых вариантах осуществления способ или применение выбора субъекта с солидным злокачественным новообразованием для лечения антителом, которое связывает CCR8 человека, включает определение экспрессии CCR8 в образце от субъекта. В некоторых вариантах осуществления экспрессию CCR8 обнаруживают в популяции инфильтрирующих опухоль Трег в образце. В некоторых вариантах осуществления инфильтрирующие опухоль Трег экспрессируют CCR8 в количестве менее 10 000 копий на клетку, что можно определить, например, с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) и проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег экспрессируют на поверхности клетки менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления способ или применение дополнительно включает введение эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека.

[0294] В некоторых вариантах осуществления способ лечения солидного злокачественного новообразования (или терапевтическое/фармацевтическое применение) включает введение субъекту с солидным злокачественным новообразованием эффективного количества слитого белка. В некоторых вариантах осуществления способ выбора субъекта с солидным злокачественным новообразованием для лечения слитым белком, содержащим (a) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc, включает обнаружение экспрессии CCR8 в образце от субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение эффективного количества слитого белка, содержащего (a) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc. В некоторых вариантах осуществления солидное злокачественное новообразование экспрессирует CCR8.

В некоторых вариантах осуществления субъект ранее получал терапию ингибиторами контрольных точек (CPI) или имеет CPI-резистентное или рефрактерное злокачественное новообразование, так как многие субъекты с CPI-резистентным или рефрактерным злокачественным новообразованием будут иметь повышенные уровни CCR8-экспрессирующих Трег. В некоторых вариантах осуществления терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-rwls и зимберелимаба; антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелидумаб; или антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба. В некоторых вариантах осуществления солидное злокачественное новообразование включает клетки, которые экспрессируют CCR8 (например, CCR8-экспрессирующие Трег). В некоторых вариантах осуществления клетки, которые экспрессируют CCR8, представляют собой регуляторные Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления Трег экспрессируют CCR8 в количестве менее 10 000 копий на клетку (как определено, например, с помощью FACS и проточной цитометрии) и могут представлять собой инфильтрирующие опухоль Трег. В некоторых вариантах осуществления 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или 100% инфильтрирующих опухоль Трег экспрессируют на поверхности клетки менее 10 000 копий CCR8 на клетку. В некоторых вариантах осуществления гемобластоз может быть метастатическим.

[0295] В некоторых вариантах осуществления солидное злокачественное новообразование может быть выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы. В некоторых вариантах осуществления солидное злокачественное новообразование может быть метастатическим. В некоторых вариантах осуществления, когда солидное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы, причем рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы (т. е. TNBC). В некоторых вариантах осуществления, когда солидное злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы, причем рак молочной железы представляет собой метастатический TNBC.

[0296] В некоторых вариантах осуществления любого из вышеуказанных способов или применений вводимое антитело (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.) или слитый белок может истощать Трег у субъекта в результате свойств ADCC и/или CDC описанных антител и слитых белков.

[0297] Антитело или слитый белок можно вводить по мере необходимости субъектам. Определение частоты введения может быть выполнено специалистами в данной области, например лечащим врачом, на основании данных о патологическом состоянии, подлежащем лечению, возрасте субъекта, подлежащего лечению, степени тяжести патологического состояния, подлежащего лечению, общего состояния здоровья субъекта, подлежащего лечению, и т. п. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела или слитого белка вводят субъекту один или более раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела или слитого белка вводят субъекту один раз в месяц, реже одного раза в месяц, например каждые два месяца или каждые три месяца. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела или слитого белка вводят реже одного раза в месяц, например один раз в три недели, один раз в две недели или один раз в неделю. Эффективную дозу антитела или слитого белка вводят субъекту по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления эффективную дозу антитела или слитого белка можно вводить несколько раз, в том числе в течение по меньшей мере месяца, по меньшей мере шести месяцев или по меньшей мере года.

[0298] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения (включая профилактику) злокачественного новообразования. Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от массы субъекта, которого лечат, его или ее физического состояния или состояния здоровья, обширности состояния, подлежащего лечению, или возраста субъекта, которого лечат. Как правило, антитела и слитые белки можно вводить в количестве от около 10 мкг/кг массы тела до около 100 мкг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела и слитые белки можно вводить в количестве в диапазоне от около 50 мкг/кг массы тела до около 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела и слитые белки можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела и слитые белки можно вводить в количестве в диапазоне от около 100 мкг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления антитела и слитые белки можно вводить в количестве в диапазоне от около 0,5 мг/кг массы тела до около 20 мг/кг массы тела на дозу.

Фармацевтические композиции

[0299] В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие антитела и слитые белки, предложенные в настоящем документе, обеспечены в составах с широким спектром фармацевтически приемлемых носителей (*см., например*, Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20th ed. (2003); Ansel *et al.*, Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); Kibbe *et al.*, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)). Доступны различные фармацевтически приемлемые носители, в том числе растворители, вспомогательные вещества и разбавители. Кроме того, также доступны различные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, например, регулирующие pH и буферные средства, средства, регулирующие тоничность, стабилизаторы, смачивающие средства и тому подобные. Неограничивающие примеры носителей включают солевой раствор, забуференный солевой раствор, декстрозу, воду, глицерин, этанол и их комбинации.

[0300] В некоторых вариантах осуществления предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело или слитый белок. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело или слитый белок, полученные в клетке-хозяине или бесклеточной системе, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель.

[0301] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции вводят в количестве, эффективном для лечения (включая профилактику) злокачественного новообразования. Терапевтически эффективное количество, как правило, зависит от массы субъекта, которого лечат, его или ее физического состояния или состояния здоровья, обширности состояния, подлежащего лечению, или возраста субъекта, которого лечат.

Пути введения

[0302] В некоторых вариантах осуществления антитела и/или слитые белки, предложенные в настоящем документе, можно вводить *in vivo* различными путями, включая, без ограничения, внутривенный, внутриартериальный, парентеральный, внутриопухолевый, внутрибрюшинный или подкожный. Соответствующий состав и путь введения могут быть выбраны в соответствии с предполагаемым применением.

Комбинированная терапия

[0303] Антитела и/или слитые белки, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), можно вводить отдельно или вместе с другими способами лечения. Они могут быть предоставлены до, по существу одновременно с другими способами лечения, например хирургическим вмешательством, химиотерапией, лучевой терапией или введением биологического препарата, такого как другое терапевтическое антитело, и/или после них. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), вводят в сочетании с другим противораковым агентом. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят в сочетании с лучевой терапией, такой как абляционная или неабляционная лучевая терапия.

[0304] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.) вводят одновременно со вторым терапевтическим агентом. Например, два или более терапевтических агентов вводят с временным интервалом не более чем около 60 минут, например, не более чем около любого из следующего: 30, 15, 10, 5 минут или 1 минуты. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок вводят последовательно со вторым терапевтическим агентом. Например, введение двух или более терапевтических агентов осуществляют с временным интервалом более чем около 15 минут, например около любого из следующего: 20, 30, 40, 50 или 60 минут, 1 сутки, 2 суток, 3 суток, 1 неделя, 2 недели или 1 месяц, или дольше.

[0305] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.) вводят вторым терапевтическим способом лечения. Таким образом, введение антитела, предложенного в настоящем документе, можно сочетать с другой системой лечения.

[0306] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), вводят вместе с терапией анти-PD-1 или анти-PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с антителом к PD-1 или антителом к PD-L1 (например, атезолизумабом).

[0307] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), вводят вместе с терапией анти-ICOS. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с антителом, которое связывает индуцируемый Т-клеточный костимулятор (ICOS). В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с выделенным антителом, которое связывает ICOS, причем антитело к ICOS представляет собой агонист CD4⁺ Т-клеток (таких как CD4⁺ Т-эффекторные (Тэфф) клетки). В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает ICOS, представляет собой агонист CD4⁺ Т-клеток (таких как CD4⁺ Тэфф-клетки) и истощает регуляторные Т-клетки (Трег).

[0308] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.) вводят с агонистическим антителом к OX40 (таким как Medi6469, MedImmune; MOXR0916/RG7888, Roche). В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с антителом к CTLA4 (таким как ипилимумаб, YERVOY[®], BMS).

[0309] В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент. Иллюстративные химиотерапевтические агенты, которые можно комбинировать с антителом и/или слитым белком, предложенными в настоящем документе, включают, без

ограничения, капецитабин, циклофосфамид, дакарбазин, темозоломид, циклофосфамид, доцетаксел, доксорубицин, даунорубицин, цисплатин, карбоплатин, эпирубицин, эрибулин, 5-ФУ, гемцитабин, иринотекан, иксабепилон, метотрексат, митоксантрон, оксалиплатин, паклитаксел, наб-паклитаксел, ABRAXANE® (связанный с белками паклитаксел), пеметрексед, винорелбин и винкристин. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с по меньшей мере одним ингибитором киназы. Неограничивающие примеры ингибиторов киназы включают эрлотиниб, афатиниб, gefitinib, кризотиниб, дабрафениб, траметиниб, вемурафениб и кобиметаниб.

[0310] В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор IDO. Неограничивающие примеры ингибиторов IDO описаны, например, в US 2016/0060237; и US 2015/0352206. Неограничивающие иллюстративные ингибиторы IDO включают индоксимод (New Link Genetics), INCB024360 (Incyte Corp.), 1-метил-D-триптофан (New Link Genetics) и GDC-0919 (Genentech).

[0311] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят в комбинации с иммуномодулирующим лекарственным средством (IMiD). Неограничивающие примеры IMiD включают талидомид, леналидомид и помалидомид.

[0312] В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой противораковую вакцину. Противораковые вакцины исследовали как потенциальный подход к переносу антигена и активации дендритных клеток. В частности, вакцинация в комбинации с иммунологическими контрольными точками или агонистами костимулирующих путей продемонстрировала признаки преодоления толерантности и усиления противоопухолевого ответа. Был протестирован ряд противораковых вакцин, в которых применяют различные подходы к стимулированию иммунного ответа на опухоль (см., например, Emens LA, Expert Opin Emerg Drugs 13(2): 295–308 (2008)). Были разработаны подходы для усиления ответа В-клеток, Т-клеток или профессиональных антигенпрезентирующих клеток на опухоли. Примеры типов противораковых вакцин включают, без ограничения, вакцины на основе пептидов, в которых применяют нацеливание на отдельные опухолевые антигены, которые могут быть доставлены в виде пептидов/белков или в виде генетически сконструированных ДНК-векторов, вирусов, бактерий и т. п.; и подходы клеточной биологии, например, для разработки противораковой вакцины против менее четко определенных мишеней, включая, без ограничения, вакцины, разработанные на основе дендритных клеток, полученных от пациентов, аутологичных опухолевых клеток или лизатов опухолевых клеток, аллогенных опухолевых клеток и т. п.

[0313] Таким образом, в определенных вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), можно применять в комбинации с противораковой вакциной. Примеры противораковых вакцин включают, без ограничения, вакцины на основе дендритных клеток, онколитические вирусы, вакцины на основе опухолевых клеток и т. д. В некоторых вариантах осуществления такие вакцины усиливают противоопухолевый ответ. Примеры противораковых вакцин, которые можно применять в комбинации с антителом и/или слитым белком, предложенными в настоящем документе, включают, без ограничения, вакцину MAGE3 (например, против меланомы и рака мочевого пузыря), вакцину MUC1 (например, против рака молочной железы), EGFRv3 (такую как Rindoperimut, например, против рака головного мозга, включая мультиформную глиобластому) или ALVAC-CEA (например, против CEA+ злокачественных новообразований).

[0314] Неограничивающие примеры противораковых вакцин также включают Sipuleucel-T, который получают из аутологичных мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК), которые включают

антигенпрезентирующие клетки (см., например, Kantoff PW et al., *N Engl J Med* 363:411-22 (2010)). В поколении Sipuleucel-T МКПК пациента активируют *ex vivo* с помощью PA2024, рекомбинантного слитого белка простатической кислой фосфатазы (простатического антигена) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (активатора иммунных клеток). Другой подход к вакцине-кандидату против злокачественного новообразования заключается в формировании иммунного ответа на конкретные пептиды, мутировавшие в опухолевой ткани, такой как меланома (см., например, Carreno BM et al., *Science* 348:6236 (2015)). Такие мутантные пептиды в некоторых вариантах осуществления могут называться неоантигенами. В качестве неограничивающего примера применения неоантигенов в противоопухолевых вакцинах неоантигены в опухоли, предположительно связывающиеся с белком главного комплекса гистосовместимости HLA-A*02:01, идентифицированы для отдельных пациентов со злокачественным новообразованием, таким как меланома. Дендритные клетки пациента созревают *ex vivo*, затем инкубируются с неоантигенами. Затем активированные дендритные клетки вводят пациенту. В некоторых вариантах осуществления после введения противораковой вакцины обнаруживается стойкий Т-клеточный иммунитет против неоантигена.

[0315] В некоторых таких вариантах осуществления противораковая вакцина разработана с применением неоантигена. В некоторых вариантах осуществления противораковая вакцина представляет собой ДНК-вакцину. В некоторых вариантах осуществления противораковая вакцина представляет собой сконструированный вирус, содержащий раковый антиген, такой как PROSTVAC (рилимоген гальвадирепвек/рилимоген глафолибек). В некоторых вариантах осуществления противораковая вакцина содержит сконструированные опухолевые клетки, такие как GVAX, которая представляет собой вакцину на основе опухолевых клеток, трансфицированных геном гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) (см., например, Nemunaitis, 2005, *Expert Rev Vaccines*, 4: 259-74).

[0316] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, описанные в настоящем документе, вводят до, одновременно и/или после противораковой вакцины. В некоторых вариантах осуществления противораковые вакцины, разработанные с помощью неоантигенов, применяют в комбинации с описанным в настоящем документе антителом и/или слитым белком. В некоторых таких вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения злокачественного новообразования с высокой мутационной нагрузкой, такого как меланома, рак легкого, рак мочевого пузыря или колоректальный рак.

[0317] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят в комбинации с терапией Т-клетками с химерным антигенным рецептором (терапия CAR-T).

[0318] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), вводят с одним или более (например, одним, двумя, тремя или четырьмя) дополнительными терапевтическими агентами. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент включает, например, блокатор или ингибитор ингибиторных контрольных точек иммунного ответа, стимулятор, агонист или активатор стимуляторных иммунных контрольных точек, химиотерапевтический агент, противораковый агент, радиотерапевтический агент, противоопухолевый агент, антипролиферативный агент, антиангиогенный агент, противовоспалительный агент, иммунотерапевтический агент, терапевтическую антигенсвязывающую молекулу (например, моно- и полиспецифическое антитело или его фрагмент в любом формате, таком как DART®, Duobody®, BiTE®, BiKE, TriKE, XmAb®, TandAb®, scFv, Fab, производное Fab), биспецифическое антитело,

неиммуноглобулиновый миметик антитела (например, включая аднектин, аффитело, аффилин, аффимер, аффитин, альфатело, антикалин, пептидный аптамер, белок с повторами armadillo (ARM), атриммер, авимер, сконструированный белок с анкириновыми повторами (DARPin®), финомер, ноттин, пептид домена Кунитца, монотело и папоCLAMP), конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), конъюгат антитело-пептид), онколитический вирус, модификатор или редактор генов, клетку, содержащую химерный антигенный рецептор (CAR), например, включая Т-клеточный иммунотерапевтический агент, Nk-клеточный иммунотерапевтический агент или макрофагальный иммунотерапевтический агент, клетку, содержащую сконструированный Т-клеточный рецептор (TCR-T), или любую их комбинацию.

[0319] *Иллюстративные мишени*

[0320] В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов включают, например, ингибитор, агонист, антагонист, лиганд, модулятор, стимулятор, блокатор, активатор или супрессор мишени (например, полипептид или полинуклеотид), такой как: 2'-5'-олигоаденилатсинтетаза (OAS1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4938); 5'-3' экзорибонуклеаза 1 (XRN1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 54464); 5'-нуклеотидаза экто (NT5E, CD73; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4907); протоонкоген ABL 1, нереперторная тирозинкиназа (ABL1, BCR-ABL, c-ABL, v-ABL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 25); отсутствующий в меланоме белок 2 (AIM2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9447); ацетил-КоА-ацилтрансфераза 2 (ACAA2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10499); кислая фосфатаза 3 (ACP3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 55); аденозиндезаминаза (ADA, ADA1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 100); аденозиновые рецепторы (например, ADORA1 (A1), ADORA2A (A2a, A2AR), ADORA2B (A2b, A2BR), ADORA3 (A3); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 134, 135, 136, 137); АКТ серин/треонинкиназа 1 (AKT1, АКТ, PKB; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 207); аланиламинопептидаза, мембрана (ANPEP, CD13; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 290); рецепторная тирозинкиназа ALK (ALK, CD242; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 238); альфа-фетопроtein (AFP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 174); медьсодержащая аминоксидаз (например, AOC1 (DAO1), AOC2, AOC3 (VAP1); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 26, 314, 8639); андрогеновый рецептор (AR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 367); ангиопозитины (ANGPT1, ANGPT2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 284, 285); рецептор ангиотензина II типа 1 (AGTR1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 185); ангиотензиноген (AGT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 183); аполипопротеин A1 (APOA1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 335); ассоциированный с митохондриями апоптоз-индуцирующий фактор 1 (AIFM1, AIF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9131); арахидонат-5-липоксигеназа (ALOX5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 240); аспарагиназа (ASPG; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 374569); гомолог 1 Asteroid (ASTE1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 28990); АТМ серин/треонинкиназа (ATM; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 472); член 1 подсемейства В АТФ-связывающих кассет (ABCB1, CD243, GP170; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5243); АТФ-зависимая Clp-протеаза (CLPP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8192); АТР серин/треонинкиназа (ATR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 545); рецепторная тирозинкиназа AXL (AXL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 558); ассоциированный с В- и Т-лимфоцитами белок (BTLA, CD272; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 151888); белки, содержащие

бакуловирусные повторы IAP (BIRC2 (cIAP1), BIRC3 (cIAP2), XIAP (BIRC4, IAP3), BIRC5 (сурвивин); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 329, 330, 331, 332); базигин (антиген группы крови ОК) (BSG, CD147; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 682); белок В-клеточной лимфомы 2 (BCL2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 596); связывающий BCL2 компонент 3 (BBC3, PUMA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27113); BCL2-подобный белок (например, BCL2L1 (Bcl-x), BCL2L2 (BIM); Bcl-x; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 598, 10018); бета-3 адренергический рецептор (ADRB3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 155); костный гамма-карбоксиглутамат-содержащий белок (BGLAP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 632); лиганд костного морфогенетического белка-10 (BMP10; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27302); рецепторы брадикинина (например, BDKRB1, BDKRB2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 623, 624); B-RAF (BRAF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 273); кластерный регион точечных разрывов (BCR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 613); белки, содержащие бромодомены и экстратерминальный бромодомен (BET) (например, BRD2, BRD3, BRD4, BRDT; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 6046, 8019, 23476, 676); тирозинкиназа Брутона (BTK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 695); кадгерины (например, CDH3 (p-кадгерин), CDH6 (k-кадгерин); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1001, 1004); раково-тестикулярные антигены (например, CTAG1A, CTAG1B, CTAG2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1485, 30848, 246100); каннабиноидные рецепторы (например, CNR1 (CB1), CNR2 (CB2); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1268, 1269); карбогидрат-сульфотрансфераза 15 (CHST15; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51363); карбоангидразы (например, CA1, CA2, CA3, CA4, CA5A, CA5B, CA6, CA7, CA8, CA9, CA10, CA11, CA12, CA13, CA14; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 759, 760, 761, 762, 763, 765, 766, 767, 768, 770, 771, 11238, 23632, 56934, 377677); родственная раково-эмбриональному антигену молекула клеточной адгезии (например, CEACAM3 (CD66d), CEACAM5 (CD66e), CEACAM6 (CD66c); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1048, 1084, 4680); казеинкиназы (например, CSNK1A1 (CK1), CSNK2A1 (CK2); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1452, 1457); каспазы (например, CASP3, CASP7, CASP8; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 836, 840, 841, 864); катенин бета-1 (CTNNB1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1499); катепсин G (CTSG; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1511); протоонкоген В Cbl (CBLB, Cbl-b; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 868); C-C-мотив-хемокиновый лиганд 21 (CCL21; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6366); C-C-мотив-хемокиновый рецептор 2 (CCR2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 729230); C-C-мотив-хемокиновые рецепторы (например, CCR3 (CD193), CCR4 (CD194), CCR5 (CD195), CCR8 (CDw198); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1232, 1233, 1234, 1237); CCAAT/энхансер-связывающий белок альфа (CEBPA, CEBP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1050); молекула клеточной адгезии 1 (CADM1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23705); белок цикла клеточного деления 7 (CDR7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8317); фактор сети клеточных связей 2 (CCN2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1490); цереблон (CRBN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51185); киназы контрольных точек (например, CHEK1 (CHK1), CHEK2 (CHK2); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1111, 11200); рецептор холецистокинина В (CCKBR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 887); хорионический соматотропный гормон 1 (CSH1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1442); клаудины (например, CLDN6, CLDN18;

идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 9074, 51208); маркеры кластера дифференцировки (например, CD1A, CD1C, CD1D, CD1E, CD2, CD3 alpha (TRA), CD beta (TRB), CD гамма (TRG), CD дельта (TRD), CD4, CD8A, CD8B, CD19, CD20 (MS4A1), CD22, CD24, CD25 (IL2RA, TCGFR), CD28, CD33 (SIGLEC3), CD37, CD38, CD39 (ENTPD1), CD40 (TNFRSF5), CD44 (MIC4, PGP1), CD47 (IAP), CD48 (BLAST1), CD52, CD55 (DAF), CD58 (LFA3), CD74, CD79a, CD79b, CD80 (B7-1), CD84, CD86 (B7-2), CD96 (TACTILE), CD99 (MIC2), CD115 (CSF1R), CD116 (GMCSFR, CSF2RA), CD122 (IL2RB), CD123 (IL3RA), CD128 (IL8R1), CD132 (IL2RG), CD135 (FLT3), CD137 (TNFRSF9, 4-1BB), CD142 (TF, TFA), CD152 (CTLA4), CD160, CD182 (IL8R2), CD193 (CCR3), CD194 (CCR4), CD195 (CCR5), CD207, CD221 (IGF1R), CD222 (IGF2R), CD223 (LAG3), CD226 (DNAM1), CD244, CD247, CD248, CD276 (B7-H3), CD331 (FGFR1), CD332 (FGFR2), CD333 (FGFR3), CD334 (FGFR4); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 909, 911, 912, 913, 914, 919, 920, 923, 925, 926, 930, 931, 933, 940, 941, 942, 945, 951, 952, 953, 958, 960, 961, 962, 965, 972, 973, 974, 1043, 1232, 1233, 1234, 1237, 1436, 1438, 1493, 1604, 2152, 2260, 2261, 2263, 2322, 3480, 3482, 3559, 3560, 3561, 3563, 3577, 3579, 3604, 3902, 4267, 6955, 6957, 6964, 6965, 8832, 10666, 11126, 50489, 51744, 80381, 100133941); кластерин (CLU; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1191); факторы свертывания крови (например, F7, FXA; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 2155, 2159); альфа-цепи коллагена IV типа (например, COL4A1, COL4A2, COL4A3, COL4A4, COL4A5; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1282, 1284, 1285, 1286, 1287); член 10 подсемейства коллектинов (COLEC10; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10584); колониестимулирующие факторы (например, CSF1 (MCSF), CSF2 (GMCSF), CSF3 (GCSF); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1435, 1437, 1440); факторы комплемента (например, C3, C5; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 718, 727); субъединица 5 сигнасомы COP9 (COPS5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10987); член семейства лектиновых доменов C-типа (например, CLEC4C (CD303), CLEC9A (CD370), CLEC12A (CD371); CD371; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 160364, 170482, 283420); C-X-C-мотив-хемокиновый лиганд 12 (CXCL12; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6387); C-X-C-мотив-хемокиновые рецепторы (CXCR1 (IL8R1, CD128), CXCR2 (IL8R2, CD182), CXCR3 (CD182, CD183, IP-10R), CXCR4 (CD184); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2833, 3577, 3579, 7852); циклин D1 (CCND1, BCL1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 595); циклинзависимые киназы (например, CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8, CDK9, CDK10, CDK12; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 983, 1017, 1018, 1019, 1020, 1021, 1022, 1024, 1025, 8558, 51755); циклин G1 (CCNG1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 900); члены семейства цитохрома P450 (например, CYP2D6, CYP3A4, CYP11A1, CYP11B2, CYP17A1, CYP19A1, CYP51A1; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1565, 1576, 1583, 1585, 1586, 1588, 1595); цитохром p450-оксидоредуктаза (POR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5447); цитокин-индуцируемый SH2-содержащий белок (CISH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1154); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1493); DEAD-бокс-геликазы (например, DDX5, DDX6, DDX58; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1655, 1656, 23586); дельта-подобные канонические лиганды Notch (например, DLL3, DLL4; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 10683, 54567); IAP-связывающий митохондриальный белок DIABLO (DIABLO, SMAC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 56616); диацилглицеролкиназы (например, DGKA, DGKZ; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 1606, 8525); ингибиторы сигнального пути WNT dickkopf (например, DKK1, DKK3;

идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 22943, 27122); дигидрофолатредуктаза (DHFR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1719); дигидропиримидиндегидрогеназа (DPYD; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1806); дипептидилпептидаза 4 (DPP4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1803); рецепторные тирозинкиназы с дискоидиновым доменом (например, DDR1 (CD167), DDR2; CD167; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 780, 4921); ДНК-зависимая протеинкиназа (PRKDC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5591); ДНК-топоизомеразы (например, TOP1, TOP2A, TOP2B, TOP3A, TOP3B; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7150, 7153, 7155, 7156, 8940); допахром таутомераза (DCT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1638); дофаминовый рецептор D2 (DRD2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1318); DOT1-подобная гистоновая лизинметилтрансфераза (DOT1L; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84444); эктонуклеотидпирофосфатаза/фосфодиэстераза 3 (ENPP3, CD203c; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5169); EMAP-подобный белок 4 (EML4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27436); эндоглин (ENG; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2022); эндоплазматические аминопептидазы (например, ERAP1, ERAP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51752, 64167); энхансер субъединицы zeste гомолога 2 polio-репрессивного комплекса 2 (EZH2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2146); рецепторы эфрина (например, EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA7, EPHB4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1969, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2050); эфрины (например, EFNA1, EFNA4, EFNБ2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1942, 1945, 1948); рецепторы эпидермального фактора роста (например, ERBB1 (HER1, EGFR), вариант III ERBB1 (EGFRvIII), ERBB2 (HER2, NEU, CD340), ERBB3 (HER3), ERBB4 (HER4); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1956, 2064, 2065, 2066); адгезивная молекула эпителиальных клеток (EPCAM; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4072); эпителиальный митоген (EPGN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 255324); факторы элонгации трансляции эукариот (например, EEF1A2, EEF2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1917, 1938); факторы инициации трансляции эукариот (например, EIF4A1, EIF5A; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1973, 1984); экспортин-1 (XPO1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7514); фарнезоидный X-рецептор (NR1H4, FXR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9971); лиганд Fas (FASLG, FASL, CD95L, CD178, TNFSF6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 356); амидгидролаза жирных кислот (FAAH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2166); синтаза жирных кислот (FASN; FAS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2194); фрагмент Fc рецепторов Ig (например, FCER1A, FCGR1, FCGR2A (CD16); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 2205, 2214, 2217); подобный Fc-рецептору белок 5 (FCRL5, CD307; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 83416); белок активации фибробластов альфа (FAP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2191); рецепторы фактора роста фибробластов (например, FGFR1 (CD331), FGFR2 (CD332), FGFR3 (CD333), FGFR4 (CD334); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 2260, 2261, 2263, 2264); факторы роста фибробластов (например, FGF1 (FGF альфа), FGF2 (FGF бета), FGF4, FGF5; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 2246, 2247, 2249, 2250); фибронектин 1 (FN1, MSF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2335); fms-подобные рецепторные тирозинкиназы (например, FLT1 (VEGFR1), FLT3 (STK1, CD135), FLT4 (VEGFR2); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 2321, 2322, 2324); лиганд fms-подобной рецепторной тирозинкиназы 3 (FLT3LG; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2323); киназа фокальной адгезии 2 (PTK2, FAK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI:

5747); фолатгидролаза 1 (FOLH1, PSMA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2346); фолатный рецептор 1 (FOLR1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2348); белок M1 семейства Forkhead (FOX M1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2305); FURIN (FURIN, PACE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5045); тирозинкиназа FYN (FYN, SYN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2534); галектины (например, LGALS3, LGALS8 (PCTA1), LGALS9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3958, 3964, 3965); глюкокортикоидный рецептор (NR3C1, GR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2908); глюкуронидаза бета (GUSB; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2990); метаботропный глутаматный рецептор 1 (GRM1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2911); глутаминаза (GLS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2744); глутатион S-трансфераза Pi (GSTP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2950); киназа гликогенсинтазы 3 бета (GSK3B; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2932); глипикан-3 (GPC3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2719); гонадотропин-высвобождающий гормон 1 (GNRH1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2796); рецептор гонадотропин-высвобождающего гормона (GNRHR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2798); гликопротеин NMB GPNMB (GPNMB, остеоактивин; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10457); фактор роста и дифференцировки 2 (GDF2, BMP9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2658); белок 2, связанный с рецептором фактора роста (GRB2, ASH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2885); гуанилатциклаза 2C (GUCY2C, STAR, MECIL, MUCIL, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2984); H19 импринтированный материнский экспрессированный транскрипт (H19; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 283120); протоонкоген HCK, тирозинкиназа семейства Src (HCK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3055); белки теплового шока (например, HSPA5 (HSP70, BIP, GRP78), HSPB1 (HSP27), HSP90B1 (GP96); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3309, 3315, 7184); гемоксигеназы (например, HMOX1 (HO1), HMOX2 (HO1); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3162, 3163); гепараза (HPSE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10855); клеточный рецептор 2 вируса гепатита A (HAVCR2, TIM3, CD366; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84868); фактор роста гепатоцитов (HGF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3082); HERV-H LTR-ассоциированный белок 2 (HNLA2, B7-H7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11148); гистаминовый H2-рецептор (HRH2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3274); гистоновые деацетилазы (например, HDAC1, HDAC7, HDAC9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3065, 9734, 51564); протоонкоген NRAS, ГТФаза (HRAS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3265); индуцируемые гипоксией факторы (например, HIF1A, HIF2A (EPAS1); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 2034, 3091); IκB-киназа (IKK-бета; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3551, 3553); белки с цинковыми пальцами семейства IKAROS (IKZF1 (LYF1), IKZF3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10320, 22806); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 152404); индоламин 2,3-диоксигеназы (например, IDO1, IDO2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3620, 169355); индуцибельный костимулятора Т-клеток (ICOS, CD278; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29851); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7-H2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23308); рецепторы инсулиноподобного фактора роста (например, IGF1R, IGF2R; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3480, 3482); инсулиноподобные факторы роста

(например, IGF1, IGF2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3479, 3481); инсулиновый рецептор (INSR, CD220; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3643); субъединицы интегрина (например, ITGA5 (CD49e), ITGAV (CD51), ITGB1 (CD29), ITGB2 (CD18, LFA1, MAC1), ITGB7; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3678, 3685, 3688, 3695, 3698); молекула межклеточной адгезии 1 (ICAM1, CD54; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3383); киназа 4, ассоциированная с рецептором интерлейкина 1 (IRAK4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51135); рецепторы интерлейкина (например, IL2RA (TCGFR, CD25), IL2RB (CD122), IL2RG (CD132), IL3RA, IL6R, IL13RA2 (CD213A2), IL22RA1; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3598, 3559, 3560, 3561, 3563, 3570, 58985); интерлейкины (например, IL1A, IL1B, IL2, IL3, IL6 (HGF), IL7, IL8 (CXCL8), IL10 (TGIF), IL12A, IL12B, IL15, IL17A (CTLA8), IL23A, IL24, IL-29 (IFNL1); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3552, 3553, 3558, 3562, 3565, 3569, 3574, 3586, 3592, 3593, 3600, 3605, 11009, 51561, 282618); изоцитратдегидрогеназы (NADP(+)) (например, IDH1, IDH2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3417, 3418); Янус-киназы (например, JAK1, JAK2, JAK3; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3716, 3717, 3718); калликреин-родственная пептидаза 3 (KLK3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 354); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, домены Ig и длинный цитоплазматический хвост (например, KIR2DL1 (CD158A), KIR2DL2 (CD158B1), KIR2DL3 (CD158B), KIR2DL4 (CD158D), KIR2DL5A (CD158F), KIR2DL5B, KIR3DL1 (CD158E1), KIR3DL2 (CD158K), KIR3DP1 (CD158c), KIR2DS2 (CD158J); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3802, 3803, 3804, 3805, 3811, 3812, 57292, 553128, 548594, 100132285); лектин-подобные рецепторы клеток-киллеров (например, KLRC1 (CD159A), KLRC2 (CD159c), KLRC3, KLRRC4, KLRD1 (CD94), KLRG1, KLRK1 (NKG2D, CD314); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3821, 3822, 3823, 3824, 8302, 10219, 22914); рецептор с доменом, содержащим киназную вставку (KDR, CD309, VEGFR2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3791); член 11 семейства кинезинов (KIF11; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3832); супрессор метастазирования KiSS-1 (KISS1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3814); протоонкоген KIT, рецепторная тирозинкиназа (KIT, C-KIT, CD117; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3815); протоонкоген KRAS, ГТФаза (KRAS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3845); лактотрансферрин (LTF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4057); протоонкоген LCK, тирозинкиназа семейства Src (LCK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3932); родственный LDL-рецептору белок 1 (LRP1, CD91, IGFBP3R; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4035); содержащий богатые лейцином повторы белок 15 (LRR15; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 131578); лейкоцитарные иммуноглобулиноподобные рецепторы (например, LILRB1 (ILT2, CD85J), LILRB2 (ILT4, CD85D); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10288, 10859); гидролаза лейкотриена A4 (LTA4H; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4048); линкер для активации Т-клеток (LAT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27040); рецептор лютеинизирующего гормона / хориогонадотропина (LHCGR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3973); белок-3, содержащий домен LY6/PLAUR, (LYPD3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27076); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3; CD223; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3902); лимфоцитарные антигены (например, LY9 (CD229), LY75 (CD205); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4063, 17076); протоонкоген LYN, тирозинкиназа семейства Src (LYN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4067); лимфоцитарный цитозольный белок 2 (LCP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3937); лизиндеметилаза 1A (KDM1A;

идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23028); рецептор лизофосфатидной кислоты 1 (LPAR1, EDG2, LPA1, GPR26; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1902); лизилоксидаза (LOX; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4015); лизилоксидазоподобный белок 2 (LOXL2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4017); фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF, GIF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4282); рецептор макрофаг-стимулирующего белка 1 (MST1R, CD136; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4486); члены семейства MAGE (например, MAGEA1, MAGEA2, MAGEA2B, MAGEA3, MAGEA4, MAGEA5, MAGEA6, MAGEA10, MAGEA11, MAGEC1, MAGEC2, MAGED1, MAGED2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4100, 4101, 4102, 4103, 4104, 4105, 4109, 4110, 9500, 9947, 10916, 51438, 266740); главные комплексы гистосовместимости (например, HLA-A, HLA-E, HLA-F, HLA-G; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 3105, 3133, 3134, 3135); главный белок vault (MVP, VAULT1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9961); паракаспаза MALT1 (MALT1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10892); MAPK-активированная протеинкиназа 2 (MAPKAPK2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9261); взаимодействующие с MAPK серин-/треонинкиназы (например, MKNK1, MKNK2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 2872, 8569); матричные металлопептидазы (например, MMP1, MMP2, MMP3, MMP7, MMP8, MMP9, MMP10, MMP11, MMP12, MMP13, MMP14, MMP15, MMP16, MMP17, MMP19, MMP20, MMP21, MMP24, MMP25, MMP26, MMP27, MMP28; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4312, 4313, 4314, 4316, 4317, 4318, 4319, 4320, 4321, 4322, 4323, 4324, 4325, 4326, 4327, 9313, 10893, 56547, 64066, 64386, 79148, 118856); регулятор апоптоза MCL1, член семейства BCL2 (MCL1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4170); протоонкоген MDM2 (MDM2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4193); регулятор MDM4 p53 (MDM4; BMFS6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4194); механистическая мишень рапамицинкиназы (MTOR, FRAP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2475); мелан-А (MLANA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2315); рецепторы меланокортина (MC1R, MC2R; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4157, 4148); протоонкоген MER, тирозинкиназа (MERTK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10461); мезотелин (MSLN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10232); протоонкоген MET, рецепторная тирозинкиназа (MET, c-Met, HGFR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4233); метиониламинопептидаза 2 (METAP2, MAP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10988); последовательности, родственные полипептиду MHC класса I (например, MICA, MICB; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4277, 100507436); митоген-активируемые протеинкиназы (например, MAPK1 (ERK2), MAPK3 (ERK1), MAPK8 (JNK1), MAPK9 (JNK2), MAPK10 (JNK3), MAPK11 (p38 бета), MAPK12; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5594, 5595, 5599, 5600, 5601, 5602, 819251); киназа киназы митоген-активируемой протеинкиназы (например, MAP3K5 (ASK1), MAP3K8 (TPL2, AURA2); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4217, 1326); ингибитор киназы киназы митоген-активируемой протеинкиназы 1 (MAP4K1, HPK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11184); киназа митоген-активируемой протеинкиназы (например, MAP2K1 (MEK1), MAP2K2 (MEK2), MAP2K7 (MEK7); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5604, 5605, 5609); протоонкоген MPL, рецептор тромбопоэтина (MPL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4352); муцины (например, MUC1 (включая его варианты сплайсинга (например, включая MUC1/A, C, D, X, Y, Z и REP)), MUC5AC, MUC16 (CA125); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4582, 4586, 94025); протоонкоген MYC, фактор транскрипции bHLH (MYC; идентификационный номер гена в базе

данных NCBI: 4609); миостатин (MSTN, GDF8; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2660); миристоилированный богатый аланином субстрат протеинкиназы C (MARCKS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4082); рецептор натрийуретического пептида 3 (NPR3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4883); лиганд 1 рецептора цитотоксичности натуральных клеток-киллеров 3 (NCR3LG1, B7-H6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 374383); некдин, член семейства MAGE (NDN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4692); молекулы клеточной адгезии нектин (например, NECTIN2 (CD112, PVRL2), NECTIN4 (PVRL4); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5819, 81607); молекула адгезии нервных клеток 1 (NCAM1, CD56; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4684); нейропилины (например, NRP1 (CD304, VEGF165R), NRP2 (VEGF165R2); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 8828, 8829); рецепторы нейротрофической тирозинкиназы (например, NTRK1 (TRKA), NTRK2 (TRKB), NTRK3 (TRKC); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4914, 4915, 4916); активирующий NFκB белок (NKAP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79576); родственная NIMA киназа 9 (NEK9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 91754); содержащий пириновый домен белок-3 семейства NLR (NLRP3, NALP3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 114548); рецепторы Notch (например, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4851, 4853, 4854, 4855); протоонкоген NRAS, ГТФаза (NRAS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4893); ядерный фактор-каппа В (NFKB1, NFKB2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 4790, 4791); ядерный фактор, подобный эритроиду 2 белок 2 (NFE2L2; NRF2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4780); член 1 группы А подсемейства 4 ядерных рецепторов (NR4A1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3164); нуклеолин (NCL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4691); нуклеофосмин 1 (NPM1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4869); содержащий нуклеотидсвязывающий олигомеризационный домен белок 2 (NOD2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64127); NUDIX-гидролаза 1 (NUDT1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4521); О-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза (MGMT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4255); опиоидный рецептор дельта 1 (OPRD1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4985); орнитиндекарбоксилаза 1 (ODC1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4953); оксоглутаратдегидрогеназа (OGDH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4967); паратгормон (PTH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5741); PD-L1 (CD274; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29126); периостин (POSTN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10631); активируемые пролифератором пероксисом рецепторы (например, PPARA (PPAR альфа), PPARD (PPAR дельта), PPARG (PPAR гамма); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5465, 5467, 5468); гомолог фосфатазы и тензина (PTEN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5728); фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CA (PI3K альфа), PIK3B (PI3K бета), PIK3D (PI3K дельта), PIK3CG (PI3K гамма); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5290, 5291, 5293, 5294); фосфолипазы (например, PLA2G1B, PLA2G2A, PLA2G2D, PLA2G3, PLA2G4A, PLA2G5, PLA2G7, PLA2G10, PLA2G12A, PLA2G12B, PLA2G15; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5319, 5320, 5321, 5322, 7941, 8399, 50487, 23659, 26279, 81579, 84647); протоонкоген Pim, серин/треонинкиназы (например, PIM1, PIM2, PIM3; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5292, 11040, 415116); фактора роста плаценты (PGF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5228); активатор плазминогена, урокиназа (PLAU, u-PA, ATF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5328); рецепторы фактора роста тромбоцитов (например, PDGFRA (CD140A, PDGFR2), FDGFRB

(CD140B, PDGFR1); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5156, 5159); плексин В1 (PLXNB1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5364); молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5817); Поло-подобная киназа 1 (PLK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5347); поли(ADP-рибоза)-полимеразы (например, PARP1, PARP2, PARP3; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 142, 10038, 10039); белок polycomb EED (EED; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8726); О-ацилтрансфераза поркупин (PORCN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64840); регулятор транскрипции ядерного рецептора PRAME (PRAME; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23532); премеланосомный белок (PMEL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6490); прогестероновый рецептор (PGR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5241); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD-1, CD279; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5133); лиганд 2 белка программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1LG2, CD273, PD-L2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 80380); проминин 1 (PROM1, CD133; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8842); белок промиелоцитарного лейкоза (PML; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5371); просапозин (PSAP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5660); рецептор 4 простагландина Е (PTGER4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5734); простагландин Е-синтаза (PTGES; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9536); простагландин-эндопероксидсинтазы (PTGS1 (COX1), PTGS2 (COX2); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5742, 5743); субъединица бета 9 протеасомы 20S (PSMB9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5698); протеин-аргинин-метилтрансфераза (например, PRMT1, PRMT5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3276, 10419); протеинкиназа N3 (PKN3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29941); протеинфосфатаза 2A (PPP2CA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5515); протеинтирозинкиназа-7 (неактивная) (PTK7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5754); рецепторы белковой тирозинфосфатазы (PTPRB (PTPB), PTPRC (CD45R); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5787, 5788); протимозин альфа (PTMA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5757); пуриннуклеозидфосфорилаза (PNP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4860); пуринергический рецептор P2X 7 (P2RX7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5027); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79037); протоонкоген Raf-1, серин/треонинкиназа (RAF1, c-Raf; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5894); ассоциированный с RAR орфанный рецептор гамма (RORC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6097); член С семейства гомологов Ras (RHOC); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 389); гомолог Ras, связывающий mTORC1 белок (RHEB; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6009); корепрессор транскрипции RB 1 (RB1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5925); взаимодействующая с рецептором серин/треониновая протеинкиназа 1 (RIPK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8737); протоонкоген ret (RET; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5979); ранние транскрипты ретиноевой кислоты (например, RAET1E, RAET1G, RAET1L; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 135250, 154064, 353091); альфа-рецепторы ретиноевой кислоты (например, RARA, RARG; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 5914, 5916); ретиноидные X-рецепторы (например, RXRA, RXRB, RXRG; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 6256, 6257, 6258); Rho-ассоциированные содержащие суперспираль протеинкиназы (например, ROCK1, ROCK2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 6093, 9475); рибосомный

белок S6 киназа B1 (RPS6KB1, S6K-бета 1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6198); белок с пальцами RING 128 (RNF128, GRAIL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79589); протоонкоген ROS 1, рецепторная тирозинкиназа (ROS1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6098); навигационный рецептор Roundabout 4 (ROBO4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 54538); транскрипционный фактор семейства RUNX 3 (RUNX3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 864); кальций-связывающий белок A9 S100 (S100A9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6280); секретируемый связанный с ожогом белок 2 (SFRP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6423); секретируемый фосфопротеин 1 (SPP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6696); член 1 семейства 1A секретоглобинов (SCGB1A1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7356); селектины (например, SELE, SELL (CD62L), SELP (CD62); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 6401, 6402, 6403); семафорин 4D (SEMA4D; CD100; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10507); связывающие сialовую кислоту Ig-подобные лектины (SIGLEC9 (CD329), SIGLEC10; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27180, 89790); сигнальный регуляторный белок альфа (SIRPA, CD172A; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 140885); переносчик сигнала и активатор транскрипции (например, STAT1, STAT3, STAT5A, STAT5B; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 6772, 6774, 6776, 6777); сиртуин-3 (SIRT3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23410); члены семейства сигнальных молекул активации лимфоцитов (SLAM)(например, SLAMF1 (CD150), SLAMF6 (CD352), SLAMF7 (CD319), SLAMF8 (CD353), SLAMF9; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 56833, 57823, 89886, 114836); член 6 SLIT- и NTRK-подобного семейства (SLITRK6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84189); рецептор класса Smoothed, Frizzled (SMO; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6608); растворимая эпоксидгидролаза 2 (EPHX2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2053); члены семейства глюкозных транспортеров (например, SLC3A2 (CD98), SLC5A5, SLC6A2, SLC10A3, SLC34A2, SLC39A6, SLC43A2 (LAT4), SLC44A4; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 6520, 6528, 6530, 8273, 10568, 25800, 80736, 124935); соматостатиновые рецепторы (например, SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR4, SSTR5; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 6751, 6752, 6753, 6754, 6755); сигнальная молекула Sonic Hedgehog (SHH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6469); фактор транскрипции Sp1 (SP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6667); сфингозинкиназы (например, SPHK1, SPHK2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 8877, 56848); сфингозин-1-фосфатный рецептор 1 (S1PR1, CD363; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1901); ассоциированная с селезенкой тирозинкиназа (SYK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6850); фактор сплайсинга 3B, фактор 1 (SF3B1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23451); протоонкоген SRC, нерецепторная тирозинкиназа (SRC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6714); стабиллин 1 (STAB1, CLEVER-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23166); член 1 семейства STEAP (STEAP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 26872); стероидсульфатаза (STS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 412); интерактор 1 стимулятора интерферонового ответа cGAMP (STING1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 340061); супероксиддисмутаза 1 (SOD1, ALS1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6647); супрессоры сигналинга цитокинов (SOCS1 (CISH1), SOCS3 (CISH3); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8651, 9021); синапсин 3 (SYN3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8224); синдекан 1 (SDC1, CD138, синдекан; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6382); синуклеин-альфа (SNCA, PARK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6622); белок-4,

содержащий домен иммуноглобулина Т-клеток и домен муцина (TIMD4, SMUCKLER; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 91937); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 201633); рецепторы тахикинина (например, TACR1, TACR3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6869, 6870); TANK-связывающая киназа 1 (TBK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29110); танкираза (TNKS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8658); фактор, ассоциированный с белком, связывающим ТАТА-бокс, субъединица В РНК-полимеразы I (TAF1B; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9014); Т-бокс фактор транскрипции Т (TBXT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6862); TCDD-индуцибельная поли(АДФ-рибоза)-полимераза (TIPARP, PAPR7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 25976); протеинтирозинкиназа ТЕС (TEC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7006); рецепторная тирозинкиназа ТЕК (TEK, CD202B, TIE2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7010); теломеразная обратная транскриптаза (TERT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7015); тенасцин С (TNC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3371); три-концевая репарационная экзонуклеаза (например, TREX1, TREX2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11277, 11219); тромбомодулин (THBD, CD141; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7056); тимидинкиназы (например, TK1, TK2; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 7083, 7084); тимидинфосфорилаза (TYMP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1890); тимидилатсинтаза (TYMS; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7298); рецептор тиреоидного гормона (THRA, THRB; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 7606, 7608); рецептор тиреотропного гормона (TSHR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7253); члены суперсемейства TNF (например, TNFSF4 (OX40L, CD252), TNFSF5 (CD40L), TNFSF7 (CD70), TNFSF8 (CD153, CD30L), TNFSF9 (4-1BB-L, CD137L), TNFSF10 (TRAIL, CD253, APO2L), TNFSF11 (CD254, RANKL2, TRANCE), TNFSF13 (APRIL, CD256, TRAIL2), TNFSF13b (BAFF, BLYS, CD257), TNFSF14 (CD258, LIGHT), TNFSF18 (GITRL); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 944, 959, 970, 7292, 8600, 8740, 8741, 8743, 8744, 8995); Toll-подобные рецепторы (например, TLR1 (CD281), TLR2 (CD282), TLR3 (CD283), TLR4 (CD284), TLR5, TLR6 (CD286), TLR7, TLR8 (CD288), TLR9 (CD289), TLR10 (CD290); идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 7096, 7097, 7098, 7099, 10333, 51284, 51311, 54106, 81793); трансферрин (TF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7018); трансферриновый рецептор (TFRC, CD71; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7037); трансформирующие факторы роста (например, TGFA, TGFB1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7039, 7040); трансформирующие рецепторы фактора роста (например, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7046, 7048, 7049); трансформирующий белок Е7 (E7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1489079); трансглутаминаза 5 (TGM5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9333); член 1 подсемейства V катионных каналов транзитного рецепторного потенциала (TRPV1, VR1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7442); содержащий трансмембранный и иммуноглобулиновый домен белок 2 (TMIGD2, CD28H, IGPR1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 126259); триггерный рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках (например, TREM1 (CD354), TREM2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 54209, 54210); трофинин (TRO, MAGED3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7216); трофобластический гликопротеин (TPBG; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7162); триптофан-2,3-диоксигеназа (TDO2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6999); триптофангидроксилазы (например, TPH1, TPH2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7166, 121278);

опухолеассоциированный трансдуктор кальциевого сигнала 2 (TACSTD2, TROP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4070); фактор некроза опухоли (TNF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7124); члены суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF) (например, TNFRSF1A (CD120a), TNFRSF1B (CD120b), TNFRSF4 (OX40), TNFRSF5 (CD40), TNFRSF6 (CD95, FAS-рецептор), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF9 (CD137, 4-1BB), TNFRSF10A (CD261), TNFRSF10B (TRAIL, DR5, CD262), TNFRSF10C, TNFRSF10D, TNFRSF11A, TNFRSF11B (OPG), TNFRSF12A, TNFRSF13B, TNFR13C (CD268, BAFFR), TNFRSF14 (CD270, LIGHTR), TNFRSF16, TNFRSF17 (CD269, BCMA), TNFRSF18 (GITR, CD357), TNFRSF19, TNFRSF21, TNFRSF25; идентификационные номера гена в базе данных NCBI: 355, 608, 939, 943, 958, 3604, 4804, 4982, 7132, 7133, 7293, 8718, 8764, 8784, 8792, 8793, 8794, 8795, 8797, 23495, 27242, 51330, 55504); опухолевой белок p53 (TP53; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7157); опухолевой супрессор 2, митохондриальный регулятор кальция (TUSC2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11334); протеинтирозинкиназа TYRO3 (TYRO3; BYK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7301); тирозиназа (TYR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7299); тирозингидроксилаза (TH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7054); тирозинкиназа с иммуноглобулин-подобным и EGF-подобным доменами 1 (например, TIE1, TIE1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7075); тирозин-протеинфосфатаза нерецепторного типа 11 (PTPN11, SHP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5781); конъюгирующий убиквитин фермент E2 I (UBE2I, UBC9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7329); убиквитин-С-концевая гидролаза L5 (UCHL5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51377); убиквитин-специфическая протеаза 7 (USP7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7874); активирующий убиквитин-подобный модификатор фермент 1 (UBA1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7317); связывающие UL16 белки (например, ULBP1, ULBP2, ULBP3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79465, 80328, 80328); валозинсодержащий белок (VCP, CDC48; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7415); молекула адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (VCAM1, CD106; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7412); факторы роста эндотелия сосудов (например, VEGFA, VEGFB; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7422, 7423); виментин (VIM; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7431); рецептор витамина D (VDR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7421); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7-H4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79679); V-set иммунорегуляторный рецептор (VSIR, VISTA, B7-H5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64115); киназа контрольной точки WEE1 G2 (WEE1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7465); RecQ-подобная геликаза WRN (WRN; RECQ3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7486); фактор транскрипции WT1 (WT1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7490); содержащий домен WW регулятор транскрипции 1 (WWTR1, TAZ; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 25937); X-С-мотив-хемокиновый лиганд 1 (XCL1, ATAC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6375); X-С-мотив-хемокиновый рецептор 1 (XCR1, GPR5, CCXCR1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2829); ассоциированный с Yes1 регулятор транскрипции (YAP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10413); ассоциированная с дзета-цепью протеинкиназа 70 (ZAP70; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7535).

[0321] В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных терапевтических агентов включают, например, ингибитор или антагонист: протеинтирозинфосфатазы, нерецепторного типа

11 (PTPN11 или SHP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5781); регулятор апоптоза последовательности 1 миелолейкозной клетки (MCL1) (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4170); киназа киназы киназы митоген-активируемой протеинкиназы 1 (MAP4K1) (также называемая киназа гематопозитической клетки-предшественника 1 (HPK1), идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11184); фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназа, включая каталитическую субъединицу альфа (PIK3CA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5290), каталитическую субъединицу бета (PIK3CB; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5291), каталитическую субъединицу гамма (PIK3CG; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5294) и каталитическую субъединицу дельта (PIK3CD; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5293), диацилглицеринкиназа-альфа (DGKA, DAGK, DAGK1 или DGK-альфа; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1606); 5'-нуклеотидаза экто (NT5E или CD73; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4907); эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза 1 (ENTPD1 или CD39; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 593); трансформирующий фактор роста бета 1 (TGFB1 или TGFβ; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7040); гемоксигеназа 1 (HMOX1, HO-1 или HO1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3162); гемоксигеназа 2 (HMOX2, HO-2 или HO2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3163); фактор роста сосудистого эндотелия A (VEGFA или VEGF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7422); erb-b2-рецепторная тирозинкиназа 2 (ERBB2, HER2, HER2/neu или CD340; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2064), рецептор эпидермального фактора роста (EGFR, ERBB, ERBB1 или HER1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1956); рецепторная тирозинкиназа ALK (ALK, CD246; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 238); поли(АДФ-рибоза) полимеразы 1 (PARP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 142); поли(АДФ-рибоза) полимеразы 2 (PARP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10038); TCDD-индуцибельная поли(АДФ-рибоза)-полимераза (TIPARP, PARP7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 25976); циклинзависимая киназа 4 (CDK4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1019); циклинзависимая киназа 6 (CDK6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1021); член 14 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF14, HVEM, CD270; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8764); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 201633); X-сцепленный ингибитор апоптоза (XIAP, BIRC4, IAP-3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 331); бакуловиральный белок, содержащий повтор IAP, 2 (BIRC2, cIAP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 329); бакуловиральный белок, содержащий повтор IAP, 3 (BIRC3, cIAP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 330); бакуловиральный белок, содержащий повтор IAP, 5 (BIRC5, сурвивин; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 332); C-хемокиновый рецептор 2 (CCR2, CD192; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 729230); C-хемокиновый рецептор 5 (CCR5, CD195; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1234); C-хемокиновый рецептор 8 (CCR8, CDw198; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1237); C-X-хемокиновый рецептор 2 (CXCR2, CD182; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3579); C-X-хемокиновый рецептор 3 (CXCR3, CD182, CD183; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2833); C-X-C-хемокиновый рецептор 4 (CXCR4, CD184; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7852); цитокин-индуцируемый SH2-содержащий белок (CISH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1154); аргиназа (ARG1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 383), ARG2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 384)), карбоангидраза (CA1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 759), CA2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 760), CA3

(идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 761), CA4 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 762), CA5A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 763), CA5B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11238), CA6 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 765), CA7 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 766), CA8 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 767), CA9 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 768), CA10 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 56934), CA11 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 770), CA12 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 771), CA13 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 377677), CA14 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23632)), простагландин-эндопероксид-синтаза 1 (PTGS1, COX-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5742), простагландин-эндопероксид-синтаза 2 (PTGS2, COX-2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5743), секретируемая фосфолипаза A2, простагландин E-синтаза (PTGES, PGES; идентификационный номер гена: 9536), арахидонат-5-липоксигеназа (ALOX5, 5-LOX; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 240) и/или растворимая эпоксидгидролаза 2 (EPHX2, SEH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2053); секретируемая фосфолипаза A2 (например, PLA2G1B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5319); PLA2G7 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7941), PLA2G3 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 50487), PLA2G2A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5320); PLA2G4A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5321); PLA2G12A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 81579); PLA2G12B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84647); PLA2G10 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8399); PLA2G5 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5322); PLA2G2D (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 26279); PLA2G15 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23659)); индоламин-2,3-диоксигеназа 1 (IDO1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3620); индоламин-2,3-диоксигеназа 2 (IDO2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 169355); альфа-субъединица индуцируемого гипоксией фактора 1 (HIF1A; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3091); ангиопэтин 1 (ANGPT1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 284); Эндотелиальная тирозинкиназа ТЕК (TIE-2, TEK, CD202B; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7010); Янус-киназа 1 (JAK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3716); катенин бета-1 (CTNNB1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1499); гистондеацетилаза 9 (HDAC9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9734), 5'-3' экзорибонуклеаза 1 (XRN1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 54464), или RecQ-подобная геликаза WRN (WRN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7486).

Иллюстративные механизмы действия

Модуляторы иммунных контрольных точек

[0322] В некоторых вариантах реализации антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с одним или более блокаторами или ингибиторами белков или рецепторов ингибиторных контрольных точек иммунного ответа и/или с одним или более стимуляторами, активаторами или агонистами одного или более белков или рецепторов стимулирующих иммунных контрольных точек. Блокада или ингибирование ингибирующих иммунных контрольных точек может положительно регулировать активацию Т-клеток или NK-клеток и предотвращать ускользание от иммунологического надзора раковых клеток в опухолевом микроокружении. Активация или стимуляция стимулирующих иммунных контрольных точек может усилить эффект ингибиторов иммунных контрольных

точек в терапии злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления белки или рецепторы иммунных контрольных точек регулируют Т-клеточные ответы (например, рассматриваются в Xu, *et al.*, *J Exp Clin Cancer Res.* (2018) 37:110). В некоторых вариантах осуществления белки или рецепторы иммунных контрольных точек регулируют NK-клеточные ответы (например, рассматриваются в Davis, *et al.*, *Semin Immunol.* (2017) 31:64–75 и Chiossone, *et al.*, *Nat Rev Immunol.* (2018) 18(11):671-688).

[0323] Примеры белков или рецепторов иммунных контрольных точек включают CD27 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 939), CD70 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 970); CD40 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 958), CD40LG (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 959); CD47 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 961), SIRPA (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 140885); CD48 (SLAMF2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 962), содержащий трансмембранный и иммуноглобулиновый домен белок 2 (TMIGD2, CD28H; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 126259), CD84 (LY9B, SLAMF5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8832), CD96 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10225), CD160 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11126), MS4A1 (CD20; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 931), CD244 (SLAMF4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51744); CD276 (B7H3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 80381); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64115); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 152404); лиганд 1 рецептора цитотоксичности натуральных клеток-киллеров 3 (NCR3LG1, B7H6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 374383); HERV-H LTR-ассоциированный белок 2 (HHLA2, B7H7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11148); индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29851); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23308); член 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7293); член 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7292); TNFRSF8 (CD30; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 943), TNFSF8 (CD30L; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 944); TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8797), TNFRSF9 (CD137; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3604), TNFSF9 (CD137L; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8744); TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8795), TNFRSF10 (TRAIL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8743); TNFRSF14 (HVEM, CD270; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8764), TNFSF14 (HVEML; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8740); CD272 (ассоциированный с В- и Т-лимфоцитами белок (BTLA); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 151888); TNFRSF17 (BCMA, CD269; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 608), TNFSF13B (BAFF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10673); TNFRSF18 (GITR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8784), TNFSF18 (GITRL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8995); последовательность А, родственная полипептиду МНС класса I (MICA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 100507436); последовательность В, родственная полипептиду МНС класса I (MICB; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4277); CD274 (CD274, PDL1, PD-L1; идентификационный номер гена в базе

данных NCBI: 29126); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5133); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1493); CD80 (B7-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 941), CD28 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 940); молекула клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5819); CD226 (DNAM-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10666); молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5817); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79037); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 201633); белок-4, содержащий домен иммуноглобулина Т-клеток и домен муцина (TIMD4; TIM4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 91937); клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2, TIMD3, TIM3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84868); галектин 9 (LGALS9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3965); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3902); член 1 семейства сигнальных лимфоцит-активирующих молекул (SLAMF1, SLAM, CD150; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6504); антиген лимфоцита 9 (LY9, CD229, SLAMF3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4063); член 6 семейства SLAM (SLAMF6, CD352; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 114836); член 7 семейства SLAM (SLAMF7, CD319; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 57823); U16-связывающий белок 1 (ULBP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 80329); U16-связывающий белок 2 (ULBP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 80328); U16-связывающий белок 3 (ULBP3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79465); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1E (RAET1E; ULBP4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 135250); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1G (RAET1G; ULBP5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 353091); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1L (RAET1L; ULBP6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 154064); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3811, например, лирилумаб (IPH-2102, IPH-4102)); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3821); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 22914); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C2 (KLRC2, CD159c, NKG2C; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3822); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C3 (KLRC3, NKG2E; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3823); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C4 (KLRC4, NKG2F; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8302); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3802); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3803); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3804); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3824); лектинподобный рецептор клеток-киллеров G1

(KLRG1; CLEC15A, MAFA, 2F1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10219); связывающий сиаловую кислоту Ig-подобный лектин 7 (SIGLEC7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27036); и связывающий сиаловую кислоту Ig-подобный лектин 9 (SIGLEC9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27180).

[0324] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с одним или более блокаторами или ингибиторами одного или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек включают CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); лиганд 2 белка программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1LG2, PD-L2, CD273); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий переменный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEM); CD272 (ассоциированный с В- и Т-лимфоцитами белок (BTLA)); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); и иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1). В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с одним или более агонистами или активаторами одного или более белков или рецепторов Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек включают, но не ограничиваясь этим, CD27, CD70; CD40, CD40LG; индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOS, CD278); лиганда индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); CD244 (2B4, SLAMF4), молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155). См., например, Xu, *et al.*, *J Exp Clin Cancer Res.* (2018) 37:110.

[0325] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с одним или более блокаторами или ингибиторами одного или более белков или рецепторов NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек включают иммуноглобулиноподобный рецептор киллерных клеток, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный

рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1, CD94), лектинподобный рецептор клеток-киллеров G1 (KLRG1; CLEC15A, MAFA, 2F1); связывающий сиаловую кислоту Ig-подобный лектин 7 (SIGLEC7); и связывающий сиаловую кислоту Ig-подобный лектин 9 (SIGLEC9). В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с одним или более агонистами или активаторами одного или более белков или рецепторов NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек включают CD16, CD226 (DNAM-1); CD244 (2B4, SLAMF4); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); член 7 семейства SLAM (SLAMF7). См., например, Zhou et al., *J. Immunol.* (2017) 31:64–75; Fang, et al., *Semin Immunol.* (2017) 31:37-54; и Chiossone, et al., *Nat Rev Immunol.* (2018) 18(11):671-688.

[0326] В некоторых вариантах осуществления один или более ингибиторов иммунных контрольных точек включают белковый ингибитор (например, антитело или его фрагмент, или миметик антитела) PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1), CTLA4 или TIGIT. В некоторых вариантах осуществления один или более ингибиторов иммунных контрольных точек включают малые органические молекулы ингибитора PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1), CTLA4 или TIGIT.

[0327] Примеры ингибиторов CTLA4, которые можно вводить совместно, включают ипилимумаб, тремелиумаб, BMS-986218, AGEN1181, AGEN1884 (залифрелимаб), BMS-986249, MK-1308, REGN-4659, ADU-1604, CS-1002, BCD-145, APL-509, JS-007, BA-3071, ONC-392, AGEN-2041, JHL-1155, KN-044, CG-0161, ATOR-1144, PBI-5D3H5, BPI-002, а также полиспецифические ингибиторы FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/CTLA4), MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4) и AK-104 (CTLA4/PD-1).

[0328] Примеры ингибиторов PD-L1 (CD274) или PD-1 (PDCD1), которые можно вводить совместно, включают пембролизумаб, ниволумаб, цемиплимаб, пидилизумаб, AMP-224, MEDI0680 (AMP-514), спартализумаб, атезолизумаб, авелумаб, дурвалумаб, BMS-936559, CK-301, PF-06801591, BGB-A317 (тислелизумаб), GLS-010 (WBP-3055), AK-103 (HX-008), AK-105, CS-1003, HLX-10, MGA-012, BI-754091, AGEN-2034, JS-001 (торипалимаб), JNJ-63723283, генолимзумаб (CBT-501), LZM-009, BCD-100, LY-3300054, SHR-1201, SHR-1210 (камрелизумаб), Sym-021, ABBV-181, PD1-PIK, BAT-1306, (MSB0010718C), CX-072, CBT-502, TSR-042 (достарлимаб), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155, KN-035, IBI-308 (синтилимаб), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, TQB-2450, MDX1105-01, GS-4224, GS-4416, INCB086550, MAX10181, AGEN2034 (балстилимаб), зимберелимаб, а также полиспецифические ингибиторы FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/CTLA4), MGD-013 (PD-1/LAG-3), FS-118 (LAG-3/PD-L1) MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4), AK-104 (CTLA4/PD-1), M7824 (домен PD-L1/TGFβ-EC), CA-170 (PD-L1/VISTA), CDX-527 (CD27/PD-L1), LY-3415244 (TIM3/PDL1) и INBRX-105 (4-1BB/PDL1).

[0329] Примеры ингибиторов TIGIT, которые можно вводить совместно, включают тираголумаб (RG-6058), вибостолимаб, домваналимаб, AB308, домваналимаб (AB154), AB308, BMS-986207, AGEN-1307, COM-902 или этигилимаб.

Агонисты или активаторы членов суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF)

[0330] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с агонистом одного или более членов суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF), например агонистом одного или более TNFRSF1A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7132), TNFRSF1B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7133), TNFRSF4 (OX40, CD134; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7293), TNFRSF5 (CD40; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 958), TNFRSF6 (FAS, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 355), TNFRSF7 (CD27, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 939), TNFRSF8 (CD30, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 943), TNFRSF9 (4-1BB, CD137, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3604), TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8797), TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8795), TNFRSF10C (CD263, TRAILR3, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8794), TNFRSF10D (CD264, TRAILR4, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8793), TNFRSF11A (CD265, RANK, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8792), TNFRSF11B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4982), TNFRSF12A (CD266, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51330), TNFRSF13B (CD267, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23495), TNFRSF13C (CD268, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 115650), TNFRSF16 (NGFR, CD271, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4804), TNFRSF17 (BCMA, CD269, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 608), TNFRSF18 (GITR, CD357, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8784), TNFRSF19 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 55504), TNFRSF21 (CD358, DR6, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27242), и TNFRSF25 (DR3, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8718).

[0331] Примеры антител к TNFRSF4 (OX40), которые можно вводить совместно, включают MEDI6469, MEDI6383, MEDI0562 (таволиксизумаб), MOXR0916, PF-04518600, RG-7888, GSK-3174998, INCAGN1949, BMS-986178, GBR-8383, ABBV-368, и те, которые описаны в WO2016179517, WO2017096179, WO2017096182, WO2017096281 и WO2018089628.

[0332] Примеры антител к TNFRSF5 (CD40), которые можно вводить совместно, включают RG7876, SEA-CD40, APX-005M и ABBV-428.

[0333] В некоторых вариантах осуществления совместно вводят антитело к TNFRSF7 (CD27) варлилумаб (CDX-1127).

[0334] Примеры антител к TNFRSF9 (4-1BB, CD137), которые можно вводить совместно, включают урелумаб, утомилумаб (PF-05082566), AGEN2373 и ADG-106.

[0335] В некоторых вариантах осуществления совместно вводят антитело к TNFRSF17 (BCMA) GSK-2857916.

[0336] Примеры антител к TNFRSF18 (GITR), которые можно вводить совместно, включают MEDI1873, FPA-154, INCAGN-1876, TRX-518, BMS-986156, MK-1248, GWN-323 и антитела, описанные в WO2017096179, WO2017096276, WO2017096189 и WO2018089628. В некоторых вариантах осуществления совместно вводят антитело или его фрагмент, нацеленные на TNFRSF4 (OX40) и TNFRSF18 (GITR). Такие антитела описаны, например, в WO2017096179 и WO2018089628.

[0337] Биспецифические антитела, нацеленные на членов семейства TNFRSF, которые можно вводить совместно, включают PRS-343 (CD-137/HER2), AFM26 (BCMA/CD16A), AFM-13 (CD16/CD30), REGN-1979 (CD20/CD3), AMG-420 (BCMA/CD3), INHIBRX-105 (4-1BB/PDL1), FAP-4-IBBL (4-1BB/FAP), XmAb-

13676 (CD3/CD20), RG-7828 (CD20/CD3), CC-93269 (CD3/BCMA), REGN-5458 (CD3/BCMA) и IMM-0306 (CD47/CD20).

Привлекающие Т-клетки биспецифические активаторы

[0338] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с привлекающим Т-клетки биспецифическим активатором (например, не содержащим Fc) или биспецифическим антителом к CD3 (например, имеющим Fc). Иллюстративные биспецифические антитела к CD3 или BiTE, которые можно вводить совместно, включают: JNJ-64052781 (CD19/CD3), AMG-211 (CEA/CD3), RG7802 (CEA/CD3), ERY-974 (CD3/GPC3), PF-06671008 (кадгерины/CD3), APVO436 (CD123/CD3), флотетузмаб (CD123/CD3), REGN-1979 (CD20/CD3), MCLA-117 (CD3/CLEC12A), JNJ-0819, JNJ-7564 (CD3/гер), AMG-757 (DLL3-CD3), AMG-330 (CD33/CD3), AMG-420 (BCMA/CD3), JNJ-63709178 (CD123/CD3), MGD-007 (CD3/gpA33), MGD-009 (CD3/B7H3), IMCgp100 (CD3/gp100), XmAb-14045 (CD123/CD3), XmAb-13676 (CD3/CD20), XmAb-18087 (SSTR2/CD3), катумаксомаб (CD3/EpCAM), REGN-4018 (MUC16/CD3), RG-7828 (CD20/CD3), CC-93269 (CD3/BCMA), REGN-5458 (CD3/BCMA), GRB-1302 (CD3/Erbb2), GRB-1342 (CD38/CD3), GEM-333 (CD3/CD33). Соответственно, биспецифические молекулы, связывающиеся с CD3, могут иметь или не иметь Fc. Иллюстративные привлекающие Т-клетки биспецифические активаторы, которые можно вводить совместно с CD3-мишенью и опухолеассоциированным антигеном, как описано в данном документе, включая, например, CD19 (например, блинатумомаб); CD33 (например, AMG330); CEA (например, MEDI-565); Орфан-рецептор 1, подобный рецептору тирозинкиназы (ROR1) (Gohil, *et al.*, *Oncoimmunology*. (2017) May 17;6(7):e1326437); PD-L1 (Horn, *et al.*, *Oncotarget*. 2017 Aug 3;8(35):57964-57980); и EGFRvIII (Yang, *et al.*, *Cancer Lett*. 2017 Sep 10;403:224-230).

Привлекающие натуральные клетки-киллеры (NK) биспецифические и триспецифические активаторы

[0339] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с привлекающим NK-клетки биспецифическим активатором (BiKE) или привлекающим NK-клетки триспецифическим активатором (TriKE) (например, не имеющим Fc) или биспецифическим антителом (например, имеющим Fc) против NK-клеточного активирующего рецептора, например CD16A, лектиновых рецепторов С-типа (CD94/NKG2C, NKG2D, NKG2E/Н и NKG2F), рецепторов натуральной цитотоксичности (NKp30, NKp44 и NKp46), лектин-подобных рецепторов С-типа клеток-киллеров (NKp65, NKp80), Fc-рецептора FcγR (который опосредует антителозависимую клеточную цитотоксичность), рецепторов семейства SLAM (например, 2B4, SLAMF6 и SLAMF7), иммуноглобулиноподобных рецепторов клеток-киллеров (KIR) (KIR-2DS и KIR-3DS), DNAM-1 и CD137 (41BB). Иллюстративные биспецифические антитела к CD16, BiKE или TriKE, которые можно вводить совместно, включают AFM26 (BCMA/CD16A) и AFM-13 (CD16/CD30). Соответственно, биспецифические молекулы, связывающиеся с CD16, могут иметь или не иметь Fc. Иллюстративные привлекающие NK-клеток биспецифические активаторы, которые можно вводить совместно с CD16-мишенью и одним или более опухолеассоциированными антигенами, как описано в данном документе, включая, например, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD123, EGFR, EpCAM, ганглиозид GD2, HER2/neu, HLA класса II и FOLR1. BiKE и TriKE описаны, например, в Felices, *et al.*, *Methods Mol Biol*. (2016) 1441:333-346; Fang, *et al.*, *Semin Immunol*. (2017) 31:37-54.

ингибиторы регулятора апоптоза MCL1, члена семейства BCL2 (MCL1)

[0340] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с ингибитором регулятора апоптоза MCL1, члена семейства BCL2 (MCL1,

TM; EAT; MCL1L; MCL1S; Mcl-1; BCL2L3; MCL1-ES; bcl2-L-3; mcl1/EAT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4170). Примеры ингибиторов MCL1 включают AMG-176, AMG-397, S-64315, AZD-5991, 483-LM, A-1210477, UMI-77, JKY-5-037, GS-9716 и те, которые описаны в WO2018183418, WO2016033486 и WO2017147410.

Ингибиторы SHP2

[0341] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором протеинтирозинфосфатазы нерецепторного типа 11 (PTPN11; BPTP3, CFC, JMMML, METCDS, NS1, PTP-1D, PTP2C, SH-PTP2, SH-PTP3, SHP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5781). Примеры ингибиторов SHP2 включают TNO155 (SHP-099), RMC-4550, JAB-3068, RMC-4630 и ингибиторы, описанные в WO2018172984 и WO2017211303.

Ингибиторы киназы гематопозитической клетки-предшественника 1 (HPK1)

[0342] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором киназы киназы киназы митоген-активируемой протеинкиназы 1 (MAP4K1, HPK1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11184). Примеры ингибиторов киназы гематопозитической клетки-предшественника 1 (HPK1) включают, без ограничения, ингибиторы, описанные в WO2020092621, WO2018183956, WO2018183964, WO2018167147, WO2018183964, WO2016205942, WO2018049214, WO2018049200, WO2018049191, WO2018102366, WO2018049152 и WO2016090300.

Ингибиторы регулирующих апоптотических сигналы киназы (ASK)

[0343] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором ингибитора ASK, например, киназы киназы митоген-активируемой протеинкиназы 5 (MAP3K5; ASK1, MAPKKK5, MEKK5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4217). Примеры ингибиторов ASK1 включают ингибиторы, описанные в WO 2011008709 (Gilead Sciences) и WO 2013112741 (Gilead Sciences).

Ингибиторы тирозинкиназы Брутона (BTK)

[0344] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором тирозинкиназы Брутона (BTK, AGMX1, AT, ATK, BPK, IGHD3, IMD1, PSCTK1, XLA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 695). Примеры ингибиторов BTK включают (S)-6-амино-9-(1-(бут-2-иноил)пирролидин-3-ил)-7-(4-феноксифенил)-7Н-пурин-8 (9Н)-он, акалабрутиниб (ACP-196), BGB-3111, CB988, HM71224, ибрутиниб, М-2951 (эвобрутиниб), М7583, тирабрутиниб (ONO-4059), PRN-1008, спебрутиниб (CC-292), TAK-020, векабрутиниб, ARQ-531, SHR-1459, DTRMWXHS-12 и TAS-5315.

Ингибиторы кластер дифференцировки 47 (CD47)

[0345] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором CD47 (IAP, MER6, OA3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 961). Примеры ингибиторов CD47 включают мкАт к CD47 (Vx-1004), мкАт к CD47 человека (CNTO-7108), CC-90002, CC-90002-ST-001, гуманизированное антитело к CD47 или блокирующий CD47 агент (Hu5F9-G4), NI-1701, NI-1801, RCT-1938 и TTI-621. В некоторых вариантах осуществления ингибитор CD47 представляет собой маглолимаб.

Нацеленные на SIRP α агенты

[0346] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с агентом, нацеленным на SIRP α (идентификационный номер гена

в базе данных NCBI: 140885; UniProt P78324). Примеры нацеленных на SIRP α агентов включают ингибиторы SIRP α , например AL-008, RRx-001 и CTX-5861, и антитела к SIRP α , например FSI-189 (GS-0189), ES-004, BI765063, ADU1805 и CC-95251. Дополнительные нацеленные на SIRP α агенты описаны, например, в WO200140307, WO2002092784, WO2007133811, WO2009046541, WO2010083253, WO2011076781, WO2013056352, WO2015138600, WO2016179399, WO2016205042, WO2017178653, WO2018026600, WO2018057669, WO2018107058, WO2018190719, WO2018210793, WO2019023347, WO2019042470, WO2019175218, WO2019183266, WO2020013170 и WO2020068752.

Ингибиторы циклинзависимой киназы (CDK)

[0347] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором циклинзависимой киназы 1 (CDK1, CDC2; CDC28A; P34CDC2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 983); циклинзависимой киназы 2 (CDK2, CDKN2; p33(CDK2); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1017); циклинзависимой киназы 3 (CDK3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1018); циклинзависимой киназы 4 (CDK4, CMM3; PSK-J3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1019); циклинзависимой киназы 6 (CDK6, MCPH12; PLSTIRE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1021); циклинзависимой киназы 7 (CDK7, CAK; CAK1; HCAK; MO15; STK1; CDKN7; p39MO15; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1022), или циклинзависимой киназы 9 (CDK9, TAK; C-2k; CTK1; CDC2L4; PITALRE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1025). Ингибиторы CDK 1, 2, 3, 4, 6, 7 и/или 9 включают абемациклиб, альвоцидиб (HMR-1275, флавопиридол), AT-7519, динациклиб, ибранс, FLX-925, LEE001, палбоциклиб, рибоциклиб, ригосертиб, селинексор, UCN-01, SY1365, CT-7001, SY-1365, G1T38, милциклиб, трилациклиб и TG-02.

Ингибиторы рецепторов дискоидинового домена (DDR)

[0348] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), комбинируют с ингибитором рецепторной тирозинкиназы с дискоидиновым доменом 1 (DDR1, CAK, CD167, DDR, EDDR1, HGK2, MCK10, NEP, NTRK4, PTK3, PTK3A, RTK6, TRKE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 780); и/или рецептора дискоидинового домена тирозинкиназы 2 (DDR2, MIG20a, NTRKR3, TKT, TYRO10, WRCN; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4921). Примеры ингибиторов DDR включают дазатиниб и ингибиторы, которые описаны в WO2014/047624 (Gilead Sciences), US 2009-0142345 (Takeda Pharmaceutical), US 2011-0287011 (Oncomed Pharmaceuticals), WO 2013/027802 (Chugai Pharmaceutical) и WO2013/034933 (Imperial Innovations).

Нацеленные конъюгаты E3-лигаза-лиганд

[0349] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с нацеленным конъюгатом E3-лигаза-лиганд. Такие конъюгаты имеют фрагмент, связывающий целевой белок, и фрагмент, связывающий E3-лигазу, (например, ингибитор белка апоптоза (IAP) (например, XIAP, c-IAP1, c-IAP2, NIL-IAP, Вrise и сурвивин), связывающий убиквитинлигазу E3 фрагмент, связывающий убиквитинлигазу E3 фон Гиппеля-Линдау (VHL) фрагмент, связывающий убиквитинлигазу E3 церебелона фрагмент, связывающий убиквитинлигазу E3 гомолога 2 мышечного двойного микробелка (MDM2) фрагмент), и могут использоваться для стимулирования или увеличения деградации белков-мишеней, например, через убиквитиновый путь. В некоторых вариантах осуществления нацеленные конъюгаты E3-лигаза-лиганд содержат нацеливающий или связывающий фрагмент, который нацеливается или связывается с белком, описанным в настоящем документе, и E3-лигаза-лиганд или связывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления нацеленные конъюгаты E3-лигаза-лиганд содержат

нацеленный или связывающий фрагмент, который нацелен или связывает белок из протоонкогена B Cbl (CBLB; Cbl-b, Nbla00127, RNF56; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 868) и альфа-субъединицы индуцируемого гипоксией фактора 1 (HIF1A; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3091). В некоторых вариантах осуществления нацеленные конъюгаты Е3-лигаза-лиганд включает ингибитор киназы (например, низкомолекулярный ингибитор киназы, например ВТК и Е3-лигаза-лиганд или связывающий фрагмент. См., например, WO2018098280. В некоторых вариантах осуществления нацеленные конъюгаты Е3-лигаза-лиганд содержат связывающий фрагмент, нацеленный или связывающийся с киназой-4, ассоциированной с рецептором интерлейкина-1 (IL-1) (IRAK-4); белком быстроразвивающейся фибросаркомы (RAF, например, c-RAF, A-RAF и/или B-RAF), c-Met/p38 или белком BRD; и лиганд Е3-лигазы или связывающий фрагмент. См., например, WO2019099926, WO2018226542, WO2018119448, WO2018223909, WO2019079701. Дополнительные нацеленные конъюгаты Е3-лигаза-лиганд, которые можно вводить совместно, описаны, например, в WO2018237026, WO2019084026, WO2019084030, WO2019067733, WO2019043217, WO2019043208 и WO2018144649.

Ингибиторы гистондеацетилазы (HDAC)

[0350] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором гистоновой деацетилазы, например, гистоновой деацетилазы 9 (HDAC9, HD7, HD7b, HD9, HDAC, HDAC7, HDAC7B, HDAC9B, HDAC9FL, HDRP, MTR; идентификационный номер гена: 9734). Примеры ингибиторов HDAC включают абексिनостат, ACY-241, AR-42, BEBT-908, белиностат, CKD-581, CS-055 (HBI-8000), CUDC-907 (фимепиноустат), энтиностат, гивиноустат, моцетиностат, панобиноустат, прациноустат, хизиноустат (JNJ-26481585), резминоустат, риколиностат, SHP-141, вальпроевую кислоту (VAL-001), вориноустат, тиностамустин, реметиностат и энтиностат.

Ингибиторы индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназы (IDO1)

[0351] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с ингибитором индоламин-2,3-диоксигеназы 1 (IDO1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3620). Примеры ингибиторов IDO1 включают BLV-0801, эпакадостат, F-001287, GBV-1012, GBV-1028, GDC-0919, индоксимод, NKTR-218, вакцину на основе NLG-919, PF-06840003, производные пиранонафтохинона (SN-35837), ресминоустат, SBLK-200802, BMS-986205 и shIDO-ST, EOS-200271, KHK-2455 и LY-3381916.

Ингибиторы Янус-киназы (JAK)

[0352] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором Янус-киназы 1 (JAK1, JAK1A, JAK1B, JTK3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3716); Янус-киназа 2 (JAK2, JTK10, THCYT3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3717); и/или Янус-киназа 3 (JAK3, JAK-3, JAK3_HUMAN, JAKL, L-JAK, LJAK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3718). Примеры ингибиторов JAK включают AT9283, AZD1480, барицитиниб, BMS-911543, федратиниб, филготиниб (GLPG0634), гандотиниб (LY2784544), INCB039110 (итацитиниб), лестауртиниб, момеритиниб, (CYT0387), NS-018, пакритиниб (SB1518), пецитиниб (ASP015K), руксолитиниб, тофацитиниб (ранее тасоцитиниб), INCB052793 и XL019.

Ингибиторы лизилоксидазоподобного белка (LOXL)

[0353] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором белка LOXL, например LOXL1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4016), LOXL2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4017),

LOXL3 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84695), LOXL4 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84171), и/или LOX (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4015). Примеры ингибиторов LOXL2 включают антитела, описанные в WO 2009017833 (Arresto Biosciences), WO 2009035791 (Arresto Biosciences) и WO 2011097513 (Gilead Biologics).

Ингибиторы матриксных металлопротеиназ (ММР)

[0354] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором матриксной металлопептидазы (ММР), например, ингибитором MMP1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4312), MMP2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4313), MMP3 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4314), MMP7 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4316), MMP8 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4317), MMP9 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4318); MMP10 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4319); MMP11 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4320); MMP12 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4321), MMP13 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4322), MMP14 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4323), MMP15 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4324), MMP16 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4325), MMP17 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4326), MMP19 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4327), MMP20 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9313), MMP21 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 118856), MMP24 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10893), MMP25 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64386), MMP26 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 56547), MMP27 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64066) и/или MMP28 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79148). Примеры ингибиторов MMP9 включают маримастат (BB-2516), ципемастат (Ro 32-3555), GS-5745 (андекаликсимаб) и ингибиторы, описанные в WO 2012027721 (Gilead Biologics).

Ингибиторы RAS и пути RAS

[0355] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят со следующим: ингибитор протоонкогена KRAS, ГТФаза (KRAS; известный как NS; NS3; CFC2; RALD; K-Ras; KRAS1; KRAS2; RASK2; KI-RAS; C-K-RAS; K-RAS2A; K-RAS2B; K-RAS4A; K-RAS4B; c-Ki-ras2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3845); протоонкоген NRAS, ГТФаза (NRAS; известный как NS6; CMNS; NCMS; ALPS4; N-ras; NRAS1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4893) или протоонкоген HRAS, ГТФаза (HRAS; известный как CTLO; KRAS; HAMS; HRAS1; KRAS2; RASH1; RASK2; Ki-Ras; p21ras; C-H-RAS; c-K-ras; H-RASIDX; c-Ki-ras; C-BAS/HAS; C-HA-RAS1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3265). Ингибиторы Ras могут ингибировать Ras либо на уровне полинуклеотида (например, ингибитора транскрипции), либо на уровне полипептида (например, ингибитора фермента ГТФазы). В некоторых вариантах осуществления ингибиторы нацелены на один или более белков в пути Ras, например, ингибируют один или более из EGFR, Ras, Raf (A-Raf, B-Raf, C-Raf), MEK (MEK1, MEK2), ERK, PI3K, AKT и mTOR. Иллюстративные ингибиторы K-Ras, которые можно вводить совместно, включают ARS-1620 (G12C), SML-8-73-1 (G12C), соединение 3144 (G12D), Kobe0065/2602 (Ras GTP), RT11, MRTX-849 (G12C) и K-Ras(G12D)-селективные ингибирующие пептиды, включая KRrep-2 (Ac-RRCPYISYDPVCRR-NH₂) (SEQ ID NO: 126) и KRrep-2d (Ac-RRRRCPYISYDPVCRRRR-NH₂) (SEQ ID NO: 127). Иллюстративные ингибиторы мРНК KRAS включают анти-KRAS U1 адаптер, AZD-4785, siG12D-LODER™ и экзосомы с siG12D.

Иллюстративные ингибиторы MEK, которые можно вводить совместно, включают биниметиниб, кобиметиниб, PD-0325901, пимасертиб, RG-7304, селуметиниб, траметиниб, и ингибиторы, описанные ниже и в данном документе. Иллюстративные ингибиторы димера Raf, которые можно вводить совместно, включают BGB-283, HM-95573, LXH-254, LY-3009120, RG7304 и TAK-580. Иллюстративные ингибиторы ERK, которые можно вводить совместно, включают LTT-462, LY-3214996, MK-8353, равоксертиниб и уликсертиниб. Иллюстративные ингибиторы Ras-ГТФазы, которые можно вводить совместно, включают ригосертиб. Иллюстративные ингибиторы PI3K, которые можно вводить совместно, включают иделалисиб (Zydelig®), алпелисиб, бупарлисиб и пиктилисиб. Иллюстративные ингибиторы PI3K/mTOR, которые можно вводить совместно, включают дактолизиб, омипалисиб и воксталисиб. В некоторых вариантах осуществления Ras-зависимое злокачественное новообразование (например, NSCLC), имеющее мутации CDKN2A, можно ингибировать совместным введением ингибитора MEK селуметиниба и ингибитора CDK4/6 палбоциклиба. См., например, Zhou, *et al.*, *Cancer Lett.* 2017 Nov 1;408:130-137. Кроме того, K-RAS и мутантный N-RAS могут быть уменьшены необратимым ингибитором ERBB1/2/4 нератинибом. См., например, Booth, *et al.*, *Cancer Biol Ther.* 2018 Feb 1;19(2):132-137.

Ингибиторы митоген-активируемой протеинкиназы (MEK)

[0356] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором активируемой митогеном протеинкиназы киназы 7 (MAP2K7, JNKK2, MAPKK7, MEK, MEK 7, MKK7, PRKMK7, SAPKK-4, SAPKK4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5609). Примеры ингибиторов MEK включают антрохинонол, биниметиниб, кобиметиниб (GDC-0973, XL-518), MT-144, селуметиниб (AZD6244), сорафениб, траметиниб (GSK1120212), упрозертиб + траметиниб, PD-0325901, пимасертиб, LTT462, AS703988, CC-90003 и рефаметиниб.

Ингибиторы фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)

[0357] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором каталитической субъединицы фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы, например каталитической субъединицы альфа фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CA, CLAPO, CLOVE, CWS5, MCAP, MCM, MCMTC, PI3K, PI3K-альфа, p110-альфа; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5290); каталитической субъединицы бета фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CB, P110-бета, PI3K, PI3K-бета, PIK3C1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5291); каталитической субъединицы гамма фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CG, PI3CG, PI3K, PI3K-гамма, PIK3, p110-гамма, p120-PI3K; идентификационный номер гена: 5494); и/или каталитической субъединицы дельта фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CD, APDS, IMD14, P110-дельта, PI3K, p110D, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5293). В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K представляет собой ингибитор пан-PI3K. Примеры ингибиторов PI3K включают ACP-319, AEZA-129, AMG-319, AS252424, AZD8186, BAY 10824391, BEZ235, бупарлисиб (BKM120), BYL719 (алпелисиб), CH5132799, копанлисиб (BAY 80-6946), дувелисиб, GDC-0032, GDC-0077, GDC-0941, GDC-0980, GSK2636771, GSK2269557, иделалисиб (Zydelig®), INCB50465, IPI-145, IPI-443, IPI-549, KAR4141, LY294002, LY3023414, MLN1117, OXY111A, PA799, PX-866, RG7604, ригосертиб, RP5090, RP6530, SRX3177, таселисиб, TG100115, TGR-1202 (умбралисиб), TGX221, WX-037, X-339, X-414, XL147 (SAR245408), XL499, XL756, вортманнин, ZSTK474 и соединения, описанные в WO2005113556 (ICOS), WO 2013/052699 (Gilead Calistoga), WO2013116562 (Gilead Calistoga), WO2014100765 (Gilead Calistoga), WO2014100767 (Gilead Calistoga) и WO2014201409 (Gilead Sciences).

Ингибиторы тирозинкиназы селезенки (SYK)

[0358] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором ассоциированной с селезенкой тирозинкиназы (SYK, p72-Syk, ID гена: 6850). Примеры ингибиторов SYK включают 6-(1H-индазол-6-ил)-N-(4-морфолинофенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин, BAY-61-3606, цердулатиниб (PRT-062607), энтосплетиниб, фостаматиниб (R788), HMPL-523, NVP-QAB 205 AA, R112, R343, таматиниб (R406) и те, которые описаны в US8450321 (Gilead Connecticut) и US20150175616.

Агонисты Toll-подобных рецепторов (TLR)

[0359] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с агонистом Toll-подобного рецептора (TLR), например, агонистом TLR1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7096), TLR2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7097), TLR3 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7098), TLR4 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7099), TLR5 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7100), TLR6 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10333), TLR7 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51284), TLR8 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51311), TLR9 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 54106), и/или TLR10 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 81793). Примеры агонистов TLR7, которые можно вводить совместно, включают DS-0509, GS-9620 (весатолимод), аналоги весатолимода, LHC-165, TMX-101 (имиквимод), GSK-2245035, резиквимод, DSR-6434, DSP-3025, IMO-4200, MCT-465, MEDI-9197, 3M-051, SB-9922, 3M-052, Limtop, TMX-30X, TMX-202, RG-7863, RG-7795, и соединения, описанные в US20100143301 (Gilead Sciences), US20110098248 (Gilead Sciences) и US20090047249 (Gilead Sciences), US20140045849 (Janssen), US20140073642 (Janssen), WO2014056953 (Janssen), WO2014076221 (Janssen), WO2014128189 (Janssen), US20140350031 (Janssen), WO2014023813 (Janssen), US20080234251 (Array Biopharma), US20080306050 (Array Biopharma), US20100029585 (Ventirx Pharma), US20110092485 (Ventirx Pharma), US20110118235 (Ventirx Pharma), US20120082658 (Ventirx Pharma), US20120219615 (Ventirx Pharma), US20140066432 (Ventirx Pharma), US20140088085 (Ventirx Pharma), US20140275167 (Novira Therapeutics) и US20130251673 (Novira Therapeutics). Агонист TLR7/TLR8, который можно вводить совместно, представляет собой NKTR-262. Примеры агонистов TLR8, которые можно вводить совместно, включают E-6887, IMO-4200, IMO-8400, IMO-9200, MCT-465, MEDI-9197, моталимод, резиквимод, GS-9688, VTX-1463, VTX-763, 3M-051, 3M-052, и соединения, описанные в US20140045849 (Janssen), US20140073642 (Janssen), WO2014/056953 (Janssen), WO2014/076221 (Janssen), WO2014/128189 (Janssen), US20140350031 (Janssen), WO2014/023813 (Janssen), US20080234251 (Array Biopharma), US20080306050 (Array Biopharma), US20100029585 (Ventirx Pharma), US20110092485 (Ventirx Pharma), US20110118235 (Ventirx Pharma), US20120082658 (Ventirx Pharma), US20120219615 (Ventirx Pharma), US20140066432 (Ventirx Pharma), US20140088085 (Ventirx Pharma), US20140275167 (Novira Therapeutics) и US20130251673 (Novira Therapeutics). Примеры агонистов TLR9, которые можно вводить совместно, включают AST-008, CMP-001, IMO-2055, IMO-2125, литенимоб, MGN-1601, BB-001, BB-006, IMO-3100, IMO-8400, IR-103, IMO-9200, агатолимод, DIMS-9054, DV-1079, DV-1179, AZD-1419, лефтолимоб (MGN-1703), CYT-003, CYT-003-QbG10 и PUL-042. Примеры агониста TLR3 включают ринтатолимод, поли-ICLC, RIBOXXON®, Ароххим, RIBOXXIM®, IPH-33, MCT-465, MCT-475, и ND-1.1.

Ингибиторы тирозинкиназы (TKI)

[0360] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с ингибитором тирозинкиназы (TKI). TKI могут быть нацелены на рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR) и рецепторы фактора роста фибробластов (FGF), тромбоцитарного фактора роста (PDGF) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). Примеры TKI включают, но не ограничиваясь этим, афатиниб, ARQ-087 (деразантиниб), asp5878, AZD3759, AZD4547, босутиниб, бригафиниб, кабозантиниб, цедираниб, креноланиб, дакомитиниб, дазатиниб, довитиниб, E-6201, эрдафитиниб, эрлотиниб, гефитиниб, гилтеритиниб (ASP-2215), FP-1039, HM61713, икотиниб, иматиниб, KX2-391 (Src), лапатиниб, лестуртиниб, ленватиниб, мидостаурин, нинтеданиб, ODM-203, осимертиниб (AZD-9291), понатиниб, poziотиниб, квизартиниб, радотиниб, роцилетиниб, сульфатиниб (HMPL-012), сунитиниб, L-малат фамитиниба, (MAC-4), тивозаниб, TH-4000, и MEDI-575 (антитело к PDGFR).

Химиотерапевтические агенты

[0361] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с химиотерапевтическим агентом или противоопухолевым агентом.

[0362] В контексте данного документа подразумевается, что термин «химиотерапевтический агент» или «химиотерапевтическое средство» (или «химиотерапия» в случае лечения химиотерапевтическим агентом) включает любое небелковое (например, непептидное) химическое соединение, применимое при лечении рака. Примеры химиотерапевтических агентов включают следующее, но не ограничиваются ими: алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN®); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодепа, карбоквон, метуредеп и уредеп; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилендиофосфорамид и тримелитолломеламин; ацетогенины, например, буллатацин и буллатацинон; камптотецин, включая синтетический аналог топотекан; бриостатин, каллистатин; CC-1065, включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин; криптофицины, особенно криптофицин 1 и криптофицин 8; доластатин; дуокармицин, включая синтетические аналоги KW-2189 и CBI-TMI; элеутеробин; 5-азацитидин; панкреатистатин; саркодиктиин; спонгистатин; азотистые иприты, например, хлорамбуцил, хлорнафазин, циклофосфамид, глюфосфамид, эвафосфамид, бендамустин, эстрамустин, ифосфамид, мехлорэтамин, мехлорэтамин оксид гидрохлорид, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид и урамустин; нитрозомочевины, например, кармустин, хлорозотоцин, форемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, например, эндиновые антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин гамма-II и калихеамицин-фи II), динемидин, включая динемидин А, бисфосфонаты, например, клодронат, эсперамицин, хромофор неокарзиностатины и родственные хромофоры антибиотика хромопротеин энедина, аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин (включая морфолинодоксорубицин, цианоморфолинодоксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзрубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, например, митомицин С, микофеноловая кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфирамицин, пуромидин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин и зорубицин; антиметаболиты, например, метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, например, демоптерин, метотрексат, птероптерин и триметотрексат; аналоги пурина, например, кладрибин, пентостатин, флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн и тиогуанин; аналоги пиримидина, например, анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин

и флоксуридин; андрогены, например, калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, мепитиостан и тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, например, аминоклутетимид, митоган и трилостан; восполнитель фолиевой кислоты, например, фролиновая кислота; радиотерапевтические агенты, например, радий-223; трихотечены, особенно токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангидин; таксоиды, например, паклитаксел (TAXOL®), абраксан, доцетаксел (TAXOTERE®), кабазитаксел, BIND-014, тезетаксел; аналоги платины, например, цисплатин и карбоплатин, наноплатин NC-6004; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновая кислота; энилурацил; амсакрин; гестрабуцил; бисантрен; эдатраксат; дефофамин; демексолцин; диазиквон; элформитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лейковорин; лонидамин; майтанзиноиды, например, майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; лозоксантрон; фторпиримидин; фолиновая кислота; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахарид-К (PSK); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазононовая кислота; трабектин, триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; уретан; виндесин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид («Ага-С»); циклофосфамид; тиотепа; хлорамбуцил; гемцитабин (GEMZAR®); 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин (NAVELBINE®); новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоклутерин; кселода; ибандронат; CPT-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; диформетилорнитин (DFMO); ретиноиды, например, ретиноевая кислота; капецитабин; NUC-1031; FOLFOX (фолиниевая кислота, 5-фторурацил, оксалиплатин); FOLFIRI (фолиниевая кислота, 5-фторурацил, иринотекан); FOLFOXIRI (фолиниевая кислота, 5-фторурацил, оксалиплатин, иринотекан), FOLFIRINOX (фолиниевая кислота, 5-фторурацил, иринотекан, оксалиплатин) и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных. Такие агенты могут быть конъюгированы с антителом или любым нацеленным агентом, описанным в данном документе, для создания конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) или нацеленного конъюгата лекарственного средства.

Антигормональные агенты

[0363] В определение «химиотерапевтического агента» также входят антигормональные агенты, например, антиэстрогены и селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (SERM), ингибиторы фермента ароматазы, антиандрогены и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеперечисленных, действие которых регулируют или ингибируют действие гормонов на опухоли.

[0364] Примеры антиэстрогенов и SERM включают тамоксифен (включая NOLVADEX™), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (FARESTON®).

[0365] Ингибиторы фермента ароматазы регулируют выработку эстрогена в надпочечниках. Примеры включают 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, мегестрола ацетат (MEGACE®), экземестан, форместан, фадрозол, ворозол (RIVISOR®), летрозол (FEMARA®) и анастрозол (ARIMIDEX®).

[0366] Примеры антиандрогенов включают апалутамид, абиратерон, энзалутамид, флутамид, галетерон, нилутамид, бикалутамид, лейпролид, гозерелин, ODM-201, APC-100, ODM-204.

[0367] Пример антагониста рецептора прогестерона включает онапристон.

Антиангиогенные агенты

[0368] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с антиангиогенным агентом. Антиангиогенные агенты, которые можно вводить совместно, включают ретиноидную кислоту и ее производные, 2-метоксиэстрадиол,

ANGIOSTATIN®, ENDOSTATIN®, регорафениб, некупараниб, сурамин, скваламин, тканевой ингибитор металлопротеиназы-1, тканевый ингибитор металлопротеиназы-2, ингибитор-1 активатора плазминогена, ингибитор-2 активатора плазминогена, хрящевой ингибитор, паклитаксел (наб-паклитаксел), фактор тромбоцитов 4, сульфат протамина (клубеин), сульфатированные производные хитина (полученные из панцирей краба-стригуна), сульфатированный полисахарид-пептидогликановый комплекс (sp-pg), стауроспорин, модуляторы матричного метаболизма, включая аналоги пролина, такие как 1-азетидин-2-карбоновая кислота (LACA), цис-гидроксипролин, D,I-3,4-дегидропролин, тиапролин, α,α' -дипиридил, бета-аминопропионитрилфумарат, 4-пропил-5-(4-пиридинил)-2(3h)-оксазолон, метотрексат, митоксантрон, гепарин, интерфероны, сывороточный 2-макроглобулин, куриный ингибитор металлопротеиназы-3 (ChIMP-3), хмостатин, тетрадекасульфат бета-циклодекстрина, эпонемицин, фумагиллин, ауротиомалат натрия, D-пеницилламин, бета-1-антиколлагеназу сыворотки, альфа-2-антиплазмин, бизантрен, динарий лобензарит, динарий n-2-карбоксифенил-4-хлорантраниловую кислоту или «ССА», талидомид, ангиостатический стероид, карбоксиаминоимидазол, ингибиторы металлопротеиназы, например, BB-94, ингибиторы S100A9, например тасквинимод. Другие антиангиогенные агенты включают антитела, предпочтительно моноклональные антитела против этих ангиогенных факторов роста: бета-FGF, альфа-FGF, FGF-5, изоформы VEGF, VEGF-C, HGF/SF, и Ang-1/Ang-2.

Противофиброзные агенты

[0369] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с противофиброзным агентом. Противофиброзные агенты, которые можно вводить совместно, включают такие соединения (например, 7-B16), как бета-аминопропионитрил (BAPN), а также соединения, описанные в US4965288, относящиеся к ингибиторам лизилоксидазы и их применению в лечении заболеваний и патологических состояний, связанных с аномальным отложением коллагена, и US4997854, относящимся к соединениям, которые ингибируют LOX, для лечения различных патологических фиброзных состояний, которые включены в настоящий документ путем ссылки. Другие иллюстративные ингибиторы описаны в US 4943593, относящиеся к таким соединениям, как 2-изобутил-3-фтор-, хлор- или бромаллиламин, US 5021456, US 5059714, US 5120764, US 5182297, US 5252608, относящимся к 2-(1-нафтилоксимил)-3-фтораллиламину и US 20040248871, которые включены в настоящий документ путем ссылки.

[0370] Примеры противофиброзных агентов также включают первичные амины, реагирующие с карбонильной группой активного центра лизилоксидаз, и, в частности, те, которые после связывания с карбониллом образуют продукт, стабилизированный резонансом, например, следующие первичные амины: эмиленмамин, гидразин, фенилгидразин и их производные; семикарбазид и производные мочевины; аминонитрилы, например, BAPN или 2-нитроэтиламин; ненасыщенные или насыщенные галогенамины, например, 2-бромэтиламин, 2-хлорэтиламин, 2-трифторэтиламин, 3-бромпропиламин и п-галогенбензиламины; и селеномоцистеин лактон.

[0371] Другими противофиброзными агентами являются хелатирующие медь агенты, проникающие или не проникающие в клетки. Примеры соединений включают не прямые ингибиторы, которые блокируют производные альдегида, образующиеся в результате окислительного дезаминирования лизиловых и гидроксизиловых остатков лизилоксидазами. Примеры включают тиоламины, особенно D-пеницилламин, и его аналоги, например, 2-амино-5-меркапто-5-метилгексановая кислота, D-2-амино-3-метил-3-((2-ацетамидоэтил)дитио)бутановая кислота, p-2-амино-3-метил-3-((2-аминоэтил)дитио)бутановая

кислота, натрий-4-((p-1-диметил-2-амино-2-карбоксиэтил)дитио)бутан сульфурат, 2-ацетамидоэтил-2-ацетамидоэтантол сульфат, и натрий-4-меркаптобутансульфинат тригидрат.

Противовоспалительные агенты

[0372] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с противовоспалительным агентом. Примеры противовоспалительных агентов включают, без ограничения, ингибиторы одной или более из следующего: аргиназа (ARG1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 383), ARG2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 384)), карбоангидраза (CA1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 759), CA2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 760), CA3 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 761), CA4 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 762), CA5A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 763), CA5B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11238), CA6 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 765), CA7 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 766), CA8 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 767), CA9 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 768), CA10 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 56934), CA11 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 770), CA12 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 771), CA13 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 377677), CA14 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23632)), простагландин-эндопероксид-синтаза 1 (PTGS1, COX-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5742), простагландин-эндопероксид-синтаза 2 (PTGS2, COX-2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5743), секретируемая фосфолипаза A2, простагландин E-синтаза (PTGES, PGES; идентификационный номер гена: 9536), арахидонат-5-липоксигеназа (ALOX5, 5-LOX; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 240) растворимая эпиксидгидролаза 2 (EPHX2, SEH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2053) и/или киназа киназы киназы митоген-активируемой протеинкиназы 8 (MAP3K8, TPL2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1326). В некоторых вариантах осуществления ингибитор представляет собой двойной ингибитор, например, двойной ингибитор COX-2/COX-1, COX-2/SEH, COX-2/CA, COX-2/5-LOX.

[0373] Примеры ингибиторов простагландин-эндопероксидсинтазы 1 (PTGS1, COX-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5742), которые можно вводить совместно, включают мофезолак, GLY-230 и TRK-700.

[0374] Примеры ингибиторов простагландин-эндопероксидсинтазы 2 (PTGS2, COX-2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5743), которые можно вводить совместно, включают диклофенак, мелоксикам, парекоксиб, эторикоксиб, AP-101, целекоксиб, AXS-06, диклофенак калия, DRGT-46, AAT-076, Meisuoshuli, лумиракоксиб, мелоксикам, вальдекоксиб, зальтопрофен, нимесулид, анитразafen, априкоксиб, цимикоксиб, деракоксиб, флумизол, фирококсиб, мавакоксиб, NS-398, памикогрель, парекоксиб, робенакоксиб, рофекоксиб, рутекарпин, тилмакоксиб и зальтопрофен. Примеры двойных ингибиторов COX1/COX2, которые можно вводить совместно, включают HP-5000, лорноксикам, кеторолака трометамин, бромфенак натрия, АТВ-346, HP-5000. Примеры двойных ингибиторов COX-2/карбоангидразы (CA), которые можно вводить совместно, включают полмакоксиб и имрекоксиб.

[0375] Примеры ингибиторов секретируемой фосфолипазы A2, простагландин E-синтазы (PTGES, PGES; идентификационный номер гена: 9536), которые можно вводить совместно, включают LY3023703, GRC 27864, и соединения, описанные в WO2015158204, WO2013024898, WO2006063466, WO2007059610, WO2007124589, WO2010100249, WO2010034796, WO2010034797, WO2012022793, WO2012076673,

WO2012076672, WO2010034798, WO2010034799, WO2012022792, WO2009103778, WO2011048004, WO2012087771, WO2012161965, WO2013118071, WO2013072825, WO2014167444, WO2009138376, WO2011023812, WO2012110860, WO2013153535, WO2009130242, WO2009146696, WO2013186692, WO2015059618, WO2016069376, WO2016069374, WO2009117985, WO2009064250, WO2009064251, WO2009082347, WO2009117987 и WO2008071173. Кроме того, было обнаружено, что метформин подавляет ось COX2/PGE2/STAT3 и может вводиться совместно. См., например, Tong, *et al.*, *Cancer Lett.* (2017) 389:23-32; и Liu, *et al.*, *Oncotarget.* (2016) 7(19):28235-46.

[0376] Примеры ингибиторов карбоангидразы (например, один или более из CA1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 759), CA2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 760), CA3 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 761), CA4 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 762), CA5A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 763), CA5B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11238), CA6 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 765), CA7 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 766), CA8 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 767), CA9 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 768), CA10 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 56934), CA11 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 770), CA12 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 771), CA13 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 377677), CA14 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23632)), которые можно вводить совместно, включают ацетазоламид, метазоламид, дорзоламид, зонисамид, бринзоламид и дихлорфенамид. Двойной ингибитор COX-2/CA1/CA2, который можно вводить одновременно, включает CG100649.

[0377] Примеры ингибиторов арахидонат-5-липоксигеназы (ALOX5, 5-LOX; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 240), которые можно вводить совместно, включают меклофенамат натрия, zileuton.

[0378] Примеры ингибиторов растворимой эпоксидгидролазы 2 (EPHX2, SEH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2053), которые можно вводить совместно, включают соединения, описанные в WO2015148954. Двойные ингибиторы COX-2/SEH, которые можно вводить совместно, включают соединения, описанные в WO2012082647. Двойные ингибиторы SEH и амидгидролазы жирных кислот (FAAH; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 2166), которые можно вводить совместно, включают соединения, описанные в WO2017160861.

[0379] Примеры ингибиторов киназы киназы митоген-активируемой протеинкиназы 8 (MAP3K8, locus-2 киназы прогрессирования опухоли, TPL2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1326), которые могут вводиться совместно, включают GS-4875, GS-5290, BHM-078 и те, которые описаны, например, в WO2006124944, WO2006124692, WO2014064215, WO2018005435, Teli, *et al.*, *J Enzyme Inhib Med Chem.* (2012) 27(4):558-70; Gangwall, *et al.*, *Curr Top Med Chem.* (2013) 13(9):1015-35; Wu, *et al.*, *Bioorg Med Chem Lett.* (2009) 19(13):3485-8; Kaila, *et al.*, *Bioorg Med Chem.* (2007) 15(19):6425-42; и Hu, *et al.*, *Bioorg Med Chem Lett.* (2011) 21(16):4758-61.

Агенты для оксигенации опухоли

[0380] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с агентом, который способствует или увеличивает оксигенацию или реоксигенацию опухоли, или предотвращает или уменьшает гипоксию опухоли. Иллюстративные агенты, которые можно вводить совместно, включают, например, ингибиторы индуцируемого гипоксией фактора-1 альфа (HIF-1 α), например, PT-2977, PT-2385; Ингибиторы VEGF, такие как бевацизумаб, IMC-3C5, GNR-011, танибидумаб, LYN-00101, ABT-165; и/или белок-переносчик кислорода (например, гем оксид азота и/или

кислородсвязывающий белок (HNOX)), например белки OMX-302 и HNOX, описанные в WO2007137767, WO2007139791, WO2014107171 и WO2016149562.

Иммунотерапевтические агенты

[0381] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с иммунотерапевтическим агентом. Примеры иммунотерапевтических агентов, которые можно вводить совместно, включают следующее: абаговомаб, АВ308, АВР-980, адекватумаб, афутузумаб, алемтузумаб, альтумаб, аматуксимаб, анатумаб, арситумаб, атезолизумаб, бавитуксимаб, бектумаб, бевацизумаб, биватузумаб, блинатумаб, брентуксимаб, кантузумаб, катумаксаб, СС49, цетуксимаб, цитатузумаб, циксутумаб, кливатузумаб, конатумаб, дацетузумаб, далотузумаб, даратумаб, детумаб, динутуксимаб, домваналимаб, дрозитумаб, дулиготумаб, дузигитумаб, экроексимаб, элотузумаб, эмибетузумаб, энситуксимаб, эртумаксаб, этарацизумаб, фарлетузумаб, фиклатузумаб, фигитумаб, фланвотумаб, футуксимаб, ганитумаб, гемтузумаб, гирентуксимаб, глембатумаб, ибритумаб, иговомаб, имгатузумаб, индатуксимаб, инотузумаб, интетумаб, ипилимумаб (YERVOY®, MDX-010, BMS-734016 и MDX-101), иратумаб, лабетузумаб, лексатумаб, линтузумаб, лорвотузумаб, лукатумаб, мапатумаб, матузумаб, милатузумаб, минретумаб, митумаб, могамулизумаб, моксетумаб, наптумаб, нарнатумаб, нецитумаб, нимотузумаб, нофетумаб, OBI-833, обинутузумаб, окаратузумаб, офатумаб, оларатумаб, онартузумаб, опортузумаб, ореговомаб, панитумаб, парсатузумаб, пасудотокс, патритумаб, пемтумаб, пертузумаб, пинтумаб, притумаб, ракотумаб, радретумаб, рамуцирумаб (Сугамза®), рилотумаб, ритуксимаб, робатумаб, самализумаб, сатумаб, сибротузумаб, силтуксимаб, солитомаб, симтузумаб, такатузумаб, таплитумаб, тенатумаб, тепротумаб, тигатузумаб, тозитумаб, трастузумаб, тукотузумаб, убилитуксимаб, велтузумаб, ворсетузумаб, вотумаб, залутумаб и 3F8. Ритуксимаб можно применять для лечения вялотекущих В-клеточных злокачественных новообразований, включая лимфому маргинальной зоны, WM, CLL и малую лимфоцитарную лимфому. Особенно эффективна комбинация ритуксимаба и химиотерапевтических агентов.

[0382] Примеры терапевтических антител могут быть дополнительно помечены или комбинированы с радиоизотопной частицей, такой как индий-111, иттрий-90 (90Y-кливатузумаб) или йод-131.

[0383] В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC). Иллюстративные ADC, которые можно вводить совместно, включают, без ограничения, конъюгированные с лекарственным средством антитела, их фрагменты или миметики антител, нацеленные на белки или антигены, перечисленные выше и в данном документе. Примеры ADC, которые можно вводить совместно, включают, без ограничения, следующее: гемтузумаб, брентуксимаб, трастузумаб, инотузумаб, глембатумаб, анетумаб, мирветуксимаб, депатуксизумаб, ровалпитузумаб, вадастуксимаб, лабетузумаб, сацитумаб (например, сакитузумаб говитекан), лифастузумаб, индусатумаб, полатумаб, пинатузумаб, колтуксимаб, индатуксимаб, милатузумаб, ровалпитузумаб, ABBV-399, AGS-16C3F, ASG-22ME, AGS67E, AMG172, AMG575, BAY1129980, BAY1187982, BAY94-9343, GSK2857916, Humax-TF-ADC, IMGN289, IMGN529, IMGN853, LOP628, PCA062, MDX-1203 (BMS936561), MEDI-547, PF-06263507, PF-06647020, PF-06647263, PF-06664178, RG7450, RG7458, RG7598, SAR566658, SGN-CD19A, SGN-CD33A, SGN-CD70A, SGN-LIV1A и SYD985. ADC, которые можно вводить совместно, описаны, например, в Lambert, *et al.*, *Adv Ther* (2017) 34:1015–1035 и в de Goeij, *Current Opinion in Immunology* (2016) 40:14–23. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, вводят с сацитумаб говитеканом.

[0384] Иллюстративные терапевтические агенты (например, противораковые или противоопухолевые агенты), которые могут быть конъюгированы с антителами, конъюгированными с лекарственным средством, их фрагментами или миметиками антител, включают, но не ограничиваясь этим, следующее: монометилауристатин Е (ММАЕ), монометилауристатин F (ММАF), калихеамицин, ансамитоцин, майтанзин или их аналог (например, мертанзин/эмтанзин (DM1), равтанзин/соравтинзин (DM4)), антрацилин (например, доксорубицин, даунорубицин, эпирубицин, идарубицин), пирролобензодиазепин (PBD) сшивающий агент ДНК SC-DR002 (D6.5), дуокармицин, ингибиторы микротрубочек (MTI) (например, таксан, алкалоид барвинка, эпотилон), пирролобензодиазепин (PBD) или его димер и дуокармицин (A, B1, B2, C1, C2, D, SA, CC-1065) и другие противораковые или противоопухолевые агенты, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент, конъюгированный с антителом, конъюгированным с лекарственным средством, представляет собой ингибитор топоизомеразы I (например, аналог камптотецина, такой как иринотекан или его активный метаболит SN38). В некоторых вариантах осуществления терапевтические агенты (например, противораковые или противоопухолевые агенты), которые могут быть конъюгированы с антителами, конъюгированными с лекарственным средством, их фрагментами или миметиками антител, включают ингибитор иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный ингибитор иммунных контрольных точек представляет собой конъюгированный низкомолекулярный ингибитор CD274 (PDL1, PD-L1), белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1) или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный низкомолекулярный ингибитор CD274 или PDCD1 выбран из группы, состоящей из GS-4224, GS-4416, INCB086550 и MAX10181. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный низкомолекулярный ингибитор CTLA4 включает BPI-002.

Противораковая генная терапия и клеточная терапия

[0385] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с противораковой генной терапией и клеточной терапией. Противораковая генная терапия и клеточная терапия включают введение нормального гена в раковые клетки для замены мутировавшего или измененного гена; генетическую модификацию для сайленсинга мутировавшего гена; генетические подходы для непосредственного уничтожения раковых клеток; включая инфузию иммунных клеток, предназначенных для замены большей части собственной иммунной системы пациента для усиления иммунного ответа на раковые клетки, или активации собственной иммунной системы пациента (Т-клетки или натуральные клетки-киллеры) для уничтожения раковых клеток, или поиска и уничтожения раковых клеток; генетические подходы для модификации клеточной активности для дальнейшего изменения эндогенного иммунного ответа против злокачественного новообразования.

Виды клеточной терапии

[0386] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с помощью одной или более клеточных терапий. Иллюстративные виды клеточной терапии включают, без ограничения, совместное введение одной или более популяций натуральных клеток-киллеров (NK), NK-Т-клеток, Т-клеток, цитокин-индуцированных киллеров (CIK), макрофагов (MAC), инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL) и/или дендритных клеток (DC). В некоторых вариантах осуществления клеточная терапия включает терапию Т-клетками, например, совместное введение популяции Т-клеток с альфа/бета TCR, Т-клеток с гамма/дельта TCR, регуляторных Т-клеток (Treg) и/или Т-клеток TRuC™. В некоторых вариантах осуществления клеточная терапия включает

терапию NK-клетками, например, совместное введение клеток NK-92. При необходимости клеточная терапия может включать совместное введение субъекту аутологичных, сингенных или аллогенных клеток.

[0387] В некоторых вариантах осуществления клеточная терапия включает совместное введение клеток, содержащих химерные антигенные рецепторы (CAR). При такой терапии популяция иммунных эффекторных клеток сконструирована для экспрессии CAR, при этом CAR содержит связывающий опухолевый антиген домен. В терапиях Т-клетками рецепторы Т-клеток (TCR) сконструированы для нацеливания на пептиды, полученные из опухоли, презентированные на поверхности опухолевых клеток.

[0388] Что касается структуры CAR, в некоторых вариантах осуществления, CAR содержит антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен. В некоторых вариантах осуществления внутриклеточный домен содержит первичный сигнальный домен, костимулирующий домен или как первичный сигнальный домен, так и костимулирующий домен. В некоторых вариантах осуществления первичный сигнальный домен включает функциональный сигнальный домен одного или более белков, выбранных из группы, состоящей из CD3-дзета, CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, общего FcR-гамма (FCERIG), FcR-бета (FcεRIb), CD79a, CD79b, FcγRIIa, DAP10 и DAP12.

[0389] В некоторых вариантах осуществления костимулирующий домен включает функциональный домен одного или более белков, выбранных из группы, состоящей из следующего: CD27, CD28, 4-1BB(CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лиганд, который специфически связывается с CD83, CDS, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRFI), CD160, CD19, CD4, CD8-альфа, CD8-бета, IL2R бета, IL2R гамма, IL7R альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 909), CD1B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 910), CD1C (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 911), CD1D (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 912), CD1E (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 913), ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2 (CD18, LFA-1), ITGB7, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, и NKG2D.

[0390] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен включает трансмембранный домен белка, выбранного из группы, состоящей из следующего: альфа-, бета- или дзета-цепи рецептора Т-клеток, CD28, CD3 эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, ICOS (CD278), 4-1BB(CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRFI), CD160, CD19, IL2R бета, IL2R гамма, IL7R, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1A, CD1B, CD1C, CD1D, CD1E, ITGAE, CD103, ITGAL, ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2 (LFA-1, CD18), ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (TACTILE), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D, и NKG2C.

[0391] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен TCR или CAR или иммунотерапевтический агент, описанный в данном документе, (например, моноспецифическое или полиспецифическое антитело, или его антигенсвязывающий фрагмент, или миметик антитела) связывается с опухолеассоциированным антигеном (ТАА). В некоторых вариантах осуществления

опухолеассоциированный антиген выбран из группы, состоящей из следующего: CD19; CD123; CD22; CD30; CD171; CS-1 (также называемый CD2 подсовокупности 1, CRACC, SLAMF7, CD319, и 19A24); подобная лектину С-типа молекула-1 (CLL-1 или CLECLI); CD33; вариант рецептора эпидермального фактора роста III (EGFRvIII); ганглиозид G2 (GD2); ганглиозид GD3 (α NeuSAc(2-8) α NeuSAc(2-3) β DGalp(1-4) β DGIcp(1-1)Cer); ганглиозид GM3 (α NeuSAc(2-3) β DGalp(1-4) β DGIcp(1-1)Cer); член 17 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF17, BCMA); антиген Tn ((Ag Tn) или (GalNAc-Ser/Thr)); простатспецифический мембранный антиген (PSMA); орфан-рецептор, подобный рецептору 1 тирозинкиназы (ROR1); опухолеассоциированный гликопротеин 72 (TAG72); CD38; CD44v6; раково-эмбриональный антиген (CEA); адгезивная молекула эпителиальных клеток (Eppcam); B7H3 (CD276); KIT (CD117); субъединица альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (IL-13Ra2 или CD213A2); мезотелин; рецептор-альфа интерлейкина 11 (IL-11Ra); антиген стволовых клеток предстательной железы (PSCA); сериновая протеаза 21 (тестизин или PRSS21); рецептор 2-го типа фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR2); антиген Льюис(Y); CD24; рецептор фактора роста тромбоцитов бета (PDGFR-бета); стадиспецифический эмбриональный антиген-4 (SSEA-4); CD20; дельтаподобный белок 3 (DLL3); фолатный рецептор альфа; рецепторная тирозин-протеинкиназа, ERBB2 (Her2/neu); муцин 1, связанный с клеточной поверхностью (MUC1); рецептор эпидермального фактора роста (EGFR); нейрональная молекула клеточной адгезии (NCAM); простаза; простатическая кислая фосфатаза (PAP); мутированный фактор элонгации 2 (ELF2M); эфрин B2; белок активации фибробластов альфа (FAP); рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (рецептор IGF-I), карбоангидраза IX (CAIX); субъединица протеасомы (просома, макропаин), тип бета, 9 (LMP2); гликопротеин 100 (gp100); слитый белок онкогена, состоящий из кластерного региона точечных разрывов (BCR) и гомолога 1 онкогена вируса мышинного лейкоза Абельсона (Abl) (bcr-abl); тирозиназа; рецептор 2 эфрина типа A (EphA2); фукозил GM1; молекула адгезии антигена сиалил-Льюис (sLe); трансглутаминаза 5 (TGS5); высокомолекулярный меланома-ассоциированный антиген (HMWMAA); о-ацетил-GD2 ганглиозид (OAcGD2); фолатный рецептор бета; опухолевый эндотелиальный маркер 1 (TEM1/CD248); связанный с опухолевым эндотелиальным маркером-7 белок (TEM7R); шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы I (STEAP1); клаудин 6 (CLDN6); рецептор тиреотропного гормона (TSHR); сопряженный с G-белком рецептор, класс C, группа 5, член D (GPCSD); белок 61 открытой рамки считывания хромосомы X (CXORF61); CD97; CD179a; киназа анапластической лимфомы (ALK); полисиаловая кислота; плацентарный белок 1 (PLAC1); гексасахаридная часть гликоцерамида globoH (GloboH); дифференцировочный антиген молочной железы (NY-BR-1); уроплакин 2 (UPK2); клеточный рецептор 1 вируса гепатита A (HAVCR1); бета 3 адренорецептор (ADRB3); паннексин 3 (PANX3); сопряженный с G-белком рецептор 20 (GPR20); комплекс антигена лимфоцита 6, локус K 9 (LY6K); белок обонятельного рецептора 51E2 (ORS IE2); белок альтернативной рамки считывания TCR-гамма (TARP); белок опухоли Вильмса (WT1); раково-тестикулярный антиген 1 (NY-ESO-1); раково-тестикулярный антиген 2 (LAGE-Ia); ассоциированный с меланомой антиген 1 (MAGE-A1); ген 6 варианта транслокации ETS, расположенный на хромосоме 12p (ETV6-AML); белок спермы 17 (SPA17); член 1A семейства антигенов X (XAGE1); рецептор 2 связывающегося с клеточной поверхностью ангиопоэтина (Tie 2); раково-тестикулярный антиген-1 меланомы (MADCT-1); раково-тестикулярный антиген-2 меланомы (MAD-CT-2); fos-ассоциированный антиген 1; опухолевой белок p53, (p53); мутант p53; протеин; сурвивин; теломераза; опухолевый антиген-1 карциномы предстательной железы (PCTA-1 или галектин 8), распознаваемый Т-клетками антиген меланомы 1, (MelanA или MART1); мутантный белок саркомы крыс (Ras); теломеразная обратная транскриптаза человека (hTERT); точки разрыва транслокации саркомы; ингибитор меланомы апоптоза (ML-IAP); ERG

(трансмембранная протеаза, серин 2 (TMPRSS2) слитый ген ETS); N-ацетилглюкозаминил-трансфераза V (NA17); спаренный белок Box Pax-3 (PAX3); андрогеновый рецептор; циклин B1;нейробластомного гомолога онкогена v-мус вируса миелоцитоматоза птиц (MYCN); член C семейства гомологов Ras (RhoC); тирозиназа-зависимый белок 2 (TRP-2); цитохром P450 1B1(CYP 1B1); Подобный CCCTC-связывающему фактору (белку с цинковыми пальцами) белок (BORIS или «брат» регулятора импринтированных сайтов), распознаваемый Т-клетками антиген плоскоклеточной карциномы 3 (SART3); спаренный белок Box Pax-5 (PAX5); проакрозин-связывающий белок sp32 (OY-TES I); лимфоцит-специфическая протеинтирозинкиназа (LCK); заякоривающий А-киназу белок 4 (AKAP-4); синовиальная саркома, точка разрыва хромосомы X 2 (SSX2); рецептор для конечных продуктов гликирования (RAGE-I); почечный общераспространенный белок 1 (RUI); почечный общераспространенный белок 2 (RU2); легумин; Е6 папилломавируса человека (HPV E6); Е7 папилломавируса человека (Е7 HPV); кишечная карбоксилэстераза; мутированный белок теплового шока 70-2 (mut hsp70-2); CD79a; CD79b; CD72; связанный с лейкоцитами иммуноглобулинподобный рецептор 1 (LAIR1); рецептор фрагмента Fc IgA (FCAR или CD89); член 2 подсемейства А лейкоцитарных иммуноглобулиноподобных рецепторов (LILRA2); член f семейства подобных молекуле CD300 белков (CD300LF); член А семейства лектиновых доменов С-типа 12 (CLEC12A); антиген стромальных клеток костного мозга 2-го типа (BST2); белок 2, подобный рецептору муцин-подобного гормона, содержащего EGF-подобный модуль (EMR2); антиген лимфоцита 75 (LY75); глипикан-3 (GPC3); подобный Fc-рецептору белок 5 (FCRL5); подобный иммуноглобулину лямбда полипептид 1 (IGLL1). В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой эпитоп опухолеассоциированного антигена, презентированного МНС.

[0392] В некоторых вариантах осуществления опухолевый антиген выбран из следующего: CD150, 5T4, ActR1A, B7, член 17 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF17, BCMA), CA-125, CCNA1, CD123, CD126, CD138, CD14, CD148, CD15, CD19, CD20, CD200, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD261, CD262, CD30, CD33, CD362, CD37, CD38, CD4, CD40, CD40L, CD44, CD46, CD5, CD52, CD53, CD54, CD56, CD66a-d, CD74, CD8, CD80, CD92, CE7, CS-1, CSPG4, фибронектин ED-B, EGFR, EGFRvIII, EGP-2, EGP-4, EPHA2, ErbB2, ErbB3, ErbB4, FBP, HER1-HER2 в комбинации, HER2-HER3 в комбинации, HERV-K, оболочечный гликопротеин gp120 HIV-1, оболочечный гликопротеин gp41 HIV-1, HLA-DR, HM1.24, HMW-MAA, Her2, Her2/neu, IGF-1R, IL-11R-альфа, IL-13R-альфа2, IL-2, IL-22R-альфа, IL-6, IL-6R, Ia, Ii, L1-CAM, молекула клеточной адгезии L1, Льюис Y, L1-CAM, MAGE A3, MAGE-A1, MART-1, MUC1, лиганды NKG2C, лиганды NKG2D, NYESO-1, OEPHa2, PIGF, PSCA, PSMA, ROR1, T101, TAC, TAG72, TIM-3, TRAIL-R1, TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), VEGF, VEGFR2, WT-1, сопряженный с G-белком рецептор, альфа-фетопротеин (AFP), фактор ангиогенеза, экзогенная когнатная связывающая молекула (ExoCBM), продукт онкогена, антитело к фолатному рецептору, с-Met, раково-эмбриональный антиген (CEA), циклин (D 1), эфрин B2, антиген эпителиальной опухоли, рецептор эстрогена, фетальный ацетилхолиновый рецептор, фолат-связывающий белок, gp100, поверхностный антиген гепатита В, каппа-цепь, легкая каппа-цепь, kdr, лямбда-цепь, ливин, ассоциированный с меланомой антиген, мезотелин, гомолог 2 мышиноного двойного микробелка (MDM2), муцин 16 (MUC16), мутированный p53, мутированный gas, антигены некроза, онкофетальный антиген, ROR2, прогестероновый рецептор, простатспецифический антиген, tEGFR, тенасцин, P2-микроглобулин, подобный Fc-рецептору белок 5 (FcRL5).

[0393] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен связывается с эпитопом мишени или опухолеассоциированного антигена (ТАА), презентированного молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС). В некоторых вариантах осуществления ТАА представляет собой раково-

тестикулярный антиген. В некоторых вариантах осуществления раково-тестикулярный антиген выбран из группы, состоящей из следующего: акрозин-связывающий белок (ACRBP; CT23, OY-TES-1, SP32; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84519), альфа-фетопротеин (AFP; AFPD, FETA, HPAFP; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 174); заякоривающий А-киназу белок 4 (AKAP4; AKAP 82, AKAP-4, AKAP82, CT99, FSC1, HI, PRKA4, hAKAP82, p82; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8852), содержащий домен AAA белок 2 семейства АТФаз (ATAD2; ANCCA, CT137, PRO2000; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29028), каркасный белок кинетохора 1 (KNL1; AF15Q14, CASC5, CT29, D40, MCPH4, PPP1R55, Spc7, hKNL-1, hSpc105; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 57082), центросомальный белок 55 (CEP55; C10orf3, CT111, MARCH, URCC6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 55165), раково-тестикулярный антиген 1А (CTAG1A; ESO1; CT6.1; LAGE-2; LAGE2A; NY-ESO-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 246100), раково-тестикулярный антиген 1В (CTAG1B; CT6.1, CTAG, CTAG1, ESO1, LAGE-2, LAGE2B, NY-ESO-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1485), раково-тестикулярный антиген 2 (CTAG2; CAMEL, CT2, CT6.2, CT6.2a, CT6.2b, ESO2, LAGE-1, LAGE2B; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 30848), подобный CCCTC-связывающему фактору белок (CTCF; BORIS, CT27, CTCF-T, HMGB1L1, dJ579F20.2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 140690), катенин-альфа 2 (CTNNA2; CAP-R, CAPR, CDCBM9, CT114, CTNR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1496), раково-тестикулярный антиген 83 (CT83; CXorf61, KK-LC-1, KKLC1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 203413), циклин А1 (CCNA1; CT146; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8900), DEAD-бокс-геликазы 43 (DDX43; CT13, HAGE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 55510), ассоциированный с развитием плюрипотентности белок 2 (DPPA2; CT100, ECAT15-2, PESCRG1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 151871), экспрессируемый в яичках плода и взрослого белок 1 (FATE1; CT43, FATE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 89885), антиген саркомы FMR1 (FMR1NB; CT37, NY-SAR-35, NYSAR35; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 158521), белок 1, содержащий домен NORMA, (HORMAD1; CT46, NOHMA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84072), белок 3, связывающий мРНК инсулиноподобного фактора роста 2, (IGF2BP3; CT98, IMP-3, IMP3, KOC, KOC1, VICKZ3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10643), белок лейциновой застежки 4 (LUZP4; CT-28, CT-8, CT28, HOM-TES-85; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51213), член К семейства лимфоцитарных антигенов 6 (LY6K; CT97, HSJ001348, URLC10, ly-6K; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 54742), белок Maelstrom (MAEL; CT128, SPATA35; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84944), член А1 семейства MAGE (MAGEA1; CT1.1, MAGE1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4100); член А3 семейства MAGE (MAGEA3; CT1.3, HIP8, HYPD, MAGE3, MAGEA6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4102); член А4 семейства MAGE (MAGEA4; CT1.4, MAGE-41, MAGE-X2, MAGE4, MAGE4A, MAGE4B; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4103); член А11 семейства MAGE (MAGEA11; CT1.11, MAGE-11, MAGE11, MAGEA-11; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4110); член С1 семейства MAGE (MAGEC1; CT7, CT7.1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9947); член С2 семейства MAGE (MAGEC2; CT10, HCA587, MAGEE1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51438); член D1 семейства MAGE (MAGED1; DLXIN-1, NRAGE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9500); член D2 семейства MAGE (MAGED2; 11B6, BARTS5, BCG-1, BCG1, HCA10, MAGE-D2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10916), член 20В семейства кинезинов (KIF20B; CT90, KRMP1, MPHOSPH1, MPP-

1, MPP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9585), компонент NUF2 кинетохорного комплекса NDC80 (NUF2; CDCA1, CT106, NUF2R; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 83540), фактор экспорта ядерной РНК 2 (NXF2; CT39, TAPL-2, TCP11X2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 56001), содержащий домен PAS репрессор 1 (PASD1; CT63, CT64, OXTES1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 139135), PDZ-связывающая киназа (PBK; CT84, HEL164, Nori-3, SPK, TOPK; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 55872), piwi-подобный белок РНК-опосредованного сайленсинга генов 2 (PIWIL2; CT80, HILI, PIWIL1L, mili; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 55124), ген предпочтительно экспрессируемого при меланоме антигена (PRAME; CT130, MAPE, OIP-4, OIP4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23532), ассоциированный со спермой антиген 9 (SPAG9; CT89, HLC-6, HLC4, HLC6, JIP-4, JIP4, JLP, PHET, PIG6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 9043), член A1 семейства белков спермы, ассоциированных с ядром в X-хромосоме (SPANXA1; CT11.1, CT11.3, NAP-X, SPAN-X, SPAN-Xa, SPAN-Xb, SPANX, SPANX-A; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 30014), член A2 семейства SPANX (SPANXA2; CT11.1, CT11.3, SPANX, SPANX-A, SPANX-C, SPANXA, SPANXC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 728712), член C семейства SPANX (SPANXC; CT11.3, CTrp11, SPANX-C, SPANX-E, SPANXE; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64663), член D семейства SPANX (SPANXD; CT11.3, CT11.4, SPANX-C, SPANX-D, SPANX-E, SPANXC, SPANXE, dJ171K16.1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64648), член 1 семейства SSX (SSX1; CT5.1, SSRC; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6756), член 2 семейства SSX (SSX2; CT5.2, CT5.2A, HD21, HOM-MEL-40, SSX; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6757), белок 3 синаптомного комплекса (SYCP3; COR1, RPRGL4, SCP3, SPGF4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 50511), экспрессируемый семенниками белок 14, фактор формирования межклеточного мостика (TEX14; CT113, SPGF23; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 56155), член 3 семейства факторов транскрипции Dp (TFDP3; CT30, DP4, HCA661; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51270), сериновая протеаза 50 (PRSS50; CT20, TSP50; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29122), протеинкиназа TTK (TTK; CT96, ESK, MPH1, MPS1, MPS1L1, PYT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7272) и белок с цинковыми пальцами 165 (ZNF165; CT53, LD65, ZSCAN7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7718). Рецепторы Т-клеток (TCR) и TCR-подобные антитела, которые связываются с эпитопом раково-тестикулярного антигена, презентруемого молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС), известны в данной области техники и могут использоваться в описанных в данном документе гетеродимерах. Раково-тестикулярные антигены, связанные с неоплазией, обобщены, например, в Gibbs, *et al.*, *Trends Cancer* 2018 Oct;4(10):701-712 и на веб-сайте базы данных CT по адресу cta.lncc.br/index.php. Иллюстративные TCR и TCR-подобные антитела, которые связываются с эпитопом NY-ESO-1, презентруемым МНС, описаны, например, в Stewart-Jones, *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009 Apr 7;106(14):5784-8; WO2005113595, WO2006031221, WO2010106431, WO2016177339, WO2016210365, WO2017044661, WO2017076308, WO2017109496, WO2018132739, WO2019084538, WO2019162043, WO2020086158 и WO2020086647. Иллюстративные TCR и TCR-подобные антитела, которые связываются с эпитопом PRAME, презентруемого МНС, описаны, например, в WO2011062634, WO2016142783, WO2016191246, WO2018172533, WO2018234319 и WO2019109821. Иллюстративные TCR и TCR-подобные антитела, которые связываются с эпитопом варианта MAGE, презентруемого МНС, описаны, например, в WO2007032255, WO2012054825, WO2013039889, WO2013041865, WO2014118236, WO2016055785, WO2017174822, WO2017174823,

WO2017174824, WO2017175006, WO2018097951, WO2018170338, WO2018225732 и WO2019204683. Иллюстративные TCR и TCR-подобные антитела, которые связываются с эпитопом альфа-фетопротеина (AFP), презентированного МНС, описаны, например, в WO2015011450. Иллюстративные TCR и TCR-подобные антитела, которые связываются с эпитопом SSX2, презентированного МНС, описаны, например, в WO2020063488. Иллюстративные TCR и TCR-подобные антитела, которые связываются с эпитопом КК-LC-1 (CT83), презентированного МНС, описаны, например, в WO2017189254.

[0394] Примеры препараты для клеточной терапии включают: альгенпантуцел-Л, сипулейцел-Т, ривогенлеклейцел (BPX-501) US9089520, WO2016100236, AU-105, ACTR-087, активированные аллогенные натуральные клетки-киллеры CNDO-109-AANK, MG-4101, AU-101, BPX-601, FATE-NK100, гемопоэтические стволовые клетки LFU-835, имилеклейцел-Т, балгалецел-Т, PNK-007, UCARTCS1, ET-1504, ET-1501, ET-1502, ET-190, CD19-ARTEMIS, ProHema, терапия обработанными FT-1050 стволовыми клетками костного мозга, клетки CD4CARNK-92, CryoStim, AlloStim, трансдуцированные лентивирусом клетки huCART-Meso, клетки CART-22, EGFRt/19-28z/4-1BBL CAR-T-клетки, аутологичная 4H11-28z/PL-12/EGFRt T-клетка, CCR5-SBC-728-HSPC, CAR4-1BBZ, CH-296, dnTGFbRII-NY-ESOc259T, Ad-RTS-IL-12, IMA-101, IMA-201, CARMA-0508, TT-18, CMD-501, CMD-503, CMD-504, CMD-502, CMD-601, CMD-602 и CSG-005.

[0395] В некоторых вариантах осуществления один или более дополнительных совместно вводимых терапевтических агентов можно разделить по механизму их действия, например, на следующие группы:

- агенты, нацеленные на аденозиндезаминазу, такие как пентостатин или кладрибин;
- агенты, нацеленные на AKT1, такие как GSK2141795;
- агенты, нацеленные на ATM, такие как AZD1390;
- агенты, нацеленные на MET, такие как саволитиниб, капматиниб, тепотиниб, ABT-700, AG213, JNJ-38877618 (ОМО-1), мерестиниб, HQP-8361, BMS-817378 или TAS-115;
- агенты, нацеленные на митоген-активируемую протеинкиназу, такие как антрохинол, биниметиниб, кобиметиниб, селуметиниб, траметиниб, упросертиб, мирдаметиниб (PD-0325901), пимасертиб, рефаметиниб или соединения, описанные в WO2011008709, WO2013112741, WO2006124944, WO2006124692, WO2014064215, WO2018005435, Zhou, et al., Cancer Lett. 2017 Nov 1, 408:130-137, Teli, et al., J Enzyme Inhib Med Chem. (2012) 27(4):558-70; Gangwall, et al., Curr Top Med Chem. (2013) 13(9):1015-35; Wu, et al., Bioorg Med Chem Lett. (2009) 19(13):3485-8; Kaila, et al., Bioorg Med Chem. (2007) 15(19):6425-42, или Hu, et al., Bioorg Med Chem Lett. (2011) 21(16):4758-61;
- агенты, нацеленные на MAP4K1, такие как соединения, описанные в WO2018183956, WO2018183964, WO2018167147, WO2018183964, WO2016205942, WO2018049214, WO2018049200, WO2018049191, WO2018102366, WO2018049152, WO2020092528, WO2020092621 или WO2016090300;
- агенты, нацеленные на тимидинкиназу, такие как аглатимаген бесаденовек (ProstAtak, PancAtak, GliAtak, GMCI или AdV-tk);
- агенты, нацеленные на андрогеновый рецептор, такие как энобосарм (GTX-024) или даролутамид;
- агенты, нацеленные на CD47, такие как RRx-001, DSP-107, VT-1021, IMM-02, SGN-CD47M, SIRPa-Fc-CD40L (SL-172154), или магролимаб;
- агенты, нацеленные на интерлейкиновый путь, такие как пегилодекакин (AM-0010) (пегилированный IL10), CA-4948 (IRAK4);

- агенты, нацеленные на маркеры кластера дифференцировки, такие как A6, AD-IL24, нератиниб, тукатиниб (ONT 380), мобоцертиниб (ТАК-788), тесеватиниб, трастузумаб (HERCEPTIN®), биоаналог трастузумаб (HLX-02), маргетуксимаб, БАТ-8001, пертузумаб (Perjeta), пегфилграстим, RG6264, занидатамаб (ZW25), каватак, АIC-100, таграксифусп (SL-401), пептидная вакцина на основе эпитопов, рестриктированных HLA-A2402/HLA-A0201, дазатиниб, иматиниб, нилотиниб, сорафениб, ленватиниб мезилат, оранерген обаденовек, кабозантиниб малат, AL-8326, ZLJ-33, KBP-7018, сунитиниб малат, производные пазопаниба, AGX-73, ребастиниб, NMS-088, люцитаниб гидрохлорид, мидостаурин, цедираниб, довитиниб, ситраватиниб, тивозаниб, маситиниб, регорафениб, олверембатиниб димезилат (HQP-1351), кабозантиниб, понатиниб и L-малат фамитиниба, CX-2029 (ABBV-2029), SCB-313, CA-170, COM-701, CDX-301, GS-3583, асунерцепт (APG-101), APO-010 или соединения, описанные в WO2016196388, WO2016033570, WO2015157386, WO199203459, WO199221766, WO2004080462, WO2005020921, WO2006009755, WO2007078034, WO2007092403, WO2007127317, WO2008005877, WO2012154480, WO2014100620, WO2014039714, WO2015134536, WO2017167182, WO2018112136, WO2018112140, WO2019155067, WO2020076105, PCT/US2019/063091, WO19173692, WO2016179517, WO2017096179, WO2017096182, WO2017096281, WO2018089628, WO2017096179, WO2018089628, WO2018195321, WO2020014643, WO2019160882, WO2018195321, WO200140307, WO2002092784, WO2007133811, WO2009046541, WO2010083253, WO2011076781, WO2013056352, WO2015138600, WO2016179399, WO2016205042, WO2017178653, WO2018026600, WO2018057669, WO2018107058, WO2018190719, WO2018210793, WO2019023347, WO2019042470, WO2019175218, WO2019183266, WO2020013170, WO2020068752, Cancer Discov. 2019 Jan 9(1):8; или Gariepy J., et al. 106th Annu Meet Am Assoc Immunologists (AAI) (May 9-13, San Diego, 2019, Abst 71.5);
- агенты, нацеленные на членов семейства цитохрома P450, такие как летрозол, анастрозол, аминоклотедин, мегестрола ацетат (MEGACE®), экзестан, форместан, фадрозол, ворозол (RIVISOR®), летрозол (FEMARA®) или анастрозол (ARIMIDEX®);
- агенты, нацеленные на DKK3, такие как MTG-201;
- агенты, нацеленные на EEF1A2, такие как плитидепсин;
- агенты, нацеленные на EIF4A1, такие как рохинитиб;
- агенты, нацеленные на эндоглин, такие как TRC105 (каротуксимаб);
- агенты, нацеленные на EGFR, такие как нератиниб, тукатиниб (ONT-380), тесеватиниб, мобоцертиниб (ТАК-788), DZD-9008, варлитиниб, абивертиниб (ACEA-0010), EGF816 (назартиниб), олмутиниб (BI-1482694), осимертиниб (AZD-9291), AMG-596, лифифафениб (BGB-283), вектибикс или соединения, описанные в Booth, et al., Cancer Biol Ther. 2018 Feb 1;19(2):132-137;
- агенты, нацеленные на экспортин-1, такие как элтанексор;
- агенты, нацеленные на амидгидролазу жирных кислот, такие как соединения, описанные в WO 2017160861;
- агенты, нацеленные на члена 1 семейства белков теплового шока 90 бета, такие как анлотиниб;
- агенты, нацеленные на интерлейкин, такие как SAR441000;
- агенты, нацеленные на лактотрансферрин, такие как руксотемид (LTX-315);
- агенты, нацеленные на лизилоксидазу, такие как соединения, описанные в US4965288, US4997854, US4943593, US5021456, US5059714, US5120764, US5182297, US5252608 или US20040248871;

- агенты, нацеленные на членов семейства MAGE, такие как KITE-718, MAGE-A10C796T или MAGE-A10 TCR;
- агенты, нацеленные на матриксную металлопептидазу 9, такие как соединения, описанные в WO 2012027721;
- агенты, нацеленные на MCL1, такие как тапотоклакс (AMG-176), AMG-397, S-64315, AZD-5991, 483-LM, A-1210477, UMI-77, или соединения, описанные в WO2018183418, WO2016033486 или WO2017147410;
- агенты, нацеленные на MDM2, такие как ALRN-6924, CMG-097, миладеметана монотозилата моногидрат (DS-3032b) или AMG-232;
- агенты, нацеленные на MDM4, такие как ALRN-6924;
- агенты, нацеленные на мелан-А, такие как МКПК со сконструированным TCR F5 к MART-1;
- агенты, нацеленные на мезотелин, такие как CSG-MESO или TC-210;
- агенты, нацеленные на METAP2, такие как M8891 или APL-1202;
- агенты, нацеленные на NLRP3, такие как BMS-986299;
- агенты, нацеленные на оксоглутаратдегидрогеназу, такие как девимистат (CPI-613);
- агенты, нацеленные на фактор роста плаценты, такие как афлиберцепт;
- агенты, нацеленные на рецептор прогестерона, такие как TRI-CYCLEN LO (норэтиндрон + этинилэстрадиол);
- агенты, нацеленные на простагландин Е-синтазу, такие как GRC 27864, или соединения, описанные в WO2015158204, WO2013024898, WO2006063466, WO2007059610, WO2007124589, WO2010100249, WO2010034796, WO2010034797, WO2012022793, WO2012076673, WO2012076672, WO2010034798, WO2010034799, WO2012022792, WO2009103778, WO2011048004, WO2012087771, WO2012161965, WO2013118071, WO2013072825, WO2014167444, WO2009138376, WO2011023812, WO2012110860, WO2013153535, WO2009130242, WO2009146696, WO2013186692, WO2015059618, WO2016069376, WO2016069374, WO2009117985, WO2009064250, WO2009064251, WO2009082347, WO2009117987, WO2008071173, или Tong, et al., Cancer Lett. (2017) 389:23-32; Liu, et al., Oncotarget. (2016) 7(19):28235-46;
- агенты, нацеленные на сигнальный регуляторный белок альфа, такие как CC-95251, GS-0189 (FSI-189), ES-004, BI765063, ADU1805, AL-008, BAT-6030, APX-700, CTX-5861 или RRx-001;
- агенты, нацеленные на SLC10A3, такие как соединения, описанные в WO2015148954, WO2012082647 или WO2017160861;
- агенты, нацеленные на трансформирующий фактор роста альфа, такие как соединения, описанные в WO2019103203;
- агенты, нацеленные на опухолевый белок p53, такие как кеветрин (стимулятор);
- агенты, нацеленные на фактор роста эндотелия сосудов А, такие как афлиберцепт;
- агенты, нацеленные на рецептор фактора роста эндотелия сосудов, такие как фруквинтиниб или MP0250;
- агенты, нацеленные на VISTA, такие как CA-170 или HMBD-002;
- агенты, нацеленные на WEE1, такие как адавосертиб (AZD-1775);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на ABL1, такие как иматиниб, ребастиниб, ациминиб или понатиниб (ICLUSIG®);

- низкомолекулярные антагонисты, нацеленные на рецептор аденозина, такие как CPI-444, AZD-4635, преладенант или PBF-509;
- низкомолекулярные антагонисты, нацеленные на рецептор андрогена, такие как апалутамид, энзалутамид, флутамид, галетерон, нилутамид, бикалутамид, лейпролид, гозерелин, ODM-201, APC-100 или ODM-204;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на арахидонат-5-липоксигеназу, такие как меклофенамат натрия или zileйтон;
- низкомолекулярные ингибиторы серин/треонинкиназы ATR, такие как BAY-937, цераласертиб (AZD6738), AZD6783, VX-803 или VX-970 (берзосертиб);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на рецепторную тирозинкиназу AXL, такие как бемцентиниб (BGB-324), SLC-0211 или гилтеритиниб (Axl/Flt3);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на тирозинкиназу Брутона (BTK), такие как (S)-6-амино-9-(1-(бут-2-иноил)пирролидин-3-ил)-7-(4-феноксифенил)-7H-пурин-8(9H)-он, акалбрутиниб (ACP-196), занубрутиниб (BGB-3111), CB988, позелтиниб (HM71224), ибрутиниб (Imbruvica), M-2951 (эвобрутиниб), тирабрутиниб (ONO-4059), рилзабрутиниб (PRN-1008), спебрутиниб (CC-292), векабрутиниб, ARQ-531 (MK-1026), SHR-1459, DTRMWXHS-12 или TAS-5315;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на тирозинкиназу нейротрофического рецептора, такие как ларотректиниб, энтректиниб или селитректиниб (LOXO-195);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на протоонкоген 1 АФК, рецепторную тирозинкиназу, такие как энтректиниб, репотректиниб (TPX-0005) или лорлатиниб;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на тирозинкиназу, ассоциированную с селезенкой, такие как гусацитиниб (ASN-002), 6-(1H-индазол-6-ил)-N-(4-морфолинофенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин, цердулатиниб, энтосплетиниб, фостаматиниб динатрия (R788, R406), HMPL-523, NVP-QAB 205 AA, R112 или соединения, описанные в US 8450321 или US 20150175616;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на протоонкоген SRC, нереперторную тирозинкиназу, такие как VAL-201, тирбанибулин (KX2-391) или малеата илгинатиниб (NS-018);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на В-клеточную лимфому 2, такие как навитоклакс (ABT-263), венетоклакс (ABT-199, RG-7601) или AT-101 (госсипол);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на кластерную область точечных разрывов, такие как RG-7304;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на белки, содержащие бромодомены и экстратерминальный бромодомен (BET), такие как ABBV-744, INCB-054329, INCB057643, AZD-5153, ABT-767, BMS-986158, CC-90010, NHWD-870, ODM-207, ZBC246, ZEN3694, CC-95775 (FT-1101), мивебресиб, BI-894999, PLX-2853, PLX-51107, CPI-0610 или GS-5829;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на карбогидрат сульфотрансферазу 15, такие как STNM-01;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на карбоангидразу, такие как полмакоксиб, ацетазоламид или метазоламид;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на катенин бета 1, такие как CWP-291 или PRI-724;
- низкомолекулярные антагонисты, нацеленные на C-C-хемокиновый рецептор, такие как CCX-872, BMS-813160 (CCR2/CCR5) или МК-7690 (викривирок);

- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на белок цикла клеточного деления 7, такие как симуросертиба гидрат (ТАК931);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на цереблон, такие как авадомид (CC-122), CC-92480, CC-90009 или ибердомид;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на киназу 1 контрольной точки, такие как SRA737;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на маркеры кластера дифференцировки, такие как PBF-1662, BLZ-945, пемигатиниб (INCB-054828), BAY-1163877 (рогаратиниб), AZD4547, FGF-401 (роблитиниб), квизартиниба дигидрохлорид, SX-682, AZD-5069, PLX-9486, авапритиниб (BLU-285), рипретиниб (DCC-2618), иматиниба мезилат, JSP-191, BLU-263, CD117-ADC, AZD3229, телатиниб, вороланиб, GO-203-2C, AB-680, PSB-12379, PSB-12441, PSB-12425, CB-708, HM-30181A, мотиксафортид (BL-8040), LY2510924, буриксафор (TG-0054), X4P-002, мавориксафор (X4P-001-IO), плериксафор, CTX-5861 или REGN-5678 (PSMA/CD28);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на компонент комплемента, такие как Imprime PGG (Biothera Pharmaceuticals);
- низкомолекулярный ингибитор, нацеленный на C-X-C-хемокиновый лиганд (например, CXCL12), такой как олаптезированный пегол (NOX-A12);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на циклинзависимую киназу, такие как палбоциклиб;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на семейство цитохромов P450, такие как ODM-209, LAE-201, севитеронел (VT-464), CFG920, абиратерон или абиратерона ацетат;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на DEAD-бокс-геликазу 5, такие как супиноксин (RX-5902);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на IAP-связывающий митохондриальный белок, такие как BI-891065;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на дигидрофолатредуктазу, такие как пралатрексат или пеметрексед динаatriй;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на ДНК-зависимую протеинкиназу, такие как MSC2490484A (недисертиб), VX-984, AsiDNA (DT-01), LXS-196 или сотрастаурин;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на митоген-активируемую протеинкиназу, такие как ралиметиниб, RG-7304, GS-4875 или GS-5290;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на MARCKS, такие как BIO-11006;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на RIPK1, такие как GSK-3145094;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на Rho-ассоциированную суперспиральную протеинкиназу, содержащую протеинкиназу, такие как AT13148 или KD025;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на ДНК-топоизомеразу, такие как иринотекан, фиртекан пегол или амрубицин;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на дофаминовый рецептор D2, такие как ONC-201;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на DOT1, такие как гистон-лизинметилтрансфераза, такие как пинометостат (EPZ-5676);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на EZH2, такие как таземетостат, CPI-1205 или PF-06821497;

- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на синтазы жирных кислот, такие как TVB-2640 (Sagimet Biosciences);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на фактор роста фибробластов, такие как бемаритузумаб (FPA144);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на киназу фокальной адгезии 2, такие как VS-4718, дефактиниб или GSK2256098;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на фолатный рецептор 1, такие как пралатрексат;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на FOXM1, такие как тиострептон;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на галектин 3, такие как белапектин (GR-MD-02);
- низкомолекулярные антагонисты, нацеленные на глюкокортикоидный рецептор, такие как релакориант (CORT-125134);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на глутаминазу, включают, без ограничения, CB-839 (телагленастат) или бис-2-(5-фенилацетиамидо-1,3,4-тиадиазол-2-ил)этилсульфид (BPTES);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на GNRHR, такие как элаголикс, релуголикс или дегареликс;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на EPAS1, такие как белзутифан (PT-2977 (Merck & Co.));
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на IDO, такие как эпакадостат, линродостат (F-001287), PF-06840003, ресминостат, линродостат (BMS-986205), EOS-200271 или KHK-2455;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на изоцитратдегидрогеназу (NADP(+)), такие как ивозидениб (AG-120), воразидениб (AG-881) (IDH1 и IDH2), IDH-305 или эназидениб (AG-221);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на Янус-киназу, такие как ZD-1480, барицитиниб, филготииниб (GLPG0634), итацитиниб (INCB039110), момелотиниб (CYT0387), пефицитиниб (ASP015K), руксолитиниб, тофацитиниб, INCB052793, ZD-1480, барицитиниб, федратиниб, гандотиниб (LY2784544), лестауртиниб (FLT3/JAK2/TRKA), момелотиниб (CYT0387), илгинатиниб малеат (NS-018), пакритиниб (SB1518) (JAK2/IRAK-1/CSF1R/Flt3) или руксолитиниб;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на KRAS, такие как соторасиб (AMG-510), COTI-219, ARS-3248, WDB-178, BI-3406, BI-1701963, SML-8-73-1 (G12C), соединение 3144 (G12D), Kobe0065, Kobe/2602, (Ras GTP), RT11 или адаграсиб (MRTX-849);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на лизиндеметилазу 1A, такие как CC-90011;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на взаимодействующую с MAPK серин/треонинкиназу, такие как томивосертиб (eFT-508);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на киназу механистическую мишень рапамицин (mTOR), такие как дактолисиб, омипалисиб, вокталисиб, гедатолисиб, GSK2141795, инаволисиб (RG6114), сапанисертиб, ME-344, сиролимус (пероральная наноаморфная форма, рак), рацеметирозин (TYME -88 (mTOR/цитохром P450 3A4)), сиролимус, темсиролимус (TORISEL®, CCI-779), CC-115, онатасертиб (CC-223), SF-1126, PQR-309 (бимиралисиб), вокталисиб или GSK-2126458;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на рецептор Notch, такие как AL-101 (BMS-906024);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на каталитическую субъединицу фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы, такие как ASN-003, инаволисиб (RG6114), алпелисиб, пиктилисиб или идедалисиб (Zydelig®);

- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на Polo-подобную киназу 1, такие как воласертиб или онвансертиб;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на поли(АДФ-рибозо)полимеразу, такие как олапариб (MK7339), рукапариб, велипариб, талазопариб, ABT-767, памипариб (BGB-290), флузопариб (SHR-3162), нирапариб (JNJ-64091742), стенопариб (2X-121 (e-7499)), симмипариб, IMP-4297, SC-10914, IDX-1197, HWH-340 или СК-102;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на белок polycomb EED, такие как MAK683;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на O-ацилтрансферазу поркупин, такие как WNT-974;
- низкомолекулярные антагонисты, нацеленные на рецептор прогестерона, такие как онапристон;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на простагландин-эндопероксидсинтазу, такие как HP-5000, лорноксикам, кеторолака трометамин, бромфенак натрия, отенапрокセスул (ATB-346), мофезолак, GLY-230, TRK-700, диклофенак, мелоксикам, парекоксиб, эторикоксиб, целекоксиб, AXS-06, диклофенак калия, целекоксиб с измененным составом (DRGT-46), AAT-076, Meisuoshuli, лумиракоксиб, мелоксикам, вальдекоксиб, залтопрофен, нимесулид, анитразафен, априкоксиб, цимикоксиб, деракоксиб, флумизол, фирококсиб, мавакоксиб, памикогрел, парекоксиб, робенакоксиб, рофекоксиб, рутекарпин, тилмакоксиб, залтопрофен или имрекоксиб;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на протеин-аргинин-N-метилтрансферазу, такие как MS203, PF-06939999, GSK3368715 или GSK3326595;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на PTPN11, такие как TNO155 (SHP-099), RMC-4550, JAB-3068, RMC-4630 (SAR442720), или соединения, описанные в WO2018172984 или WO2017211303;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на протоонкоген Raf-1, серин/треонинкиназу, такие как RG-7304;
- низкомолекулярный антагонист, нацеленный на рецептор ретиноевой кислоты, такой как тамибаротен (SY-1425);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на рибосомную протеинкиназу S6 B1, такие как MSC2363318A;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на кальций-связывающий белок S100 A9, такие как тасквинимод;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на селектин E, такие как натрия упрелеселан (GMI-1271);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на SF3B1, такие как H3B-8800;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на сиртуин-3, такие как YC8-02;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на SMO, такие как сонидегиб (Odomzo®), ранее LDE-225), висмодегиб (GDC-0449), гласдегиб (PF-04449913), итраконазол или патидегиб, таладегиб;
- низкомолекулярные антагонисты, нацеленные на рецептор соматостатина, такие как OPS-201;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на сфингозинкиназу 2, такие как опаганиб (Yeliva®, ABC294640);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на STAT3, такие как напабуказин (BBI-608);
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на танкиразу, такие как G007-LK или стенопариб (2X-121 (e-7499));
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на TFGBR1, такие как галунисертиб, PF-06952229;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на тимидилатсинтазу, такие как идетрекседа (ONX-0801);

- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на опухолевый белок p53, такие как CMG-097;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на белок, содержащий валозин, такие как CB-5083;
- низкомолекулярные ингибиторы, нацеленные на WT1, такие как омбипепимут-S (DSP-7888);
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на рецептор аденозина, такие как AB928 или намоденозон (CF102);
- низкомолекулярный(-е) агонист(-ы), нацеленный(-ые) на аспарагиназу, такой(-ие) как кризантаспаза (Erwinase®), GRASPA (ERY-001, ERY-ASP), каласпаргаза пегол или пегаспаргаза;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на CCAAT/энхансер-связывающий белок альфа, такие как MTL-501;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на маркеры кластера дифференцировки, такие как гамма-субъединица рецептора интерлейкина 2, элтромбопаг, ринтатолимод, поли-ICLC (NSC-301463), рибоксон, апоксим, RIBOXXIM®, MCT-465, MCT-475, G100, PEPA-10, эфтозанермин альфа (ABBV-621), E-6887, мотолимод, резиквимод, селгантолимод (GS-9688), VTX-1463, NKTR-262, AST-008, CMP-001, кобитолимод, тилсотолимод, литенимод, MGN-1601, BB-006, IMO-8400, IMO-9200, агатолимод, DIMS-9054, DV-1079, лефитолимод (MGN-1703), CYT-003 или PUL-042;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на семейство цитохромов P450, такие как митотан;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на DExD/H-бокс-геликазу 58, такие как RGT-100;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на GNRHR, такие как ацетат лейпрорелина, депо ацетата лейпрорелина с замедленным высвобождением (ATRIGEL), памоат трипторелина или ацетат гозерелина;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на GRB2, такие как прексигеберсен (BP1001);
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на NFE2L2, такие как омавелоксолон (RTA-408);
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на NOD2, такие как мифамуртид (липосомальный);
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на PD-L1, такие как CA-170, GS-4224, GS-4416, лазертиниб (GNS-1480; PD-L1/EGFR);
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на рецептор прогестерона, такие как норгестимат + этинилэстрадиол (три-циклен) или левоноргестрел;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на ассоциированный с RAR орфанный рецептор гамма, такие как цинтироргон (LYC-55716);
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на рецептор ретиноевой кислоты, такие как третиноин;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на STING1, такие как ADU-S100 (MIW-815), SB-11285, MK-1454, SR-8291, AdvCA0848, GSK-532, SYN-STING, MSA-1, SR-8291, циклический GAMP (сGAMP) или циклический ди-AMP;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на бета-рецептор тиреоидных гормонов, такие как левотироксин натрия;
- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на TLR7, такие как BDB-001, DSP-0509, версатолимод (GS-9620), LHC-165, имиквимод (TMX-101), резиквимод, MCT-465, RG-7854, NKTR-262 или соединения, описанные в US20100143301, US20110098248, US20090047249, US20140045849, US20140073642, WO2014056953, WO2014076221, WO2014128189, US20140350031, WO2014023813, US20080234251, US20080306050, US20100029585, US20110092485, US20110118235,

US20120082658, US20120219615, US20140066432, US20140088085, US20140275167 или US20130251673;

- низкомолекулярные агонисты, нацеленные на фактор некроза опухоли, такие как тазонермин;
- ингибирующие пептиды, нацеленные на KRAS, такие как KRper-2 (Ac-RRCPYISYDPVCRR-NH₂) или KRper-2d (Ac-RRRCPLYISYDPVCRRR-NH₂);
- антисмысловые агенты, нацеленные на AKT1, такие как RX-0201;
- антисмысловые агенты, нацеленные на рецептор андрогена, такие как IONIS-AR-2.5Rx;
- антисмысловые агенты, нацеленные на бакуловирусный белок, содержащий повтор IAP, 5, такие как EZN-3042;
- антисмысловые агенты, нацеленные на GRB2, такие как прексигеберсен;
- антисмысловые агенты, нацеленные на белок теплового шока 27, такие как апаторсен;
- антисмысловые агенты, нацеленные на KRAS, такие как адаптор анти-KRAS U1, siG12D-LODER™ или экзосомы siG12D;
- антисмысловые агенты, нацеленные на STAT3, такие как данватирсен (IONIS-STAT3-2.5Rx);
- препараты для генной терапии, нацеленные на C-C-хемокиновый рецептор, такой как SB-728-T;
- препараты для генной терапии, нацеленные на интерлейкин, такие как EGENE-001, тавокиноген телсеплазмида, ногапендекин альфа (ALT-803), NKTR-255, NIZ-985 (hetIL-15) или MDNA-55;
- антитела, нацеленные на CD47, такие как CC-90002, магролимаб (Hu5F9-G4), AO-176 (Vx-1004), IBI-188, лемзопарлимаб (TJC-4), SHR-1603, HLX-24, LQ-001, IMC-002, ZL-1201, IMM-01, B6H12, GenSci-059, TAY-018, PT-240, 1F8-GMCSF, SY-102, KD-015, ALX-148, AK-117, TTI-621, TTI -622 или соединения, описанные в WO199727873, WO199940940, WO2002092784, WO2005044857, WO2009046541, WO2010070047, WO2011143624, WO2012170250, WO2013109752, WO2013119714, WO2014087248, WO2015191861, WO2016022971, WO2016023040, WO2016024021, WO2016081423, WO2016109415, WO2016141328, WO2016188449, WO2017027422, WO2017049251, WO2017053423, WO2017121771, WO2017194634, WO2017196793, WO2017215585, WO2018075857, WO2018075960, WO2018089508, WO2018095428, WO2018137705, WO2018233575, WO2019027903, WO2019034895, WO2019042119, WO2019042285, WO2019042470, WO2019086573, WO2019108733, WO2019138367, WO2019144895, WO2019157843, WO2019179366, WO2019184912, WO2019185717, WO2019201236, WO2019238012, WO2019241732, WO2020019135, WO2020036977, WO2020043188, WO2020009725;
- антитела, нацеленные на клаудин 18, такие как клаудиксимаб;
- антитела, нацеленные на маркеры кластера дифференцировки, такие как тафаситамаб (MOR208; MorphoSys AG), инебилизумаб (MEDI-551), обинутузумаб, IGN-002, биоаналог ритуксимаба (PF-05280586), варлидумаб (CDX-1127), AFM-13 (CD16/CD30), AMG330, отлртузумаб (TRU-016), изатуксимаб, фельзартамаб (MOR-202), TAK-079, TAK573, даратумумаб (DARZALEX®), TTX-030, селикрелумаб (RG7876), APX-005M, ABBV-428, ABBV-927, митазалимаб (JNJ-64457107), лензилума, алемтузума, эмактузумаб, AMG-820, FPA-008 (кабирализумаб), PRS-343 (CD-137/Her2), AFM-13 (CD16/CD30), белантамаб мафодотин (GSK-2857916), AFM26 (BCMA/CD16A), симлукафусп альфа (RG7461), урелумаб, утомилумаб (PF-05082566), AGEN2373, ADG-106, BT-7480, PRS-343 (CD-137/HER2), FAP-4-IBBL (4-1BB/FAP), рамуцирумаб, CDX-0158, CDX-0159 и FSI-174, релатлимаб (ONO-4482), LAG-525, MK-4280, фианлимаб (REGN-3767), INCAGN2385, энцелимаб (TSR-033), атипотузумаб, BrevaRex (Mab-AR-20.5), MEDI-9447 (олеклумаб), CPX-006, IPH-53, BMS-

986179, NZV-930, CPI-006, PAT-SC1, лирилумаб (IPH-2102), лакутамаб (IPH-4102), монализумаб, BAY-1834942, NEO-201 (CEACAM 5/6), йод (131I)-апамистамаб (131I-BC8 (Iomab-B)), MEDI0562 (таволиксизумаб), GSK-3174998, INCAGN1949, BMS-986178, GBR-8383, ABBV-368, деносумаб, BION-1301, MK-4166, INCAGN-1876, TRX-518, BMS-986156, MK-1248, GWN-323, CTB-006, INBRX-109, GEN-1029, пепинемаб (VX-15), вопрателимаб (JTX-2011), GSK3359609, коболимаб (TSR-022), MBG-453, INCAGN-2390, или соединения, описанные в WO 2017096179, WO2017096276, WO2017096189 или WO2018089628;

- антитела, нацеленные на кластерин, такие как AB-16B5;
- антитела, нацеленные на компонент комплемента, такие как равулизумаб (ALXN-1210);
- антитела, нацеленные на CTLA4, такие как ипилимумаб, тремелиумаб, BMS-986218, AGEN1181, залифелимаб (AGEN1884), BMS-986249, MK-1308, REGN-4659, ADU-1604, биоаналог ипилимумаба (CS-1002), BCD-145, APL -509, JS-007, BA-3071, ONC-392, KN-044, CG-0161, BPI-002 или HBM-4003;
- антитела, нацеленные на C-X-C-мотив-хемокиновый лиганд, такие как BMS-986253 (HuMax-Inflam);
- антитела, нацеленные на дельтаподобный канонический лиганд Notch 4, такие как демцизумаб;
- антитела, нацеленные на EPH-рецептор A3, такие как фибатузумаб (KB-004);
- антитела, нацеленные на рецептор эпидермального фактора роста, такие как модотуксимаб, цетуксимаб сароталокан (RM-1929), серибантумаб, нецитумумаб, депатуксизумаба мафодотин (ABT-414), томузотуксимаб, депатуксимаб (ABT-806) или цетуксимаб;
- антитела, нацеленные на молекулу адгезии эпителиальных клеток, такие как опортузумаб монатокс (VB4-845);
- антитела, нацеленные на фактор роста фибробластов, такие как GAL-F2, B-701 (вофатамаб);
- антитела, нацеленные на фактор роста гепатоцитов, такие как MP-0250;
- антитела, нацеленные на интерлейкин, такие как канакинумаб (ACZ885), гевокизумаб (VPM087), CJM-112, гуселькумаб, талакотузумаб (JNJ-56022473), силтуксимаб или тоцилизумаб;
- антитела, нацеленные на LRRC15, такие как ABBV-085 или кузатузумаб (ARGX-110);
- антитела, нацеленные на мезотелин, такие как BMS-986148, SEL-403 или анти-MSLN-MMAE;
- антитела, нацеленные на MET, такие как телисотузумаб ведотин (ABBV-399);
- антитела, нацеленные на миостатин, такие как ландогрозумаб;
- антитела, нацеленные на рецептор Notch, такие как тарекстумаб;
- антитела, нацеленные на PD-1, такие как пембролизумаб, ниволумаб, цемиплимаб, пидилизумаб, AMG-404, MEDI0680 (AMP-514), атезолизумаб, дурвалумаб, косибелимаб (CK-301), сасанлимаб (PF-06801591), BGB-A317 (тислелизумаб), зимберелимаб (GLS-010 (WBP-3055)), AK-103 (HX-008), AK-105, CS-1003, HLX-10, ретифанлимаб (MGA-012), BI-754091, балстилимаб (AGEN- 2034), JS-001 (торипалимаб), цетрелимаб (JNJ-63723283), генолимумаб (CBT-501), LZM-009, пролголимаб (BCD-100), лодаполимаб (LY-3300054), SHR-1201, SHR-1210 (камрелизумаб), Sym-021, будигалимаб (ABBV-181), BAT-1306, авелумаб (MSB0010718C), CX-072, CBT-502, TSR-042 (достарлимаб), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155), энвафолимаб (KN-035), IBI-308 (синтилимаб), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, TQB-2450, MDX1105-01, INCB086550, MAX10181, спартализумаб (PDR-001) или соединения, описанные в WO2018195321, WO2020014643, WO2019160882 или WO2018195321;

- антитела, нацеленные на TGFB1, такие как SAR439459, ABBV-151, NIS793, XOMA 089, или соединения, описанные в WO2019103203;
- антитела для нацеливания на фактор роста эндотелия сосудов А, такие как бевацизумаб, вануцизумаб или фарицимаб;
- биспецифические антитела, нацеленные на CD47, такие как IBI-322 (CD47/PD-L1), IMM-0306 (CD47/CD20), TJ-L1C4 (CD47/PD-L1), HX-009 (CD47/PD-1), PMC-122 (CD47/PD-L1), PT-217, (CD47/DLL3), IMM-26011 (CD47/FLT3), IMM-0207 (CD47/VEGF), IMM-2902 (CD47/HER2), BH29xx (CD47/PD-L1), IMM-03 (CD47/CD20), IMM-2502 (CD47/PD-L1), HMBD-004B (CD47/BCMA), HMBD-004A (CD47/CD33), TG-1801 (NI-1701) или NI-1801;
- биспецифические антитела, нацеленные на PD-1, такие как PF-06936308 (PD-1/CTLA4), MGD-013 (PD-1/LAG-3), RO-7247669 (PD-1/LAG-3), MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4), AK-104 (CTLA4/PD-1), RG7769 (PD-1/TIM-3) или TAK-252 (PD-1/OX40L);
- биспецифические антитела, нацеленные на PD-L1, такие как FS-118 (LAG-3/PD-L1), FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), GEN-1046 (PD-L1/4-1BB), бинтрафусп альфа (M7824 (домен PD-L1/TGFβ-EC)), CDX-527 (CD27/PD-L1) или INBRX-105 (4-1BB/PDL1);
- привлекающие Т-клетки активаторы, (нацеленные на CD3), такие как AMG-160 (PSMA/CD3), AMG-212 (PSMA/CD3), AMG-330 (CD33/CD3), AMG-420 (BCMA/CD3), AMG-427 (FLT3/CD3), AMG-562 (CD19/CD3), AMG-596 (EGFRvIII/CD3), AMG-673 (CD33/CD3), AMG-701 (BCMA/CD3), AMG-757 (DLL3/CD3), AMG-211 (CEA/CD3), BLINCYTO® (CD19/CD3), RG7802 (CEA/CD3), ERY-974 (CD3/GPC3), huGD2-BsAb (CD3/GD2), PF-06671008 (кадгерины/CD3), APVO436 (CD123/CD3), ERY974, флотетузумаб (CD123/CD3), GEM333 (CD3/CD33), GEMoab (CD3/PSCA), REGN-1979 (CD20/CD3), MCLA-117 (CD3/CLEC12A), JNJ-0819, JNJ-7564 (CD3/rem), JNJ-63709178 (CD123/CD3), MGD-007 (CD3/gpA33), MGD-009 (CD3/B7H3), IMCgp100 (CD3/gp100), XmAb-14045 (CD123/CD3), XmAb-13676 (CD3/CD20), катумаксомаб (CD3/EpCAM), REGN-4018 (MUC16/CD3), RG6026, RG6076, RG6194, RG-7828 (CD20/CD3), CC-93269 (CD3/BCMA), REGN-5458 (CD3/BCMA), GRB-1302 (CD3/ErbB2), GRB-1342 (CD38/CD3), GEM-333 (CD3/CD33), PF-06863135 (BCMA/CD3), SAR440234 (CD3/CDw123), JNJ-9383 (MGD-015), блинатумомаб (CD19/CD3), одронекстамаб (REGN-1979 (CD20xCD3)), пламотамаб (XmAb-13676 (CD3/CD20)), мосунетузумаб (RG-7828 (CD20/CD3)), AMG-424 (CD38/CD3), тидутамаб (XmAb-18087 (SSTR2/CD3)) или дувортуксизумаб (JNJ-64052781) (CD19/CD3);
- вакцины, нацеленные на fms-связанную рецепторную тирозинкиназу, такие как пептидная вакцина на основе эпитопов, рестриктированных по HLA-A2402/HLA-A0201;
- вакцины, нацеленные на белок теплового шока 27, такие как PSV-AML (PhosphoSynVax);
- вакцины, нацеленные на PD-L1, такие как IO-120 + IO-103 (вакцины PD-L1/PD-L2) или IO-103;
- вакцины, нацеленные на опухолевый белок p53, такие как MVA-p53;
- вакцины, нацеленные на WT1, такие как аналог пептидной вакцины WT-1 (WT1-CTL);
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на белок, содержащий бакуловирусные повторы IAP, 5, такие как вакцина на основе дендритных клеток, нагруженная лизатом опухоли / MUC1 / сурвивином PerTivator;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на карбоангидразу, такие как DC-Ad-GMCAIX;

- препараты для клеточной терапии, нацеленные на С-С-хемокиновый рецептор, такие как CCR5-SBC-728-HSPC;
- препараты для клеточной терапии для нацеливания на маркеры кластера дифференцировки включают, без ограничения, CD19-ARTEMIS, TBI-1501, Т-клетки с CTL-119 huCART-19, лизо-цел, лизокабтаген маралейцел (JCAR-017), аксикабтаген цилолейцел (KTE-C19, Yescarta®), аксикабтаген цилолейцел (KTE-X19), US7741465, US6319494, UCART-19, табелеклейцел (EBV-CTL), Т тисагенлеклейцел-Т (CTL019), CD19CAR-CD28-CD3-дзета-EGFRt-экспрессирующие Т-клетки, терапию Т-клетками с «бронированными» CAR к CD19/4-1BBL, C-CAR-011, CIK-CAR.CD19, CD19CAR-28-дзета Т-клетки, PCAR-019, MatchCART, DSCAR-01, IM19 CAR-T, TC-110, терапию Т-клетками с CAR к CD19 (В-клеточный острый лимфобластный лейкоз, Universiti Kebangsaan Malaysia), анти-CD19 CAR Т-клеточную терапию (острый лимфобластный лейкоз/неходжкинская лимфома, University Hospital Heidelberg), анти-CD19 CAR Т-клеточную терапию (сайленсинг экспрессии IL-6, злокачественное новообразование, Shanghai Unicar-Therapy Bio-medicine Technology), MB-CART2019.1 (CD19/CD20), GC-197 (CD19/CD7), CLIC-1901, ET-019003, анти-CD19-STAR-Т-клетки, AVA-001, BCMA-CD19 cCAR (CD19/APRIL), ICG-134, ICG-132 (CD19/CD20), CTA-101, WZTL-002, Т-клетки с двойным анти-CD19/анти-CD20 CAR (хронический лимфолейкоз/В-клеточные лимфомы), HY-001, ET-019002, YTB-323, GC-012 (CD19/APRIL), GC-022 (CD19/CD22), CD19CAR-CD28-CD3-дзета-EGFRt-экспрессирующие Tn/mem, UCAR-011, ICTCAR-014, GC-007F, PTG-01, CC-97540, GC-007G, TC-310, GC-197, тисагенлеклейцел-Т, CART-19, тисагенлеклейцел (CTL-019)), анти-CD20 CAR Т-клеточную терапию (неходжкинская лимфома), MB-CART2019.1 (CD19/CD20), Т-клетки с двойными анти-CD19/анти-CD20 CAR WZTL-002, ICG-132 (CD19/CD20), ACTR707 ATTCK-20, PBCAR-20A, LB-1905, CIK-CAR.CD33, CD33CART, терапия Т-клетками с двойными анти-BCMA/анти-CD38 CAR, CART-ddBCMA, MB-102, IM-23, JEZ-567, UCART-123, терапию Т-клетками с нокаутом PD-1 (рак пищевода/NSCLC), ICTCAR-052, Tn MUC-1 CAR-T, ICTCAR-053, терапию Т-клетками с нокаутом PD-1 (рак пищевода/NSCLC), AUTO-2, терапию Т-клетками с анти-BCMA CAR, Descartes-011, терапию Т-клетками с анти-BCMA/анти-CD38 CAR, CART-ddBCMA, BCMA-CS1 cCAR, CYAD-01 (NKG2D LIGAND MODULATOR), KD-045, PD-L1 t-haNK, BCMA-CS1 cCAR, MEDI5083, анти-CD276 CART, или препараты, описанные в WO 2012079000 или WO 2017049166;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на фолатгидролазу 1, такие как CIK-CAR.PSMA или CART-PSMA-TGFβRDN;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на GSTP1, такие как CPG3-CAR (GLYCAR);
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на HLA-A, такие как FH-MCVA2TCR или NeoTCR-P1;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на интерлейкин, такие как CST-101;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на KRAS, такие как анти-KRAS G12D mTCR PBL;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на MET, такие как анти-cMet PHK CAR T;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на MUC16, такие как JCAR-020;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на PD-1, такие как терапия Т-клетками с нокаутом PD-1 (рак пищевода/NSCLC);
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на PRAME, такие как BPX-701;
- препараты для клеточной терапии, нацеленные на трансформирующий белок E7, такие как KITE-439;

- препараты для клеточной терапии, нацеленные на WT1, такие как WT1-CTL, ASP-7517 или JTCT-016;

Иллюстративные варианты комбинированной терапии

Комбинированная терапия лимфомы или лейкоза

[0396] Некоторые химиотерапевтические агенты подходят для лечения лимфомы или лейкоза. Эти агенты включают следующее: альдеслейкин, Альвощидиб, амифостина тригидрат, аминокамптотецин, антинеопластон A10, антинеопластон AS2-1, антитимоцитарный глобулин, мышьяка триоксид, ингибитор белка семейства Bcl-2 ABT-263, бета-алетин, BMS-345541, бортезомиб (VELCADE®), бортезомиб (VELCADE®, PS-341), бриостатин 1, бусульфат, кампат-1H, карбоплатин, карфилзомиб (Kyprolis®), кармустин, каспофунгина ацетат, CC-5103, хлорамбуцил, CHOP (циклофосфамид, доксорубин, винкристин и преднизон), цисплатин, кладрибин, клофарабин, куркумин, CVP (циклофосфамид, винкристин и преднизон), циклофосфамид, циклоспорин, цитарабин, денилейкин-дифтитокс, дексаметазон, доцетаксел, доластатин 10, доксорубин, доксорубин гидрохлорид, DT-PACE (дексаметазон, талидомид, цисплатин, доксорубин, циклофосфамид и этопозид), энзастаурин, эпоэтин альфа, этопозид, эверолимус (RAD001), FCM (флударабин, циклофосфамид и митоксантрон), FCR (флударабин, циклофосфамид и ритуксимаб), фенретирид, филграстим, флавопиридол, флударабин, FR (флударабин и ритуксимаб), гелданамицин (17 AAG), hyperCVAD (гиперфракционированный циклофосфамид, винкристин, доксорубин, дексаметазон, метотрексат и цитарабин), ICE (ифосфамид, карбоплатин и этопозид), ифосфамид, иринотекана гидрохлорид, интерферон альфа-2b, иксабепилон, леналидомид (REVLIMID®, CC-5013), лимфокин-активированные клетки-киллеры, MCP (митоксантрон, хлорамбуцил и преднизолон), мелфалан, месна, метотрексат, митоксантрона гидрохлорид, мотексафин гадолиния, микофенолята мофетил, неларабин, обатоклакс (GX15-070), облимерсен, октреотида ацетат, омега-3 жирные кислоты, Omr-IgG-am (WNIG, Omrix), оксалиплатин, паклитаксел, палбоциклиб (PD0332991), пегфилграстим, ПЭГилированный липосомальный гидрохлорид доксорубина, перифозин, преднизолон, преднизон, рекомбинантный лиганд flt3, рекомбинантный человеческий тромбопоэтин, рекомбинантный интерферон альфа, рекомбинантный интерлейкин-11, рекомбинантный интерлейкин-12, ритуксимаб, R-CHOP (ритуксимаб и CHOP), R-CVP (ритуксимаб и CVP), R-FCM (ритуксимаб и FCM), R-ICE (ритуксимаб и ICE), и R MCP (ритуксимаб и MCP), R-роковитин (селициклиб, CYC202), сарграмостим, силденафила цитрат, симвастатин, сиролимус, стирисульфоны, такролимус, танеспимицин, темсиролимус (CCI-779), талидомид, терапевтические аллогенные лимфоциты, тиотепа, типифарниб, винкристин, винкристина сульфат, винорелбина дитартрат, SAHA (суберанилогидроксая кислота или субероил, анид и гидроксая кислота), вемурафениб (Zelboraf®), венетоклакс (ABT-199).

[0397] Одним из модифицированных подходов является радиоиммунотерапия, при которой моноклональные антитела комбинируют с радиоизотопными частицами, такими как индий-111, иттрий-90 и йод-131. Примеры комбинированной терапии включают, но не ограничиваются ими, йод-131 тозитумоаб (BEXXAR®), иттрий-90 ибритумоаб труксетан (ZEVALIN®), и BEXXAR® с CHOP.

[0398] Вышеупомянутые виды терапии можно дополнять или комбинировать с трансплантацией или лечением стволовыми клетками. Терапевтические процедуры включают трансплантацию стволовых клеток периферической крови, аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, аутологичную трансплантацию костного мозга, терапию антителами, биологическую терапию, терапию ингибиторами ферментов, облучение всего тела, инфузию стволовых клеток, абляцию костного мозга с поддержкой стволовых клеток, трансплантацию обработанных *in vitro* стволовых клеток периферической крови, трансплантацию пуповинной крови, иммуноферментную методику, гамма-терапию кобальтом-60

с низкой ЛПЭ, блеомицин, традиционное хирургическое вмешательство, лучевую терапию и немиелоаблативную аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток.

Комбинированная терапия неходжкинских лимфом

[0399] Лечение неходжкинских лимфом (НХЛ), особенно лимфом В-клеточного происхождения, включает применение моноклональных антител, стандартных химиотерапевтических подходов (например, CHOP (циклофосфамид, доксорубин, винкристин и преднизон), CVP (циклофосфамид, винкристин и преднизон), FCM (флударабин, циклофосфамид и митоксантрон), MCP (митоксантрон, хлорамбуцил, преднизолон), все необязательно включают ритуксимаб (R) и т.п.), радиоиммунотерапии и их комбинаций, особенно комбинации терапии антителами с химиотерапией.

[0400] Примеры неконъюгированных моноклональных антител для лечения НХЛ/В-клеточных злокачественных новообразований включают ритуксимаб, алемтузумаб, человеческие или гуманизированные антитела к CD20, люмиксимаб, антитело против лиганда, индуцирующего апоптоз с участием фактора некроза опухолей (анти-TRAIL), бевацизумаб, галиксимаб, эпратузумаб, SGN-40 и анти-CD74.

[0401] Примеры экспериментальных агентов-антител, используемых для лечения НХЛ/В-клеточных злокачественных новообразований, включают офатумумаб, ha20, PRO131921, алемтузумаб, галиксимаб, SGN-40, CHIR-12.12, эпратузумаб, люмиксимаб, аполизумаб, милатузумаб и бевацизумаб.

[0402] Примеры стандартных схем химиотерапии НХЛ/В-клеточных злокачественных новообразований включают CHOP, FCM, CVP, MCP, R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубин, винкристин и преднизон), R-FCM, R-CVP и R MCP.

[0403] Примеры радиоиммунотерапии НХЛ/В-клеточных злокачественных новообразований включают иттрий-90–ибритумомаб тиуксетан (ZEVALIN®) и йод-131–тозитумомаб (BEXXAR®).

Комбинированная терапия мантийноклеточной лимфомы

[0404] Терапевтические способы лечения мантийноклеточной лимфомы (MCL) включают виды комбинированной химиотерапии, например, CHOP, hyperCVAD и FCM. Эти схемы также могут быть дополнены ритуксимабом с моноклональными антителами для получения комбинированных терапий R-CHOP, hyperCVAD-R и R-FCM. Любой из вышеупомянутых видов терапии можно комбинировать с трансплантацией стволовых клеток или ICE для лечения мкл.

[0405] Альтернативный подход к лечению мкл представляет собой иммунотерапию. В одной иммунотерапии используются моноклональные антитела, например, ритуксимаб. В другом используются противораковые вакцины, например, GTOP-99, которые основаны на генетическом составе опухоли отдельного пациента.

[0406] Модифицированным подходом к лечению мкл является радиоиммунотерапия, при которой моноклональные антитела комбинируют с радиоизотопными частицами, такими как йод-131 тозитумомаб (BEXXAR®) и иттрий-90 ибритумомаб тиуксетан (ZEVALIN®). В другом примере BEXXAR® используется при последовательном лечении CHOP.

[0407] Другие подходы к лечению MCL включают трансплантацию аутологичных стволовых клеток в комбинации с химиотерапией в высоких дозах, введение ингибиторов протеасом, например, бортезомиба (VELCADE® или PS-341), или введение антиангиогенных агентов, например, талидомид, особенно в комбинации с ритуксимабом.

[0408] Другой подход к лечению является введение лекарственных средств, которые приводят к расщеплению белка Bcl-2 и повышают чувствительность раковых клеток к химиотерапии, например, облимерсен, в комбинации с другими химиотерапевтическими агентами.

[0409] Дальнейший подход к лечению включает введение ингибиторов mTOR, которые могут привести к подавлению роста клеток и даже гибели клеток. Неограничивающими примерами являются сиролимус, темсиролимус (TORISEL®, CCI-779), CC-115, CC-223, SF-1126, PQR-309 (бимиралисиб), воксталисиб, GSK-2126458 и темсиролимус в комбинации с RITUXAN®, VELCADE® или другие химиотерапевтические агенты.

[0410] Были описаны другие новейшие виды терапии мкл. К таким примерам относятся флавопиридол, палбоциклиб (PD0332991), R-росковитин (селициклиб, CYC202), стирилсульфоны, обатоклак (GX15-070), TRAIL, антитела к рецепторам смерти TRAIL DR4 и DR5, темсиролимус (TORISEL®, CCI-779), эверолимус (RAD001), BMS-345541, куркумин, SAHA, талидомид, леналидомид (REVLIMID®, CC-5013), и гелданамицин (17 AAG).

Комбинированная терапия макроглобулинемии Вальденстрема

[0411] Терапевтические агенты, используемые для лечения макроглобулинемии Вальденстрема (MB), включают следующее: альдеслейкин, алемтузумаб, альвоцидиб, амифостина тригидрат, аминокамптотецин, антинеопластон A10, антинеопластон AS2-1, антитимоцитарный глобулин, триоксид мышьяка, аутологичный человеческий опухолевый белок HSPPC-96, ингибитор белка семейства Bcl-2 ABT-263, бета-алетин, бортезомиб (VELCADE®), бриостатин 1, бусульфан, кампат-1H, карбоплатин, кармустин, каспофунгина ацетат, CC-5103, цисплатин, клофарабин, циклофосфамид, циклоспорин, цитарабин, денилейкин дифтитокс, дексаметазон, доцетаксел, доластатин 10, гидрохлорид доксорубина, DT-PACE, энзастаурин, эпоэтин альфа, эпратузумаб (гуманизированное антитело hLL2-анти-CD22), этопозид, эверолимус, фенретинид, филграстим, флударабин, ибрутиниб, ифосфамид, меченное индием-111 моноклональное антитело MN-14, йод-131–тозитумомаб, иринотекана гидрохлорид, иксабепилон, лимфокин-активированные клетки-киллеры, мелфалан, месна, метотрексат, митоксантрона гидрохлорид, моноклональные антитела к CD19 (например, тисагенлеклейсел-Т, CART-19, CTL-019), моноклональные антитела к CD20, мотексафин гадолиний, микофенолят мофетил, неларабин, облимерсен, октреотида ацетат, омега-3 жирные кислоты, оксалиплатин, паклитаксел, пегфилграстим, ПЭГилированный липосомальный гидрохлорид доксорубина, перифозин, преднизолон, преднизон, рекомбинантный лиганд flt3, рекомбинантный человеческий тромбопоэтин, рекомбинантный интерферон альфа, рекомбинантный интерлейкин-11, рекомбинантный интерлейкин-12, ритуксимаб, сарграмостим, цитрат силденафила (VIAGRA®), симвастатин, сиролимус, такролимус, танеспимицин, талидомид, терапевтические аллогенные лимфоциты, тиотепа, типифарниб, тозитумомаб, улокупумаб, велтузумаб, винкристина сульфат, винорелбина дитартрат, вориносат, пептидная вакцина на основе WT1 126-134, аналоговая пептидная вакцина на основе WT-1, иттрий-90–ибритумомаб тиуксетан, иттрий-90 - гуманизированный эпратузумаб, и любая их комбинация.

[0412] Примеры терапевтических процедур, применяемых для лечения MB, включают трансплантацию стволовых клеток периферической крови, аутологичную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток, аутологичную трансплантацию костного мозга, терапию антителами, биологическую терапию, терапию ингибиторами ферментов, облучение всего тела, инфузию стволовых клеток, абляцию костного мозга с поддержкой стволовых клеток, трансплантацию обработанных in vitro стволовых клеток периферической крови, трансплантацию пуповинной крови, иммуноферментные методики, гамма-

терапию кобальтом-60 с низкой ЛПЭ, блеомицин, традиционное хирургическое вмешательство, лучевую терапию и немисцеллаблативную аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток.

Комбинированная терапия диффузной В-крупноклеточной лимфомы

[0413] Терапевтические агенты, применяемые для лечения диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), включают циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизон, моноклональные антитела к CD20, этопозид, блеомицин, многие агенты, перечисленные для ВМ, и любые их комбинации, например, ICE и RICE.

Комбинированная терапия хронического лимфолейкоза

[0414] Примеры терапевтических агентов, используемых для лечения хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), включают хлорамбуцил, циклофосфамид, флударабин, пентостатин, кладрибин, доксорубин, винкристин, преднизон, преднизолон, алемтузумаб, многие агенты, перечисленные для ВМ, и комбинированную химиотерапию и химиоиммунотерапию, включая следующие общие комбинированные схемы: CVP, R-CVP, ICE, R-ICE, FCR, и FR.

Комбинированная терапия рака молочной железы

[0415] Терапевтические агенты, применяемые для лечения рака молочной железы, включают связанный с альбумином паклитаксел, анастрозол, атезолизумаб, капецитабин, карбоплатин, цисплатин, циклофосфамид, доцетаксел, доксорубин, эпирубицин, эверолимус, эксеместан, фторурацил, фулвестрант, гемцитабин, иксабепилон, лапатиниб, летрозол, метотрексат, митоксантрон, паклитаксел, пегилированный липосомальный доксорубин, пертузумаб, тамоксифен, торемифен, трастузумаб, винорелбин и любые их комбинации.

Комбинированная терапия трижды негативного рака молочной железы

[0416] Терапевтические агенты, применяемые для лечения трижды негативного рака молочной железы, включают атезолизумаб, циклофосфамид, доцетаксел, доксорубин, эпирубицин, фторурацил, паклитаксел и их комбинации.

Комбинированная терапия колоректального рака

[0417] Терапевтические средства, применяемые для лечения колоректального рака, включают бевацизумаб, капецитабин, цетуксимаб, фторурацил, иринотекан, лейковорин, оксалиплатин, панитумумаб, зив-афлиберцепт и любые их комбинации.

Комбинированная терапия рака пищевода и пищеводно-желудочного перехода

[0418] Терапевтические агенты, применяемые для лечения рака пищевода и пищеводно-желудочного перехода, включают капецитабин, карбоплатин, цисплатин, доцетаксел, эпирубицин, фторпиримидин, фторурацил, иринотекан, лейковорин, оксалиплатин, паклитаксел, рамуцирумаб и любые их комбинации.

Комбинированная терапия рака желудка

[0419] Терапевтические агенты, применяемые для лечения рака желудка, включают капецитабин, карбоплатин, цисплатин, доцетаксел, эпирубицин, фторпиримидин, фторурацил, иринотекан, лейковорин, митомицин, оксалиплатин, паклитаксел, рамуцирумаб, трастузумаб и любые их комбинации.

Комбинированная терапия рака головы и шеи

[0420] Терапевтические агенты, применяемые для лечения рака головы и шеи, включают афатиниб, блеомицин, капецитабин, карбоплатин, цетуксимаб, цисплатин, доцетаксел, фторурацил, гемцитабин, гидроксимочевину, метотрексат, ниволумаб, паклитаксел, пембролизумаб, винорелбин и их комбинации.

Комбинированная терапия немелкоклеточного рака легкого

[0421] Терапевтические агенты, используемые для лечения немелкоклеточного рака легкого (SCLC), включают афатиниб, связанный с альбумином паклитаксел, алектиниб, атезолизумаб, бевацизумаб, бевацизумаб, кабозантиниб, карбоплатин, цисплатин, кризотиниб, дабрафениб, доцетаксел, эрлотиниб, гемцитабин, ниволумаб, паклитаксел, пембролизумаб, пеметрексед, рамуцирумаб, траметиниб, трастузумаб, вандетаниб, вемурафениб, винбластин, винорелбин и любые их комбинации.

Комбинированная терапия мелкоклеточного рака легкого

[0422] Терапевтические агенты, применяемые для лечения мелкоклеточного рака легкого (SCLC), включают атезолизумаб, бендамусти, карбоплатин, цисплатин, циклофосфамид, доцетаксел, доксорубин, этопозид, гемцитабин, ипилимумаб, иринотекан, ниволумаб, паклитаксел, темозоломид, топотекан, винкрестин, винорелбин и любые их комбинации.

Комбинированная терапия рака яичников

[0423] Терапевтические агенты, применяемые для лечения рака яичников, включают следующее: 5-фторурацил, паклитаксел, связанный с альбумином, альтретамин, анастрозол, бевацизумаб, капецитабин, карбоплатин, цисплатин, циклофосфамид, доцетаксел, доксорубин, этопозид, экземестан, гемцитабин, ифосфамид, иринотекан, летрозол, лейпролида ацетат, липосомальный доксорубин, мегестрола ацетат, мелфалан, олапариб, оксалиплатин, паклитаксел, пазопаниб, пеметрексед, тамоксифен, топотекан, винорелбин и любые их комбинации.

Дополнительные иллюстративные варианты комбинированной терапии

[0424] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с одним или более терапевтическими агентами, выбранными из агента, связывающего Trop-2, антагониста CD47, антагониста SIRP α , агониста FLT3R, антагониста PD-1, антагониста PD-L1, ингибитора MCL1, агента, связывающего CCR8, антагониста HPK1, ингибитора DGKa, ингибитора CD73, антагониста аденозинового рецептора аденозина, антагониста TIGIT, агента, связывающего TREM1, агента, связывающего TREM2, агента, связывающего TGF β (например, TGF β 1 или TGF β 3), и терапии CAR-T-клетками.

[0425] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с одним или более терапевтическими агентами, выбранными из антитела к Trop-2 (например, сацитумаба говитекана, SKB-264, JS-108 (DAC-002), датопотамаба дерукстекана, BAT-8003), антитела к CD47 или блокатора CD47 (например, магролимаба, DSP-107, AO-176, ALX-148, IBI-188, лемзопарлимаба, TTI-621, TTI-622), антитела к SIRP α (например, GS-0189), слитого белка FLT3L-Fc (например, GS-3583), антитела к PD-1 (пембролизумаба, ниволумаба, зимберелимаба), низкомолекулярного ингибитора PD-L1 (например, GS-4224), антитела к PD-L1 (например, атезолизумаба), низкомолекулярного ингибитора MCL1 (например, GS-9716), низкомолекулярного ингибитора HPK1 (например, GS-6451), деструктора HPK1 (PROTAC; например ARV-766), низкомолекулярного ингибитора DGKa, низкомолекулярного ингибитора CD73 (например, AB680), антитела к CD73 (например, олеклумаба), двойного антагониста аденозиновых рецепторов A_{2a}/A_{2b} (например, этрумаденанта (AB928)), антитела к TIGIT (например, тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308), антитела к TREM1 (например, PY159), антитела к TREM2 (например, PY314), ловушки TGF β (например, бинтрафуспа альфа, AGEN-1423), антитела к TGF β 1 (например, SRK-181) и препарата на основе CAR-T-клеток (например, аксикабтагена цилолейцела, брексукабтагена аутолейцела, тисагенлеклейсела).

[0426] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с антителом к PD-1 и низкомолекулярным ингибитором PD-L1 или антителом к PD-L1 (например, атезолизумабом) и антителом к TIGIT.

[0427] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с антителом к PD-1 и двойным антагонистом аденозинового рецептора A_{2a}/A_{2b} . В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с антителом к PD-1, низкомолекулярным ингибитором CD73 и двойным антагонистом аденозинового рецептора A_{2a}/A_{2b} .

[0428] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с одним или более терапевтическими агентами, выбранными из сацитумаба говитекана-хзия, магролимаба, GS-0189, GS-3583, зимберелимаба, GS-4224, GS-9716, GS-6451, AB680, этрумаденанта (AB928), домваналимаба, AB308, PY159, PY314, SRK-181, аксикабтагена цилолейцела и брексукабтагена аутолейцела.

[0429] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с говитекан-хзия сацитумабом.

[0430] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с магролимабом.

[0431] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с зимберелимабом.

[0432] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с зимберелимабом и домваналимабом.

[0433] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с зимберелимабом и этрумаденантом (AB928).

[0434] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с одним или более терапевтическими агентами, выбранными из зимберелимаба, AB680 и этрумаденанта (AB928).

[0435] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с аксикабтагеном цилолейцелом и брексукабтагеном аутолейцелом.

[0436] В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с агонистом FLT3R. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с лигандом FLT3. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят со слитым белком FLT3L-Fc, например, как описано в WO2020263830. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с GS-3583 или CDX-301. В некоторых вариантах осуществления антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16), вводят с GS-3583.

Применение в диагностических целях

[0437] В настоящем документе предложены способы применения антитела и/или слитого белка (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), полипептидов и полинуклеотидов для обнаружения, диагностики и мониторинга заболевания, нарушения или патологического состояния, связанного с экспрессией CCR8 (либо повышенной или пониженной по сравнению с нормальным образцом и/или неадекватной экспрессией,

такой как наличие экспрессии в ткани(-ях) и/или клетке(-ах), в которых обычно отсутствует экспрессия эпитопа). В настоящем документе предложены способы определения того, будет ли пациент отвечать на лечение антителом и/или слитым белком, предложенным в настоящем документе.

[0438] В некоторых вариантах осуществления способ включает определение *наличия у пациента клеток, экспрессирующих CCR8, с применением антитела к CCR8*. В некоторых вариантах осуществления способ обнаружения включает приведение образца в контакт с антителом, полипептидом или полинуклеотидом и определение того, отличается ли уровень связывания от уровня эталонного образца или образца для сравнения (такого как контроль). В некоторых вариантах осуществления способ может быть полезен для определения того, являются ли антитела или полипептиды, описанные в настоящем документе, подходящим средством для лечения субъекта.

[0439] В некоторых вариантах осуществления клетки или лизат клеток/тканей приводят в контакт с антителом к CCR8 и определяют связывание между антителом и клеткой. Когда тестируемые клетки проявляют связывающую активность по сравнению с эталонной клеткой того же типа ткани, это может указывать на то, что субъекту будет полезно лечение антителом и/или слитым белком, предложенным в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления тестируемые клетки получены из тканей человека. В некоторых вариантах осуществления тестируемые клетки получены из крови человека.

[0440] Можно применять различные способы, известные в данной области, для обнаружения специфического связывания антитело-антиген. Иллюстративные иммуноанализы, которые могут быть проведены, включают флуоресцентный поляризационный иммуноанализ (FPIA), флуоресцентный иммуноанализ (FIA), иммуноферментный анализ (EIA), нефелометрический иммуноанализ ингибирования (NIA), твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) и радиоиммуноанализ (RIA). Индикаторный фрагмент или группа меток могут быть присоединены к рассматриваемым антителам и выбираются таким образом, чтобы удовлетворить потребности различных применений способа, которые часто диктуются наличием оборудования для анализа и совместимых процедур иммунологического анализа. Подходящие метки включают, без ограничения, радионуклиды (например, ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^3H или ^{32}P), ферменты (например, щелочную фосфатазу, пероксидазу хрена, люциферазу или β -галактозидазу), флуоресцентные фрагменты или белки (например флуоресцеин, родамин, фикоэритрин, GFP или BFP) или люминесцентные фрагменты (например, наночастицы QdotTM, поставляемые Quantum Dot Corporation, г. Пало-Альто, штат Калифорния, США). Общие методы, применяемые при проведении различных иммунологических анализов, упомянутых выше, известны специалистам в данной области.

[0441] В целях диагностики полипептид, содержащий антитела, может быть помечен поддающимся обнаружению фрагментом, включая, без ограничения, радиоизотопы, флуоресцентные метки и различные фермент-субстратные метки, известные в данной области. Способы конъюгации метки с антителом известны в данной области.

[0442] В некоторых вариантах осуществления антитела к CCR8 не нужно метить, и их наличие можно обнаружить с помощью второго меченого антитела, которое связывается с первым антителом к CCR8.

[0443] В некоторых вариантах осуществления антитело к CCR8 можно применять в любом известном способе анализа, таком как анализы конкурентного связывания, прямые и непрямые сэндвич-анализы и анализы иммунопреципитации. Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp. 147-158 (CRC Press, Inc. 1987).

[0444] Антитела и полипептиды к CCR8 также можно применять для диагностических анализов *in vivo*, таких как визуализация *in vivo*. Как правило, антитело или полипептид метят радионуклидом (таким как ^{111}In ,

^{99}Tc , ^{14}C , ^{131}I , ^{125}I , ^3H или любой другой радионуклидной меткой, включая описанные в настоящем документе), так что представляющие интерес клетки или ткань можно локализовать с помощью иммуносцинтиграфии.

[0445] Антитело можно также применять в качестве окрашивающего реагента в патологоанатомических исследованиях с помощью методов, хорошо известных в данной области.

[0446] В некоторых вариантах осуществления первое антитело применяют для диагностики, а второе антитело применяют в качестве терапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления первое и второе антитела различаются. В некоторых вариантах осуществления первое антитело получено не от человека, а терапевтическое – от человека. В некоторых вариантах осуществления первое и второе антитела могут одновременно связываться с антигеном путем связывания с отдельными эпитопами.

VII. Наборы/промышленные изделия

[0447] В настоящем документе также предложены наборы, лекарственные препараты, композиции и стандартные дозированные формы для применения в любом из способов, описанных в настоящем документе.

[0448] Наборы могут включать один или более контейнеров, содержащих антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе (например, 7-B16, 1-K17 и т. д.), или стандартные дозированные формы и/или промышленные изделия. В некоторых вариантах осуществления предлагается однократная дозировка, причем однократная дозировка содержит заданное количество композиции, содержащей антитело и/или слитый белок, предложенные в настоящем документе, с одним или более дополнительными агентами или без них. В некоторых вариантах осуществления подобная однократная дозировка представлена в одноразовом предварительно заполненном шприце для инъекции. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащаяся в стандартной дозировке, может содержать физиологический раствор, сахарозу или т. п.; буфер, такой как фосфат, или т. п.; и/или может быть приготовлена в стабильном и эффективном диапазоне pH. В некоторых вариантах осуществления композиция может быть предложена в виде лиофилизированного порошка, который может быть восстановлен при добавлении соответствующей жидкости, например стерильной воды. В некоторых вариантах реализации композиция содержит одно или более веществ, которые ингибируют агрегацию белка, в том числе, без ограничения, сахарозу и аргинин. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит гепарин и/или протеогликан.

[0449] В некоторых вариантах осуществления количество антитела и/или слитого белка, применяемых в однократной дозировке, может быть любым из количеств, предложенных в настоящем документе, для различных описанных способов и/или композиций.

[0450] В некоторых вариантах осуществления наборы дополнительно содержат инструкции по применению для лечения злокачественного новообразования в соответствии с любым из способов, описанных в настоящем документе. Набор может дополнительно содержать описание выбора подходящего индивидуума или лечения. Инструкции, поставляемые в наборе, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или вкладыше (например, лист бумаги, включенный в набор), но также приемлемы машиночитаемые инструкции (например, инструкции на магнитном или оптическом диске). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит другой терапевтический агент.

[0451] Наборы находятся в подходящей упаковке. Подходящая упаковка включает, без ограничения, флаконы, бутылки, банки, гибкую упаковку (например, герметичные майларовые или пластиковые пакеты) и т. п. Наборы могут необязательно содержать дополнительные компоненты, такие как буферы, и пояснительную информацию. Таким образом, в настоящей заявке также предложены готовые изделия,

которые включают флаконы (такие как герметично закрываемые флаконы), бутылки, банки, гибкую упаковку и т. п.

ПРИМЕРЫ

[0452] Примеры, обсуждаемые ниже, предназначены только для иллюстрации изобретения и не должны рассматриваться в качестве ограничения изобретения каким-либо образом. Примеры не подразумевают того, что эксперименты, приведенные ниже, представляют собой все или единственные проведенные эксперименты. Были предприняты усилия, чтобы обеспечить точность в отношении используемых чисел (например, количества, температуры и т. д.), но должны учитываться некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, части являются массовыми частями, молекулярная масса представляет собой среднюю молекулярную массу, температура приведена в градусах Цельсия, а давление равно или близко к атмосферному.

Пример 1. Оценка экспрессии мРНК CCR8 в опухолях человека

[0453] Экспрессию мРНК CCR8 в различных опухолях человека определяли с помощью данных, общедоступных в базе данных Gene Expression Omnibus под серийным номером доступа GSE13204 и доступных через Bloodspot (см. Bagger et al., *Nucleic Acids Research* 44(D1):D917-924 (2016); Haferlach, Torsten, et al. *Journal of Clinical Oncology* 28:2529-37 (2010); и Kohlmann, A. et al. *British Journal of Haematology* 142, 802-807 (2008)). Было обнаружено, что у 10% пациентов с Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом (Т-ALL) уровни мРНК CCR8 превышали максимальное значение, наблюдаемое в здоровом костном мозге (Фиг. 1).

[0454] Уровни экспрессии мРНК CCR8 также определяли по данным секвенирования РНК, полученным из OmicSoft OncoLand Hematology, коллекции наборов данных о связанных с кровью злокачественных новообразований из нескольких исследований, включая базу данных Gene Expression Omnibus и Портал геномики множественной миеломы (MMGP). Данные были получены из первичных образцов пациентов, ксенотрансплантатов или клеточных линий. Экспрессия CCR8 в этих образцах предполагает, что некоторые гемобласты в этой базе данных имеют повышенный уровень экспрессии по сравнению с нормальным контролем, включая Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз и др. (Фиг. 2).

Пример 2. Экспрессия CCR8 специфична для Трег в солидных опухолях

[0455] Экспрессию CCR8 на инфильтрирующей опухоли Трег и обычных Т-клетках (Tconv) определяли с помощью проточной цитометрии следующим образом. Биоптаты опухолей человека механически диссоциировали с помощью клеточного сита для получения суспензии отдельных клеток. Антитело к CCR8 человека (BD Biosciences, клон № 433H) или совпадающий по изотипу контроль применяли для анализа методом проточной цитометрии. Плотность экспрессии CCR8 на клеточной поверхности инфильтрирующей опухоли клеток Трег и Tconv определяли с помощью количественной проточной цитометрии с помощью частиц от Bangs Laboratories, Inc (Quantum Simply Cellular с анти-IgG) и следуя инструкциям производителя.

[0456] Как показано на Фиг. 3А, CCR8 предпочтительно экспрессировался на инфильтрирующей опухоли регуляторных Т-клетках в опухолях молочной железы, толстой кишки, головы и шеи, легких и яичников. Как показано на Фиг. 3В, плотность CCR8 на клеточной поверхности была выше в инфильтрирующей опухоли регуляторных Т-клетках по сравнению с Tconv-клетками, хотя и была низкой, в диапазоне 2000–8000 рецепторов CCR8 на клетку.

Пример 3. Получение мышинных антител к huCCR8

[0457] Моноклональные антитела к CCR8 были получены путем иммунизации линий инбредных мышей BALB/C, CD1, B6/129, B6/SJL, NZB/NZW, JIL-E одним или более из следующих антигенов: 1) плазмидная ДНК, кодирующая CCR8 человека, или 2) линия клеток 3T12, которая экспрессирует CCR8 человека.

[0458] Иммунизацию плазмидной ДНК проводили путем гидродинамической инъекции в хвостовую вену. Клеточную иммунизацию проводили путем внутрибрюшинной (в/б) инъекции сверхэкспрессирующих CCR8 человека клеток 3T12, обработанных митомицином С. Когорту животных иммунизировали линией клеток со сверхэкспрессией CCR8 с последующей ревакцинацией ДНК следующим образом. Мышам вводили по 200 мкл приготовленных антигенов в брюшную полость, подкожно или в подушечки лап каждые двое-четыре суток. Животным, у которых сформировался титр анти-CCR8, внутривенно вводили 10×10^6 сверхэкспрессирующих CCR8 клеток 3T12. Собирали лимфатические узлы и/или селезенки, а выделенные клетки лимфатических узлов и/или спленоциты применяли для получения гибридомы.

[0459] Чтобы выбрать животное, которое продуцирует CCR8-связывающие антитела, сыворотку иммунизированных животных тестировали с помощью проточной цитометрии для определения связывания с линией клеток CHO-S со сверхэкспрессией CCR8 человека, но не с исходной линией клеток CHO-S. Вкратце, связывание поликлональных сывороток оценивали путем инкубации клеток CHO-S со сверхэкспрессией CCR8 человека с серийно разбавленными (1:4) образцами сыворотки. Затем клетки промывали и определяли связывание с меченым фикоэритрином (PE) видоспецифическим антителом к Fc IgG. Анализ методом проточной цитометрии проводили с помощью проточного цитометра BD Fortessa (Becton Dickinson, Сан-Хосе, штат Калифорния). Мышей, у которых сформировались самые высокие титры антител к CCR8, применяли для слияний. Слияния проводили, как описано ниже. Супернатанты гибридом тестировали на активность анти-CCR8 с помощью проточной цитометрии.

[0460] Спленоциты и/или лимфоциты, выделенные из мышей, сливали с линией клеток мышинной миеломы путем электрослияния. Вкратце, суспензии отдельных клеток спленоцитов от иммунизированных мышей сливали с равным количеством несекретирующих IgG клеток мышинной миеломы. Клетки высевали приблизительно по 2×10^4 /лунку в 384-луночные плоскодонные планшеты для микротитрования, после чего инкубировали около двух недель в селективной среде, содержащей 1×гипоксантин-аминоптерин-тимидин (НАТ). Через одну-две недели клетки культивировали в среде, в которой НАТ заменяли на среду с гипоксантином и тимидином (НТ). Приблизительно через 10–14 суток после посева клеток супернатанты из отдельных лунок сначала проверяли на наличие мышинных IgG. Супернатанты, которые были признаны положительными в отношении мышинных антител IgG, затем подвергали скринингу с помощью проточной цитометрии на антитела IgG к CCR8. Затем гибридомы, секретирующие антитело к CCR8, подвергали процессу субклонирования путем предельного разведения. Стабильные субклоны культивировали *in vitro* для определения связывания с CCR8 человека с помощью проточной цитометрии. Подтвержденные положительные клоны масштабировали для получения небольших количеств антител в культуральной среде ткани для дальнейшего определения характеристик. Моноклональные антитела из супернатантов гибридомы очищали с помощью колоночной хроматографии с белком А.

Пример 4. Скрининг антител к CCR8 в отношении связывания с CCR8 человека и CCR4 человека

[0461] Антитела подвергали скринингу на специфическое связывание с CCR8 человека с помощью проточной цитометрии с применением линии клеток CHO-S со сверхэкспрессией CCR8 человека и исходной линии клеток. Антитела, специфически связывающиеся с CCR8 человека, также тестировали на связывание с CCR4 с помощью проточной цитометрии. Как показано на Фиг. 4А–4В, антитела 1-K16, 1-K17, 6-B09, 7-

B16, 13-E16 и 19-O07 связывали клетки CHO-S, экспрессирующие CCR8 человека (4A), но не связывали клетки CHO-S, экспрессирующие CCR4 человека (4B), или нетрансфицированные клетки CHO-S.

[0462] Антитела 1-K16, 1-K17, 6-B09, 7-B16, 13-E16 и 19-O07 секвенировали и переформатировали в остоы IgG1 человека для дальнейшего определения характеристик.

[0463] Связывание с CCR8, а не с CCR4, также было подтверждено для химерных и гуманизированных антител.

Пример 5. Скрининг на блокирование CCL1 химерными антителами к CCR8

[0464] Связывание CCL1 с CCR8, экспрессируемым на поверхности, индуцирует нисходящий сигналинг, и блокирование CCR8 антителом к CCR8 может ингибировать этот сигнальный путь. Поэтому антитела к CCR8 в химерном формате подвергали скринингу на способность ингибировать взаимодействия лиганд-рецептор в клеточном анализе DiscoverX Bioassay (Eurofins) для идентификации антагонистов сигнальной трансдукции CCR8.

[0465] Вкратце, 5000 клеток PathHunter eXpress β -Arrestin GPCR из набора для анализа PathHunter® β -Arrestin eXpress GPCR (Eurofins) помещали в каждую лунку 96-луночного планшета для анализа и культивировали при 37 °C, 5% CO₂. После 48 часов инкубации каждое химерное антитело серийно разбавляли и добавляли в обозначенные ряды планшета для анализа и инкубировали в течение 30 минут при 37 °C. Затем добавляли 13,7 нМ CCL1 человека и инкубировали в течение 90 минут при 37 °C. Затем во все лунки планшета для анализа добавляли рабочий раствор для обнаружения и планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре в темноте. Планшеты для анализа считывали на стандартном планшетном ридере люминесценции со скоростью от 0,1 до 1 секунды/лунку для ридеров с фотоумножителями или от 5 до 10 секунд для устройства для визуализации. Данные были нанесены на график с помощью программного обеспечения GraphPad Prism для получения значений IC₅₀ и обобщены на Фиг. 5 и в таблице 2.

Таблица 2. IC₅₀ химерных антител к CCR8

клон мкАт	IC ₅₀ (мкг/мл)
7-B16	0,090
1-K16	4,551
13-E16	12,590
6-B09	182 020,00
19-O07	995,10
1-K17	0,071

[0466] Как показано на Фиг. 5 и в таблице 2, антитела проявляли различные уровни антагонизма. Антитела 1-K17 и 7-B16 были наиболее сильными антагонистами в анализе DiscoverX.

Пример 6. Эпитоп-специфическая сортировка антител к CCR8 с помощью проточной цитометрии и ИФА

[0467] Подмножество антител к CCR8 человека объединяли по эпитопам с помощью способа проточной цитометрии в tandemном формате. Вкратце, один набор антител был биотинилирован. Клетки со сверхэкспрессией CCR8 человека инкубировали при 4 °C с небитинилированными антителами в концентрации 10 мкг/мл в течение 1 часа, затем без промывания добавляли биотинилированные антитела

в концентрации 10 мкг/мл. После дополнительной 1-часовой инкубации клетки промывали три раза, а затем окрашивали мечеными стрептавидин-фикоэритрином (PE-strep) вторичными антителами в течение 30 минут. Конкуренцию за связывание определяли путем обнаружения PE с помощью проточной цитометрии. Значения ответа нормализовали как % от максимального связывания отдельного антитела. Результаты сортировки показаны в таблице 3А и были подтверждены при помощи последовательного формата ИФА с применением липочастиц со сверхэкспрессией CCR8 человека (таблица 3В).

Таблица 3А. Эпитоп-специфическая сортировка с помощью анализа методом FACS

FACS	7-B16	1-K16	1-K17	19-O07	6-B09
7-B16	41	14	18	148	175
1-K16	88	31	32	149	167
1-K17	14	12	11	28	102
19-O07	108	109	91	54	39
6-B09	89	102	94	32	44

Таблица 3В. Эпитоп-специфическая сортировка с помощью анализа методом ИФА

ИФА	7-B16	1-K16	1-K17	19-O07	6-B09
7-B16	0,655	0,101	0,771	0,437	1,045
1-K16	0,758	0,264	0,794	1,493	0,964
1-K17	0,047	0,036	0,124	0,268	0,651
19-O07	1,023	0,882	0,784	0,817	0,679
6-B09	0,776	0,800	0,820	0,577	0,512

[0468] Как показано в таблицах 3А и 3В, 7-B16, 1-K16 и 1-K17 находятся в одной эпитопной группе, а 19-O07 и 6-B09 – в другой эпитопной группе. 7-B16 и 1-K16 демонстрируют однонаправленное связывание.

Пример 7. Скрининг химерных антител к CCR8 на функцию ADCC

[0469] Набор ADCC Reporter Bioassay от Promega применяли для определения эффекторной функции химеры человеческого IgG1 и гуманизированных версий анти-CCR8. Вкратце, клетки CHO-S, экспрессирующие CCR8 человека, ресуспендировали в предварительно нагретом буфере для анализа (37 °C) при концентрации 10^6 клеток/мл. 25 000 клеток смешивали с серийно разбавленными антителами к CCR8 в 96-луночном планшете с прозрачным плоским дном, а затем инкубировали в течение 1 часа при 37 °C, 5% CO₂. Эффекторные клетки Promega BioAssay добавляли в отдельные лунки в различных соотношениях с клетками-мишенями и дополнительно инкубировали в течение 6 часов при 37 °C и 5% CO₂. После инкубации планшеты для анализа уравнивали до комнатной температуры в течение 15 минут под

фольгой на столе. Предварительно смешанный субстрат для анализа люциферазы Bio-Glo добавляли в каждую лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. Планшеты для анализа считывали на планшетном ридере Bio-Tek в течение 30 минут после добавления субстрата. Данные были нанесены на график с помощью программного обеспечения GraphPad Prism для получения значения EC50 для отдельных антител.

[0470] Результаты показаны на Фиг. 6 и в таблице 4, где показаны значения EC50 для функции ADCC для каждого протестированного антитела. Химерные IgG1 человека 1-K17 и 7-B16 показали сильную активность ADCC.

Таблица 4. Значения EC50 функции ADCC химерных антител к CCR8

клон мкАт	EC50 (нг/мл)
1-K17	6,182
7-B16	6,912
13-E16	54,880

Пример 8. Определение аффинности антител 1-K17 и 7-B16

[0471] Аффинность химерных антител 1-K17 и 7-B16 определяли с помощью анализа кинетического исключения (KinExA) в Sapidyne Instruments Inc. Для определения равновесной константы диссоциации (Kd) клетки CHO-S, экспрессирующие CCR8 человека, титровали на фоне 1-K17 или 7-B16 или мкАт отрицательного контроля. Образцы осторожно встряхивали в течение 2,5 часа при 37 °C для достижения равновесия. После инкубации клетки центрифугировали и удаляли свободную фракцию 1-K17 или 7-B16 или мкАт отрицательного контроля, не перемешивая клеточный осадок. Частицы из PMMA, покрытые биотинилированным козьим антителом к IgG человека, применяли для захвата части свободных мкАт 1-K17 или 7-B16 или отрицательного контроля из уравновешенного образца 1-K17 или 7-B16 или мкАт отрицательного контроля и клеток CHO-S, экспрессирующих CCR8 человека. Захваченные 1-K17 или 7-B16 или мкАт отрицательного контроля обнаруживали с помощью флуоресцентно меченного обнаруживающего антитела. Флуоресцентный сигнал был преобразован в сигнал напряжения, который прямо пропорционален количеству свободного 1-K17 или 7-B16 или мкАт отрицательного контроля в уравновешенном образце.

[0472] Для определения скорости ассоциации (kon) в качестве реагента захвата для кинетических экспериментов применяли ту же колонку с иммобилизованным биотинилированным козьим античеловеческим IgG-PMMA. Количество свободного 1-K17 или 7-B16 или мкАт отрицательного контроля в образце измеряли до достижения равновесия, получая точки данных, которые отслеживали уменьшение свободного 1-K17 или 7-B16 или мкАт отрицательного контроля по мере того, как для образца достигается равновесие.

[0473] Анализ данных был выполнен с помощью программного обеспечения KinExA Pro в Sapidyne Instruments Inc для получения Kd и kon. Скорость диссоциации (koff) рассчитывали на основании приведенного ниже уравнения.

$$k_{off} = K_d \times k_{on}$$

[0474] Оба антитела показали высокую аффинность в диапазоне от 18 до 220 pM, как показано в таблице 5.

Таблица 5. Аффинность антитела к CCR8 на клетке, определенная с помощью KinExA

Эталонное антитело	K_a [1/(M*s)]	K_d [1/c]	K_b [M]
Химера 1-K17.hG1	$7,81 \times 10^6$	$1,44 \times 10^{-4}$	$0,18 \times 10^{-10}$
Химера 7-B16.hG1	$6,08 \times 10^6$	$1,34 \times 10^{-3}$	$2,20 \times 10^{-10}$

Пример 9. Гуманизация и коррекция гипервариабельных областей антител 1-K17 и 7-B16

[0475] Антитела 1-K17 и 7-B16 гуманизировали путем трансплантации CDR перспективных антител в выбранные каркасы зародышевой линии IgG человека. Зародышевые линии человека IGHV, IGKV, IGHJ и IGKJ были выбраны на основании сходства последовательностей в обоих каркасах (FR). Исходные антитела и выбранные зародышевые линии приведены в таблице 6. Чтобы сохранить каноническую структуру петли и границу взаимодействия цепей, некоторые остатки в каркасах зародышевой линии человека были обратно мутированы в соответствующие мышинные остатки (выделены жирным шрифтом в таблице 6).

[0476] In silico прогнозирование предполагало высокорисковые склонности к нарушениям последовательности в CDR как 1-K17, так и 7-B16. Например, в области CDR-H2 гуманизированного 1-K17 имеется мотив NG. Оценивали три нежелательные мутации в положении N55 в тяжелой цепи, чтобы увидеть, можно ли удалить потенциальный сайт дезамидирования в VH, не влияя на активность. Замена остатка N55Q была выбрана для устранения потенциального сайта дезамидирования (N55) в тяжелой цепи и включена в гуманизованную последовательность. В области CDR-L1 1-K17 имеются мотивы NG и NT, которые могут быть подвержены дезамидированию. Замены остатков G34A и N35Q были выбраны для устранения потенциальных сайтов дезамидирования (N33 и N35) в легкой цепи и включены в гуманизованную последовательность. Те же конструкции мутаций, что и гуманизованная легкая цепь 1-K17, были протестированы для устранения потенциальной склонности к дезамидированию в CDR-L1 7-B16, в дополнение к мутации M56L для устранения склонности к окислению в CDR-L2. Последовательности приведены в таблице 6.

Таблица 6. Гуманизация и коррекция гипервариабельных областей 1-K17 и 7-B16

Антитело	Цепь	Исходное	Зародышевая линия		Гуманизированное с коррекцией гипервариабельных областей
			HV	HJ	
1-K17.015	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYYCARKGGTPFAYWGQGTLLTVSA (SEQ ID NO: 56)	IGHV1-3*01	IGHJ04*1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRLEWIGAIYPGQGDTSYNQKFKGRATLTADKSASTAYMELSSLRSEDNAVYYCARKGGTPFAYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 68)
	VL	DVVMQTQTPSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 57)	IGKV2-30*01	IGKJ02*01	DVVMQTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVHSNAQTYLYWYQQRPGQSPRLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 69)
1-K17.044	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYYCARKGGTPFAYWGQGTLLTVSA (SEQ ID NO: 56)	IGHV1-46*01	IGHJ04*1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGAIYPGAGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARKGGTPFAYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 74)
	VL	DVVMQTQTPSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 57)	IGKV2-30*01	IGKJ02*01	DVVMQTQSPLSLPVT LGQPASISCRSSQSLVHSNAATYLYWYQQRPGQSPRLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 75)
7-B16.001	VH	EVQLVESGGGLVQPGSLKLS CAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYCYVRGLLRYRFFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO: 80)	IGHV3-73*01	IGHJ06*1	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCYVRGLLRYRFFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 92)

	VL	DIVMTQAEPSVPVTPGESISISCRSSKSLLSHN GNTYLYWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVP DRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 81)	IGKV2- 18*01	IGKJ04*01	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSKSLLSHN GNTYLYWFLQKPGQSPQLLIYRMSNLASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 93)
7-B16.033	VH	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNT YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSNYYAT YYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKT EDTAMYYCVRGLLRYRFFDVWGAGTTVTV SS (SEQ ID NO: 80)	IGHV3- 49*01	IGHJ06*1	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCTASGFTFATY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSNYYATYY ADSVKDRFTISRDDSKSILYLQMNSLKTEDTA VYYCVRGLLRYRFFDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 96)
	VL	DIVMTQAEPSVPVTPGESISISCRSSKSLLSHN GNTYLYWFLQRPQGSPQLLIYRMSNLASGVP DRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 81)	IGKV2- 18*01	IGKJ04*01	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSKSLLSHN GNTYLYWFLQKPGQSPQLLIYRMSNLASGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 97)

[0477] Было подтверждено, что все оптимизированные антитела связываются с CHO-S, экспрессирующим CCR8 человека. Константы аффинности для гуманизированных вариантов антител 1-K17 и 7-B16 показаны в таблице 7.

Таблица 7. Аффинность антитела к CCR8 на клетке, определяемая с помощью анализа KinExA

Эталонное антитело	K_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)	K_{off} (s^{-1})	K_D [M]
Гуманизированное 1-K17.015	$9,78 \times 10^6$	$1,42 \times 10^{-4}$	$14,5 \times 10^{-12}$
Гуманизированное 1-K17.044	$8,29 \times 10^6$	$6,67 \times 10^{-5}$	$8,05 \times 10^{-12}$
Гуманизированное 7-B16.001	$4,99 \times 10^6$	$7,93 \times 10^{-5}$	$15,9 \times 10^{-12}$
Гуманизированное 7-B16.033	$5,25 \times 10^6$	$3,91 \times 10^{-4}$	$74,6 \times 10^{-12}$

Пример 10. Анализ афукозилирования антител

[0478] Активность репортера ADCC оценивали для IgG1 человека и афукозилированных версий IgG1 человека клона 1K17 к CCR8 человека с помощью набора ADCC Reporter Bioassay в соответствии с рекомендациями производителя. Клетки яичника китайского хомячка (CHO), сверхэкспрессирующие 300 000 или 10 000 молекул CCR8 человека на клеточной поверхности, применяли в качестве клеточных мишеней при соотношении эффекторных клеток к клеткам-мишеням 3:1.

[0479] Антитело 1K17 hIgG1 не запускало ADCC клеток, экспрессирующих CCR8 с низкой плотностью (Фиг. 7A). Напротив, обработка афукозилированным антителом hIgG1 1K17 продуцировала большую Fc-опосредованную ADCC в клетках, экспрессирующих как высокие, так и низкие уровни CCR8 (Фиг. 7B). Таким образом, афукозилирование антитела IgG1 к CCR8 человека улучшает активность ADCC против клеток, экспрессирующих низкие уровни CCR8. Как обсуждалось в настоящем документе, было обнаружено, что инфильтрирующие опухоль Трег экспрессируют низкие уровни CCR8 и, соответственно, афукозилированные антитела к CCR8 могут обеспечивать эффективную активность ADCC в отношении CCR8-экспрессирующих инфильтрирующих опухоль Трег в отличие от неафукозилированных антител.

Пример 11. Анализ антител *in vivo*

[0480] Антитела mIgG2a и mIgG1 к CCR8 оценивали на модели опухоли по сравнению с изотипическим контролем mIgG2a. Мышей 57B16 инокулировали $2,5 \times 10^5$ клеток MC38. Каждая группа лечения включала 4 животных с уже развившимися опухолями (100 mM^3) на 0-е сутки. Животным инъецировали однократно внутрибрюшинно (в/б) на 0-е сутки 200 мкг антитела к CCR8 мыши или антитела изотипического контроля, описанных выше (т. е. mIgG2a к CCR8 мыши или mIgG1 к CCR8 мыши или мышиного изотипического контроля IgG2a), и опухоли собирали трое суток спустя для анализа методом проточной цитометрии.

[0481] Как показано на Фиг. 8A–8C, доля инфильтрирующих опухоль Трег уменьшилась в группе mIgG2a к CCR8, но не в других группах.

[0482] Также оценивали терапевтическую эффективность антител. Мышам с развившимися опухолями (100 mM^3) на 0-е сутки инъецировали внутрибрюшинно (в/б) 200 мкг антитела к CCR8 мыши или антитела изотипического контроля, описанных выше (т. е. mIgG2a к CCR8 мыши или mIgG1 к CCR8 мыши или мышиного изотипического контроля IgG2a), дважды в неделю, на 0-е, 3-е, 7-е, 10-е, 14-е и 17-е сутки. Каждая группа лечения включала 10–15 животных, и рост опухоли измеряли с помощью прибора Caliper.

[0483] На Фиг. 9A–9B показано, что эффекторная функция Fc моноклональных антител к CCR8 мыши обеспечивает терапевтическую эффективность. Fc-компетентное (мышиный IgG2a), но не Fc-некомпетентное (мышиный IgG1) антитело к CCR8 мыши уменьшало рост опухоли и способствовало выживаемости мышей в этой сингенной модели MC38.

Пример 12. Экспрессия мРНК CCR8 при гемобластозах

[0484] Для изучения экспрессии CCR8 в многочисленных исследованиях, направленных на изучение лейкоза и лимфомы, была создана база данных исследований секвенирования полного транскриптома («РНК-секвенирование»). Наборы данных были отобраны по ключевым словам «лейкоз» и «лимфома» и загружены с сайта recount2 (Collado-Torres et al., *Nature biotechnology* 35.4 (2017): 319-321). База данных содержала 2679 образцов из 98 исследований по 22 типам злокачественного новообразования. Набор данных включал образцы из первичных образцов пациентов, линий клеток и ксенотрансплантатов. Источники включали костный мозг, периферическую кровь и другие источники тканей. Уровни экспрессии мРНК были преобразованы в число транскриптов на миллион (TPM), их нормализовали методом квантилей по образцам, чтобы скорректировать общие различия экспрессии между исследованиями и образцами, и $\log_2$ были преобразованы. Наборы данных с большим количеством неэкспрессированных генов или с неполными метаданными были исключены. CCR8 оценивали по типам злокачественного новообразования, а также по изменению логарифмической кратности по сравнению с нормальной здоровой кровью.

[0485] Как показано на Фиг. 10, следующие показания имели значительную активацию CCR8 по сравнению с нормальной кровью в одностороннем t-критерии с поправкой на среднюю долю ложных отклонений гипотез (скорректированное значение $p < 0,05$): Кожная Т-клеточная лимфома (CTCL), Т-клеточная лейкомия/лимфома взрослых (ATLL), Т-клеточная лимфобластная лейкомия/лимфома (TLLL) и Т-острая лимфоцитарная лейкомия (TALL). Анапластическая крупноклеточная лимфома (ALCL) была значимой по номинальному значению p , но не значимой после коррекции FDR.

Пример 13. Варианты скрининга 7-B16

[0486] Различные категории вариантов 7-B16 были созданы и проверены для определения аффинности связывания и активности. Первая категория включала мутацию с одной заменой в CDR H3 7-B16. Вторая категория включала две или три мутации замены в CDR H3 7-B16. Третья категория включала варианты, в которых CDR H1, H2, L1, L2 или L3 7-B16 заменены на соответствующие CDR одного из других описанных в настоящем документе антител.

[0487] Первая категория вариантов (мутация с одиночной заменой в CDR H3) включала варианты, в которых каждый аминокислотный остаток CDR 3 тяжелой цепи (т. е. CDR H3) был итеративно заменен остатком аланина. Эти мутанты оценивали по активности ADCC (как по EC50, так и по кратности индукции), ответу по Octet и связыванию CCR8.

[0488] Активность ADCC оценивали в соответствии с теми же способами, что и в примере 7 выше. Вкратце, набор ADCC Reporter Bioassay от Promega применяли для определения эффекторной функции химеры человеческого IgG1 и гуманизированных версий анти-CCR8. Клетки CHO-S, экспрессирующие CCR8 человека, ресуспендировали в предварительно нагретом буфере для анализа (37 °C) при концентрации 10^6 клеток/мл. 25 000 клеток смешивали с серийно разбавленными антителами к CCR8 в 96-луночном планшете с прозрачным плоским дном, а затем инкубировали в течение 1 часа при 37 °C, 5% CO₂. Эффекторные клетки Promega BioAssay добавляли в отдельные лунки в различных соотношениях с клетками-мишенями и дополнительно инкубировали в течение 6 часов при 37 °C и 5% CO₂. После инкубации планшеты для анализа уравнивали до комнатной температуры в течение 15 минут под фольгой на столе. Предварительно смешанный субстрат для анализа люциферазы Bio-Glo добавляли в каждую лунку и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. Планшеты для анализа считывали на планшетном ридере Bio-Tek в течение 30 минут после добавления субстрата.

[0489] Связывание CCR8 определяли с помощью проточной цитометрии в соответствии с теми же способами, что и в Примере 4. Вкратце, антитела подвергали скринингу на специфическое связывание с CCR8 человека с помощью проточной цитометрии с применением линии клеток CHO-S со сверхэкспрессией CCR8 человека и исходной линии клеток. Антитела, специфически связывающиеся с CCR8 человека, также тестировали на связывание с CCR4 с помощью проточной цитометрии.

[0490] Наконец, чтобы определить паратоп 7-B16, были созданы варианты аланинового сканирования CDR-H3. Связывание вариантов аланинового сканирования CDR-H3 7-B16 с CCR8 определяли с помощью ForteBio Octet с применением N-концевого пептида (аминокислоты 1–35), слитого со связывающим мальтозу белком (CCR8-NT.MBP, полная последовательность которого представлена как SEQ ID NO: 128). Аминокислоты 406–440 SEQ ID NO: 128 (т. е. CCR8-NT.MBP) представляют собой аминокислоты 1–35 белка CCR8, и в этой последовательности все остатки тирозина, выделенные жирным курсивом, могут быть сульфатированы: MDYTLDL SVTTVT D~~Y~~YYPDIFSSPCDAELIQTN GK (аминокислоты 406–440 SEQ ID NO: 128). Аминокислоты 1–364 SEQ ID NO: 128 представляют связывающий мальтозу белок.

[0491] Для этой оценки 10 мкг/мл вариантов аланинового сканирования 7-B16 были захвачены биосенсорами АНС. 300 нМ CCR8-NT.MBP применяли в качестве аналита для определения связывания вариантов с CCR8. Связывание вариантов с CCR8-NT.MBP регистрировали как ответ по Octet (сдвиг в нМ).

[0492] Результаты этих анализов приведены в таблице 8 ниже и на Фиг. 11.

Таблица 8. Оценка вариантов CDR H3 7-B16

Антитело	ADCC (EC50)	ADCC (Кратность индукции)	Octet (сдвиг в нМ)	Направление (кратность по сравнению с исходным)	Мутации CDR	SEQ ID NO:
7-B16	12,51	23,25801	0,4367	10	VRGLLR Y RFFDV	86
7B16.002	6,805	22,88078	0,4693	8	ARGLLR Y RFFDV	104
7B16.003	отсутствие соответствия	2,873665	0,0844	5	VAGLLR Y RFFDV	105
7B16.004	326,4	19,45374	0,2205	6	VRALLR Y RFFDV	106
7B16.005	48,03	20,03381	0,2963	9	VRGALR Y RFFDV	107
7B16.006	678,2	14,0694	0,22	8	VRGLAR Y RFFDV	108
7B16.007	отсутствие соответствия	6,959075	0,1727	7	VRGLLA Y RFFDV	109
7B16.008	7,795	24,79537	0,4357	9	VRGLLRARFFDV	110
7B16.009	155,6	19,7669	0,3027	10	VRGLLR Y AFFDV	111
7B16.010	отсутствие соответствия	1,36121	0,155	4	VRGLLR Y RAFDV	112
7B16.011	отсутствие соответствия	1,61039	0,1733	6	VRGLLR Y RFADV	113
7B16.012	отсутствие соответствия	15,42857	0,0954	2	VRGLLR Y RFFAV	114
7B16.013	18,37	25,91342	0,3826	9	VRGLLR Y RFFDA	115

[0493] Варианты 7B16.002, 7B16.008 и 7B16.013 были выбраны для комбинированных вариантов, которые более подробно обсуждаются ниже.

[0494] Варианты второй и третьей категории (две или три мутации по типу замены в CDR H3 или CDR заменены местами, соответственно) показаны в таблице 9 ниже.

Таблицы 9. Дополнительные варианты антитела 7-B16

Категория		Антитело	Мутации CDR	7-B16 дикого типа
Комбинированный мутант		7B16-H3C1.001	ARGLLRARFFDV (SEQ ID NO: 116)	VRGLLRYRFFDV (SEQ ID NO: 86)
		7B16-H3C2.001	ARGLLRYRFFDA (SEQ ID NO: 117)	VRGLLRYRFFDV (SEQ ID NO: 86)
		7B16-H3C3.001	VRGLLRARFFDA (SEQ ID NO: 118)	VRGLLRYRFFDV (SEQ ID NO: 86)
		7B16-H3C4.001	ARGLLRARFFDA (SEQ ID NO: 119)	VRGLLRYRFFDV (SEQ ID NO: 86)
Мутант с заменой CDR	L1	7B16-L1.001	RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO: 120)	RSSKSLLHSNGNTYLY (SEQ ID NO: 15)
	L2	7B16-L2.001	LGSNRAS (SEQ ID NO: 121)	RMSNLAS (SEQ ID NO: 16)
	L3	7B16-L3.001	MQALQTPFV (SEQ ID NO: 122)	MQHLEYPFT (SEQ ID NO: 17)
	H1	7B16-H1.001	GFTFSGSAMH (SEQ ID NO: 123)	GFTFNTYAMN (SEQ ID NO: 84)
	H2	7B16-H2.001	RIRSKANSYATAYAASVKD (SEQ ID NO: 124)	RIRSKSNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 85)
	H3	7B16-H3.001	TRYYYYYGMDV (SEQ ID NO: 125)	VRGLLRYRFFDV (SEQ ID NO: 86)

[0495] Дополнительные варианты 7-B16, приведенные в таблице 9, оценивали на ответ по Octet и связывание CCR8 в соответствии с теми же способами, которые описаны для вариантов с одиночной заменой CDR H3, описанных в таблице 8. Результаты показаны ниже. В частности, в таблице 10 показан ответ по Octet и связывание с CCR8 CHO, как определено с помощью проточной цитометрии.

Таблица 10. Оценка дополнительных вариантов 7B16

Категория		Антитело	Ответ по Octet (нм)	Связывание с CCR8 CHO OCL методом проточной цитометрии (EC50)
Дикий тип		7B16	0,3024	0,017
Комбинированный мутант		7B16-H3C1.001	0,4308	0,024
		7B16-H3C2.001	0,3569	0,023
		7B16-H3C3.001	0,3759	0,025
		7B16-H3C4.001	0,4043	0,024
Мутант с заменой CDR	L1	7B16-L1.001	0,0039	Н.П.
	L2	7B16-L2.001	0,2054	0,017

L3	7B16-L3.001	0,0463	Н.П.
H1	7B16-H1.001	0,0922	Н.П.
H2	7B16-H2.001	0,2991	0,021
H3	7B16-H3.001	0,0093	Н.П.

[0496] Как показано в таблице 10, не было значительного изменения ответа по Octet ни для одного из аланиновых комбинированных мутантов. Однако наблюдалась потеря связывания в вариантах H1, H3, L1 и L3 с заменой CDR, и наблюдалось умеренное снижение связывания для варианта L1 с заменой CDR.

[0497] Дополнительные варианты 7B16, приведенные в таблице 9, также будут оцениваться на активность ADCC (как EC50, так и кратность индукции) в соответствии с теми же способами, которые описаны для вариантов с одиночной заменой CDR H3, описанных в таблице 8. Ожидается, что эти варианты также будут обладать сходной активностью ADCC.

* * * * *

[0498] Описание может быть осуществлено в других конкретных формах без отклонения от сущности или его существенных характеристик. Таким образом, вышеприведенные варианты осуществления во всех отношениях следует рассматривать как иллюстративные, а не ограничивающие настоящее описание. Следовательно, объем описания указан в прилагаемой формуле изобретения, а не в предшествующем описании, и все изменения, которые подпадают под значение и диапазон эквивалентности формулы изобретения, должны быть включены в ее объем.

Таблица определенных последовательностей

Описание	Последовательность	SEQ ID NO
Полноразмерная последовательность CCL1.hFc1 человека (зрелая последовательность аминокислоты 24-316)	MQIITTALVCLLLAGMWPEDVDSKSMQVPFSRCCFSFAEQEIPLRAIL CYRNTSSICSNEGLIFKLKRGKEACALDTVGWVQRHRKMLRHCP RKSGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKSGGEPEA	1
Последовательность CCL1 человека (зрелая последовательность аминокислоты 24-96)	MQIITTALVCLLLAGMWPEDVDSKSMQVPFSRCCFSFAEQEIPLRAIL CYRNTSSICSNEGLIFKLKRGKEACALDTVGWVQRHRKMLRHCP RK	2
Последовательность линкера CCL1.hFc1 человека	SGGSGGGSG	3
Последовательность hFc1	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFL	4

	YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGEPEA	
Полноразмерная последовательность MC148.hFc1	LARRKCCLNPTNRPIPNLLQDLRVDYQAIGHDCGREAFRVTLDG RQGCVSVGNKSLLDWLRGHKDLCPQIWSGCESLGGSGGGSDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSGEPEA	5
Последовательность MC148	LARRKCCLNPTNRPIPNLLQDLRVDYQAIGHDCGREAFRVTLDG RQGCVSVGNKSLLDWLRGHKDLCPQIWSGCESL	6
Последовательность линкера MC148.hFc1	GGSGGGGS	7
VH 1-K16	EVQLVETGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNINAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTED TAMYVCVRGGYGSSPYDMDYWGQGTSTVTVSS	8
VL 1-K16	DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQRPQGS PQLLIYRMSNLAAGVDPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFGAGTKLELK	9
HC 1-K16	EVQLVETGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNINAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTED TAMYVCVRGGYGSSPYDMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYPLAPG SAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESD LYTLSSSVTPSSPRPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCI CTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTCTVVVDISKDDPEVQFSWFV DDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNS AAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFF PEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPMINTNGSYFVYSKLNVQKSNWE AGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPG	10
LC 1-K16	DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQRPQGS PQLLIYRMSNLAAGVDPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFGAGTKLELKRAAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNN FYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKD EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	11
CDR-H1 1-K16	GFTFNINAMN	12
CDR-H2 1-K16	RIRSKSNNYATYYADSV	13
CDR-H3 1-K16	VRGGYGSSPYDMDY	14
CDR-L1 1-K16	RSSKSLLSHNGNTYLY	15
CDR-L2 1-K16	RMSNLA	16
CDR-L3 химеры 1-K16	MQHLEYPT	17
HC химеры 1-K16	EVQLVETGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNINAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTED TAMYVCVRGGYGSSPYDMDYWGQGTSTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK	18

	FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
LC химеры 1-K16	DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLLSNGNTYLYWFLQRPQQSPQLLIYRMSNLAAGVPDRFSGSGGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	19
VH 6-B09	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLARYDISWIRQPPGKGLEWLGVIWTGGGTNYNSAFMSRLSISKDNSKSQVFLKMNGLQTDDETAIYYCVSIRYDETYWGQGTLLTVSA	20
VL 6-B09	QIVLTQSPAISASPGKVTITCSASSSVIYMHWFQKPGTSPKLWIYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPITFGAGTKLELK	21
HC 6-B09	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLARYDISWIRQPPGKGLEWLGVIWTGGGTNYNSAFMSRLSISKDNSKSQVFLKMNGLQTDDETAIYYCVSIRYDETYWGQGTLLTVSAAKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTVNNGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSWPSQSIICNVAAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLSPITCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG	22
LC 6-B09	QIVLTQSPAISASPGKVTITCSASSSVIYMHWFQKPGTSPKLWIYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPITFGAGTKLELKRAADAAPTVISIFPPSDEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSYSTMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKSTSPIVKSFNRNEC	23
CDR-H1 6-B09	GFSLARYDIS	24
CDR-H2 6-B09	GGTNYNSAFMSRLSIS	25
CDR-H3 6-B09	VSIRYDETY	26
CDR-L1 6-B09	SASSSVIYMH	27
CDR-L2 6-B09	TSNLASG	28
CDR-L3 6-B09	QQRSSYPIT	29
HC химеры 6-B09	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLARYDISWIRQPPGKGLEWLGVIWTGGGTNYNSAFMSRLSISKDNSKSQVFLKMNGLQTDDETAIYYCVSIRYDETYWGQGTLLTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	30
LC химеры 6-B09	QIVLTQSPAISASPGKVTITCSASSSVIYMHWFQKPGTSPKLWIYATSNLASGVPARFSGSGGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPIT	31

	TFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
VH 13-E16	EVQLVETGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFSTNAMNWVRQAPGKGL EWIARIRSKSNNYATHYADSVKDRFTISRDDSQSILHLQMNNLKNED TAMYVCVRDSHYVYSTYVGLAWFAYWGQGLTVTVSA	32
VL 13-E16	QIVLTQSPAISASPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIY STSNLASGVPARFSGSGSGTSYFLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPYT FGGGTKLERK	33
HC 13-E16	EVQLVETGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFSTNAMNWVRQAPGKGL EWIARIRSKSNNYATHYADSVKDRFTISRDDSQSILHLQMNNLKNED TAMYVCVRDSHYVYSTYVGLAWFAYWGQGLTVTVSAAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTI KPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDD PDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMS GKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQ VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMY SKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG	34
LC 13-E16	QIVLTQSPAISASPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIY STSNLASGVPARFSGSGSGTSYFLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPYT FGGGTKLERKRAAAPTVISFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNS YTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	35
CDR-H1 13-E16	GFTFSTNAMN	36
CDR-H2 13-E16	RIRSKSNNYATHYADSV	37
CDR-H3 13-E16	VRDSHYVYSTYVGLA	38
CDR-L1 13-E16	SASSSVSYMH	39
CDR-L2 13-E16	TSNLAS	40
CDR-L3 13-E16	QQRSSYPYT	41
HC химеры 13-E16	EVQLVETGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFSTNAMNWVRQAPGKGL EWIARIRSKSNNYATHYADSVKDRFTISRDDSQSILHLQMNNLKNED TAMYVCVRDSHYVYSTYVGLAWFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	42
LC химеры 13-E16	QIVLTQSPAISASPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIY STSNLASGVPARFSGSGSGTSYFLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPYT FGGGTKLERKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	43
VH 19-O07	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASGFNIKNTQMHWVKQRPEQGLE WIGRIDPANGNTKYAPKFQGKATITGDTSSNTAYLQLSSLTSEDTAIY YCARFDYYYGSGDYAMDYWGQGTSTVTVSS	44

VL 19-O07	DVVMQTQPLTTLSTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNLWLLQRPQG SPKRLIYL VSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQ GTRFPWTFGGGTNLEIK	45
HC 19-O07	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASGFNIKNTQMHWVKQRPEQGLE WIGRIDPANGNTKYAPKFQGKATITGDTSSNTAYLQLSSLTSEDTAIY YCARFDYYYGSGDYAMDYWGQGSTVTVSSTTTAPSVYPLVPGCSD TSGSSVTLGCLVKGYFPEPVTVKWNYGALSSGVRTVSSVLQSGFYSL SSLVTVPSSTWPSQTVICNVAHPASKTELKRIEPRIPKPSTPPGSSCPP GNILGGPSVFIFPPKPKDALMISLTPKVTCTVVDVSEDDPDVHVSF VDNKEVHTAWTQPREAQYNSTFRVVSALPIQHQDWMRGKEFKCKV NNKALPAPIERTISKPKGRAQTPQVYTIPPPREQMSKKKVSILTCLVTN FFSEAISSVEWERNGELEQDYKNTPPILDSDGTYFLYSKLTVDTDSWL QGEIFTCSVVHEALHNHHTQKNLSRSPLELNETCAEAQDGELDGL WTTITIFISLFLSVCYSASVTLFKVKWIFSSVVQVKQTAIPDYRNMIG QGA	46
LC 19-O07	DVVMQTQPLTTLSTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNLWLLQRPQG SPKRLIYL VSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQ GTRFPWTFGGGTNLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNN FYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDSSTYSMSSTLTCLKD EYERHNSYTCEATHKSTSTSPIVKSFNREK	47
CDR-H1 19-O07	GFNIKNTQMH	48
19-O07 CDR-H2	RIDPANGNTKYAP	49
CDR-H3 19-O07	ARFDYYYGSGDYAMDY	50
CDR-L1 19-O07	KSSQSLLYSNGKTYLN	51
CDR-L2 19-O07	LVSKLDS	52
CDR-L3 19-O07	VQGTRFPWT	53
HC химеры 19-O07	EVQLQQSVAELVRPGASVKLSCTASGFNIKNTQMHWVKQRPEQGLE WIGRIDPANGNTKYAPKFQGKATITGDTSSNTAYLQLSSLTSEDTAIY YCARFDYYYGSGDYAMDYWGQGSTVTVSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	54
LC химеры 19-O07	DVVMQTQPLTTLSTIGQPASISCKSSQSLLYSNGKTYLNLWLLQRPQG SPKRLIYL VSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCVQ GTRFPWTFGGGTNLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	55
1-K17 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQG LEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDS AVYYCARKGGTPFAYWGQGTLTVA	56
1-K17 VL	DVVMQTQPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPG QSPKLLIYKVSNRFGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCS QSTHVPYTFGGGTCKLEIK	57

HC 1-K17	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQG LEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDS AVYYCARKGGTPFAYWGQGTLLTVSAAKTPPSVYPLAPGSAAQTN SMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESPLYTLSSS VTVPSRPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVS SVFIFPPKPKDVLITLTTPKVTCTVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHT AQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIE KTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEW QWNGQPAENYKNTQPMINTNGSYFVYSKLVNQKSNWEAGNTFTCS VLHEGLHNHHTKSLSHSPG	58
LC 1-K17	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPG QSPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCS QSTHVPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSTYSMSSTLTTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	59
CDR-H1 1-K17, 1- K17.015 CDR-H1, 1- K17.044	GYTFTSYNMH	60
CDR-H2 1-K17	AIYPGNGDTSYNQ	61
CDR-H3 1-K17, 1- K17.015 CDR-H1, 1- K17.044	ARKGGTPFAY	62
CDR-L1 1-K17	RSSQSLVHSNGNTYLY	63
CDR-L2 1-K17, 1- K17.015, CDR-H1, 1- K17.044	KVSNRFS	64
CDR-L3 1-K17, 1- K17.015 CDR-H1, 1- K17.044	SQSTHVPYT	65
HC химеры 1-K17	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGQG LEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDS AVYYCARKGGTPFAYWGQGTLLTVSAAKTPPSVYPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	66
LC химеры 1-K17	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLYWYLQKPG QSPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCS QSTHVPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC	67
VH 1-K17.015	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRL EWIGAIYPGQGDTSYNQKFKGRATLTADKSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARKGGTPFAYWGQGTLLTVSS	68
VL 1-K17.015	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNAQTYLYWYQQRPGQ SPRLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQ STHVPYTFGGGTKLEIK	69

HC 1-K17.015	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQRL EWIGAIYPGQGDTSYNQKFKGRATLTADKSASTAYMELSSLRSED VYYCARKGGTPFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	70
LC 1-K17.015	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNAQTYLYWYQQRPGQ SPRLLIYKVSNRFSGPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQ STHVPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC	71
CDR-H2 1-K17.015	AIYPGQGDTSYNQ	72
CDR-L1 1-K17.015	RSSQSLVHSNAQTYLY	73
VH 1-K17.044	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGL EWIGAIYPGAGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSED VYYCARKGGTPFAYWGQGLTVTVSS	74
VL 1-K17.044	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNAATYLYWYQQRPGQ SPRLLIYKVSNRFSGPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQ STHVPTFGQGTKLEIK	75
HC 1-K17.044	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGL EWIGAIYPGAGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSED VYYCARKGGTPFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	76
LC 1-K17.044	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHSNAATYLYWYQQRPGQ SPRLLIYKVSNRFSGPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQ STHVPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC	77
CDR-H2 1-K17.044	AIYPGAGDTSYNQ	78
CDR-L1 1-K17.044	RSSQSLVHSNAATYLY	79
7-B16 VH	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGL EWVARIRSKSNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTE DTAMYYCVRGLLRFRFFDVWGAGTTVTVSS	80
7-B16 VL	DIVMTQAEPSPVPTPGESISISCRSSKSLHLSNGNTYLYWFLQRPQGS PQLLIYRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPFTFGGGTKLEIK	81
HC 7-B16	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGL EWVARIRSKSNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTE DTAMYYCVRGLLRFRFFDVWGAGTTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSA	82

	AQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESPLY TLSSSVTVPSSPRPSETVTCNVAHPASSTKVDDKIVPRDCGCKPCICT VPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDD VEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAA FPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPED ITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNNTNGSYFVYSKLVQKSNWEAGN TFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPG	
7-B16 LC	DIVMTQAEPSPVPTPGESISISCRSSKSLHNSNGNTYLYWFLQRPQGS PQLLIYRMSNLAGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFTGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNN FYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKD EYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC	83
CDR-H1 7-B16, 7-B16.001	GFTFNTYAMN	84
CDR-H2 7-B16, 7-B16.001, 7-B16.033	RIRSKSNNYATYYADSVKD	85
CDR-H3 7-B16, 7-B16.001, 7-B16.033	VRGLLRYPFFDV	86
CDR-L1 7-B16, 7-B16.001, 7-B16.033	RSSKSLHNSNGNTYLY	87
CDR-L2 7-B16, 7-B16.001, 7-B16.033	RMSNLAG	88
CDR-L3 7-B16, 7-B16.001, 7-B16.033	MQHLEYPT	89
HC химеры 7-B16	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGL EWVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTE DTAMYYCVRGLLRYPFFDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDDKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	90
LC химеры 7-B16	DIVMTQAEPSPVPTPGESISISCRSSKSLHNSNGNTYLYWFLQRPQGS PQLLIYRMSNLAGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFTGGGKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCFLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLTKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	91
VH 7-B16.001	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGL EWVGRIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTE DTAVYYCVRGLLRYPFFDVWGQGTTVTVSS	92
VL 7-B16.001	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLHNSNGNTYLYWFLQKPGQS PQLLIYRMSNLAGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFTGGGKVEIK	93
HC 7-B16.001	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQASGKGL EWVGRIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTE DTAVYYCVRGLLRYPFFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDDKVEPKSCDKTHTCPP	94

	CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
LC 7-B16.001	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQKPGQS PQLLIYRMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFTGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	95
VH 7-B16.033	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFATYAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKSILYLQMNSLKTEDT AVYYCVRGLLRYPFDVWGQGTITVTVSS	96
VL 7-B16.033	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQKPGQS PQLLIYRMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFTGGGKVEIK	97
HC 7-B16.033	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFATYAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKSNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKSILYLQMNSLKTEDT AVYYCVRGLLRYPFDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	98
LC 7-B16.033	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQKPGQS PQLLIYRMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQ HLEYPTFTGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	99
CDR-H1 7-B16.033	GFTFATYAMN	100
CCR8 человека	MDYTLDSLVTITVDYYPDFISSPCDAELIQTNGKLLAVFYCLLFV SLLGNSLVILVLVVCCKLRSDITDYLLNLALSDLLFVFSFPQTYLL DQWVFGTVMCKVVSIFYGIFYSSMFFITLMSVDRYLAVHAVYA LKVRTIRMGTTLCLAVWLTAIMATIPLLVFYQVASEDGVLCYQSFYN QQTLKWKIFTNFKMNILGLLIPFTIFMFCYIKILHQLKRCQNHNTKA IRLVLIIVIASLLFWVPFNVVLFSLHSMHILDGCSISQQLTYATHVT EIIISFTHCCVNPVIYAFVGEKFKKHLSEIFQKSCSQIFNYLGRQMPRES CEKSSSCQHQHSSRSSVDYIL	101
CCR8 мыши	MDYTMEPNVTMTDYYPDFITAPCDAEFLLRGSMYLAIFYCVLFVL GLLGNSLVILVLVGCKLRSDITDYLLNLALSDLLFVLSIPFQTHNLLD QWVFGTAMCKVVSGLYYIGFFSSMFFITLMSVDRYLAVHAVYAIK VRTASVGTALSLTVWLAATVATIPLMVFYQVASEDGMVLCQFYEE QSLRWKLFTHFEINALGLLPFAILLFCYVRILQQLRGCLNHNRTAI KLVLTVVIVSLLFWVPFNVVLFSLHDLHILDGCATRQRLALAIHVT EVISFTHCCVNPVIYAFIGEKFKKHLMDFVQKSCSHIFLYLGRQMPVG ALERQLSSNQSSHSSTLDDIL	102
CCR8 макака яванского	MDYTLDPSTMTMTDYYPDSLSSPCDGLIQRNDKLLAVFYCLLF VFSLLGNSLVILVLVVCCKLRNITDIYLLNLALSDLLFVFSFPQTYQ LDQWVFGTVMCKVVSIFYGIFYSSMFFITLMSVDRYLAVHAVY AIKVRTIRMGTTLVLVWLTAIMATIPLLVFYQVASEDGVLCYQSFY NQQLKWKIFTNFEMNILGLLIPFTIFMFCYIKILHQLKRCQNHNTK	103

	AIRLV LIVVIASLLFWVPFNVLFTSLHSMHILDGCSISQQLNYATH VTEIISFTHCCVNPVIYAFVGEKFKKHLSEIFQKSCSHIFIYLG RQMPR ESCEKSSSCQQHSFRSSSIDYIL	
CDRH3 7B16.002	ARGLLRYRFFDV	104
CDRH3 7B16.003	VAGLLRYRFFDV	105
CDRH3 7B16.004	VRALLRYRFFDV	106
CDRH3 7B16.005	VRGALRYRFFDV	107
CDRH3 7B16.006	VRGLARYRFFDV	108
CDRH3 7B16.007	VRGLLAYRFFDV	109
CDRH3 7B16.008	VRGLLRARFFDV	110
CDRH3 7B16.009	VRGLLRYAFFDV	111
CDRH3 7B16.010	VRGLLRYRAFDV	112
CDRH3 7B16.011	VRGLLRYRFADV	113
CDRH3 7B16.012	VRGLLRYRFFAV	114
CDRH3 7B16.013	VRGLLRYRFFDA	115
CDRH3 7B16-H3C1.001	ARGLLRARFFDV	116
CDRH3 7B16-H3C2.001	ARGLLRYRFFDA	117
CDRH3 7B16-H3C3.001	VRGLLRARFFDA	118
CDRH3 7B16-H3C4.001	ARGLLRARFFDA	119
CDRL1 7B16-L1.001	RSSQSLHNSNGYNYLD	120
CDRL2 7B16-L2.001	LGSNRAS	121
CDRL3 7B16-L3.001	MQALQTPFV	122
CDRH1 7B16-H1.001	GFTFSGSAMH	123
CDRH2 7B16-H2.001	RIRSKANSYATAYAASVKD	124
CDRH3 7B16-H3.001	TRYYYYYGMDV	125
KRpep-2	RRCPLYISYDPVCRR	126
KRpep-2d	RRRRCPLYISYDPVCRRRR	127
CCR8-NT.MBP	EEGKLVIWINGDKGYNGLAEVGKKFEKDTGIKVTVEHPDKLEEKFP QVAATGDGPDIIIFWAHDRFGGYAQSGLLAEITPDKAFQDKLYPFTW DAVRYNGKLIAYPIAVEALSLIYNKDLLPNPPKTWEEIPALDKELKA KGKSALMFNLQEPYFTWPLIAADGGYAFKYENGKYDIKDVGV DNA	128

	GAKAGLTFLIDLKHKHMNADTDYSIAEAAFNKGETAMTINGPAW SNIDTSKVNYGVTVLPTFKGQPSKPFVGVLSAGINAASPNKELAKEFL ENYLLTDEGLEAVNKDKPLGAVALKSYEEELAKDPRIAATMENAQK GEIMPNIPQMSAFWYAVRTAVINAASGRQTVDEALKDAQTSGGGSG GGSGGGSGGGSHHHHHHGGGSGGGGSGGENLYFQGM DYTLDSLVT TVTDYYYPDIFSSPCDAELIQTNGK	
--	---	--

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

- [illegible]

- содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65; или
- ii) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 84 или 100, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 85, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 88, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 89.
3. Выделенное антитело по п. 2, в котором антитело содержит:
- i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 68 или 74, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 69 или 75; или
- ii) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 92 или 96, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 93 или 97.
4. Выделенное антитело по п. 2 или п. 3, в котором антитело содержит:
- i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68 или 74, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 69 или 75; или
- ii) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 92 или 96, и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 93 или 97.
5. Выделенное антитело по любому из пп. 1–4, в котором антитело представляет собой моноклональное антитело.
6. Выделенное антитело по любому из пп. 1–5, в котором антитело представляет собой гуманизированное антитело.
7. Выделенное антитело по любому из пп. 1–6, в котором антитело представляет собой полноразмерное антитело.
8. Выделенное антитело по любому из пп. 1–7, в котором антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3.
9. Выделенное антитело по любому из пп. 1–8, в котором антитело содержит:
- i) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 70 или 76, и легкую цепь (LC),

- содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 71 или 77; или
- ii) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 94 или 98, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 95 или 99.
10. Выделенное антитело по любому из пп. 1–9, в котором антитело содержит:
- i) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70 или 76, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71 или 77; или
- ii) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94 или 98, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95 или 99.
11. Выделенное антитело по любому из пп. 1–10, в котором антитело содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает гибель клеток.
12. Выделенное антитело по п. 11, в котором усиленное уничтожение клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC).
13. Выделенное антитело по п. 11 или п. 12, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой афукозилирование.
14. Выделенное антитело по п. 11 или п. 12, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой одну или более мутаций константных областей тяжелой цепи в одном или более положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298, Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396.
15. Выделенное антитело по п. 14, в котором одна или более мутаций константной области тяжелой цепи представляют собой одну или более мутаций, выбранных из S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L.
16. Выделенное антитело по п. 14, в котором одна или более мутаций константной области тяжелой цепи выбраны из: F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, S298A/E333A/K334A, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A и D270E/K326D/A330M/K334E.
17. Выделенное антитело по п. 11 или п. 12, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой галактозилирование.
18. Выделенное антитело по любому из пп. 1–17, в котором антитело связывает CCR8 человека с аффинностью (K_D) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее 100 пМ, или менее 75 пМ, или менее 50 пМ или менее 25 пМ.
19. Выделенное антитело по любому из пп. 1–18, в котором антитело связывает CCR8 человека с аффинностью на клетке (K_D) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее 100 пМ, или менее 75, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ.

20. Выделенное антитело по п. 18 или п. 19, в котором аффинность (K_D) определяют с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA).
21. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп. 1–20.
22. Вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по п. 21.
23. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 21 или вектор по п. 22.
24. Клетка-хозяин, которая экспрессирует антитело по любому из пп. 1–20.
25. Клетка-хозяин по п. 23 или п. 24, которая сконструирована таким образом, чтобы продуцировать афукозилированные антитела.
26. Способ получения антитела, которое связывает CCR8, включающий культивирование клетки-хозяина по любому из пп. 23–25 в условиях, подходящих для экспрессии антитела.
27. Способ по п. 26, дополнительно включающий выделение антитела.
28. Слитый белок, содержащий (а) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc.
29. Слитый белок по п. 28, в котором область Fc представляет собой область Fc IgG1 или IgG3.
30. Слитый белок по п. 28 или п. 29, в котором область Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.
31. Слитый белок по любому из пп. 28–30, в котором область Fc содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает гибель клеток.
32. Слитый белок по п. 31, в котором усиленная гибель клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC).
33. Слитый белок по п. 31 или п. 32, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой афукозилирование.
34. Слитый белок по п. 31 или п. 32, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой одну или более мутаций области Fc в одном или более положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298, Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396.
35. Слитый белок по п. 34, в котором одна или более мутаций области Fc представляют собой одну или более мутаций, выбранных из S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L.
36. Слитый белок по п. 34, в котором одна или более мутаций области Fc выбраны из: F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, S298A/E333A/K334A, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A и D270E/K326D/A330M/K334E.
37. Слитый белок по п. 31 или п. 32, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой галактозилирование.
38. Слитый белок по любому из пп. 28–37, в котором слитый белок содержит CCL1 или его активный фрагмент.
39. Слитый белок по п. 38, в котором CCL1 или его активный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 или аминокислоты 24–96 SEQ ID NO: 2.
40. Слитый белок по п. 38 или п. 39, в котором слитый белок содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или аминокислоты 24–316 SEQ ID NO: 1.
41. Слитый белок по любому из пп. 28–37, в котором слитый белок содержит MC148 или его активный фрагмент.

42. Слитый белок по п. 41, в котором MC148 или его активный фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6.
43. Слитый белок по п. 41 или п. 42, в котором слитый белок содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5.
44. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая слитый белок по любому из пп. 28–43.
45. Вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по п. 44.
46. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 44 или вектор по п. 45.
47. Клетка-хозяин, которая экспрессирует слитый белок по любому из пп. 28–43.
48. Клетка-хозяин по п. 46 или п. 47, которая сконструирована таким образом, чтобы продуцировать афукосилированные антитела.
49. Способ получения слитого белка, включающий культивирование клетки-хозяина по любому из пп. 46–48 в условиях, подходящих для экспрессии слитого белка.
50. Способ по п. 49, дополнительно включающий выделение слитого белка.
51. Способ лечения злокачественного новообразования, включающий введение субъекту со злокачественным новообразованием эффективного количества антитела по любому из пп. 1–20.
52. Способ лечения злокачественного новообразования, включающий введение субъекту со злокачественным новообразованием эффективного количества слитого белка по любому из пп. 28–43.
53. Способ по п. 51 или 52, в котором субъект ранее получал лечение ингибитором контрольной точки (CPI) и, необязательно, при этом злокачественное новообразование было резистентно к CPI.
54. Способ по любому из пп. 51–53, в котором злокачественное новообразование включает инфильтрирующие опухоль регуляторные Т-клетки.
55. Способ по любому из пп. 51–53, в котором злокачественное новообразование включает клетки, которые экспрессируют CCR8.
56. Способ по п. 55, в котором клетки, которые экспрессируют CCR8, представляют собой регуляторные Т-клетки.
57. Способ по п. 56, в котором CCR8 экспрессируется на поверхности регуляторных Т-клеток в количестве менее 10 000 копий на клетку (по данным сортировки клеток с помощью активированной флуорисценции (FACS) и/или проточной цитометрии).
58. Способ по любому из пп. 51–57, в котором злокачественное новообразование содержит опухолевые клетки, которые экспрессируют CCR8.
59. Способ по любому из пп. 51–58, в котором злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы.
60. Способ по любому из пп. 51–59, в котором злокачественное новообразование представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI).
61. Способ по п. 60, в котором терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT.
62. Способ по п. 61, в котором антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемипламаба-rwlc и зимберелимаба; причем антитело к CTLA4 представляет собой ипилимуаб или тремелимуаб; или при этом антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.

63. Способ лечения гемобластоза, включающий введение субъекту с гемобластозом эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека.
64. Способ по п. 63, в котором субъект ранее получал лечение ингибитором контрольной точки (CPI) и, необязательно, при этом злокачественное новообразование было резистентно к CPI.
65. Способ по п. 63 или 64, в котором антитело ингибирует связывание CCL1 с CCR8.
66. Способ по любому из пп. 63–65, в котором гемобластоз экспрессирует CCR8.
67. Способ по любому из пп. 63–66, в котором гемобластоз представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI).
68. Способ по п. 67, в котором терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT.
69. Способ по п. 68, в котором антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемипламаба-gwlc и зимберелимаба; причем антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб; или при этом антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.
70. Способ выбора субъекта с гемобластозом для лечения антителом, которое связывает CCR8 человека, включающий обнаружение экспрессии CCR8 в образце от субъекта.
71. Способ по п. 70, дополнительно включающий введение эффективного количества антитела, которое связывает CCR8 человека.
72. Способ по любому из пп. 63–71, в котором антитело, которое связывает CCR8 человека, представляет собой антитело по любому из пп. 1–20.
73. Способ лечения гемобластоза, включающий введение субъекту с гемобластозом эффективного количества слитого белка по любому из пп. 28–43.
74. Способ выбора субъекта с гемобластозом для лечения слитым белком, содержащим (a) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc, включающий обнаружение экспрессии CCR8 в образце от субъекта.
75. Способ по п. 74, дополнительно включающий введение эффективного количества слитого белка, содержащего (a) CCL1 или его активный фрагмент, или MC148, или его активный фрагмент, и (b) область Fc.
76. Способ по п. 75, в котором слитый белок представляет собой слитый белок по любому из пп. 28–43.
77. Способ по любому из пп. 73–76, в котором гемобластоз представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому.
78. Выделенное антитело, которое связывает CCR8 человека, причем антитело содержит HCDR3, содержащую SEQ ID NO: 86, или вариант SEQ ID NO: 86, содержащий 1, 2 или 3 мутации, и при этом антитело связывается с CCR8 человека и имеет активность ADCC.
79. Выделенное антитело по п. 78, в котором мутации выбраны из замены, вставки или делеции.
80. Выделенное антитело по п. 78 или 79, в котором антитело содержит по меньшей мере 2 замены в HCDR3.

81. Выделенное антитело по любому из пп. 78–80, в котором 1, 2 или 3 мутации расположены в по меньшей мере одном из аминокислотных положений 1–4, 6, 7 или 12 SEQ ID NO: 86.
82. Выделенное антитело по любому из пп. 79–81, в котором замена представляет собой консервативную замену.
83. Выделенное антитело по п. 82, в котором консервативная замена находится в аминокислотном положении 1, 4 или 12 SEQ ID NO: 86.
84. Выделенное антитело по любому из пп. 79–81, в котором замена представляет собой неконсервативную замену.
85. Выделенное антитело по п. 84, в котором неконсервативная замена находится в аминокислотном положении 7 SEQ ID NO: 86.
86. Выделенное антитело по любому из пп. 79–81, в котором мутации включают консервативную замену и неконсервативную замену, когда присутствует более одной мутации по типу замены.
87. Выделенное антитело, которое связывает CCR8 человека, в котором антитело содержит HCDR3, которая имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентичности с SEQ ID NO: 86, и при этом антитело связывается с CCR8 человека и имеет активность ADCC.
88. Выделенное антитело по п. 78 или 87, в котором HCDR3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 104–119.
89. Выделенное антитело по любому из пп. 78–87, в котором HCDR3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 86 и любой из SEQ ID NO: 104–119.
90. Выделенное антитело по любому из пп. 78–89, в котором антитело содержит HCDR1, содержащую SEQ ID NO: 84 или SEQ ID NO: 123.
91. Выделенное антитело по любому из пп. 78–90, в котором антитело содержит HCDR2, содержащую SEQ ID NO: 85 или SEQ ID NO: 124.
92. Выделенное антитело по любому из пп. 78–91, в котором антитело содержит LCDR1, содержащую SEQ ID NO: 87 или SEQ ID NO: 120.
93. Выделенное антитело по любому из пп. 78–92, в котором антитело содержит LCDR2, содержащую SEQ ID NO: 88 или SEQ ID NO: 121.
94. Выделенное антитело по любому из пп. 78–93, в котором антитело содержит LCDR3, содержащую SEQ ID NO: 89 или SEQ ID NO: 122.
95. Выделенное антитело по любому из пп. 78–94, в котором антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 80, 92 и 96, и переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 81, 93 и 97.
96. Выделенное антитело по любому из пп. 78–95, в котором антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 82, 90, 94 и 98, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью любой из SEQ ID NO: 83, 91, 95 и 99.

97. Выделенное антитело по любому из пп. 78–96, в котором активность ADCC включает значение EC₅₀ менее 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50, 25, 20, 15, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 нг/мл, измеренные с помощью репортерного биоанализа на основе механизма действия ADCC (MOA).
98. Выделенное антитело по любому из пп. 78–97, в котором активность ADCC является более сильной, чем у антитела 7-B16.
99. Выделенное антитело по любому из пп. 78–98, в котором антитело имеет K_D для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16.
100. Выделенное антитело по любому из пп. 78–99, в котором антитело имеет K_D на клетке для CCR8 человека, которая равна или ниже, чем у антитела 7-B16.
101. Выделенное антитело по п. 99 или 100, в котором K_D определяют с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA).
102. Выделенное антитело по любому из пп. 78–101, в котором антитело содержит по меньшей мере одну модификацию, которая усиливает гибель клеток.
103. Выделенное антитело по п. 102, в котором усиленная гибель клеток представляет собой усиление антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC).
104. Выделенное антитело по п. 102 или п. 103, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой афукозилирование.
105. Выделенное антитело по п. 102 или п. 103, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой одну или более мутаций константных областей тяжелой цепи в одном или более положениях, выбранных из L234, L235, G236, S239, F243, H268, D270, R292, S298, Y300, V305, K326, A330, I332, E333, K334 и P396.
106. Выделенное антитело по п. 105, в котором одна или более мутаций константной области тяжелой цепи представляют собой одну или более мутаций, выбранных из S239D, S239M, F243L, H268D, D270E, R292P, S298A, Y300L, V305I, K326D, A330L, A330M, I332E, E333A, K334A, K334E и P396L.
107. Выделенное антитело по п. 105, в котором одна или более мутаций константной области тяжелой цепи выбраны из: F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, S298A/E333A/K334A, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A и D270E/K326D/A330M/K334E.
108. Выделенное антитело по п. 96 или п. 97, в котором по меньшей мере одна модификация представляет собой галактозилирование.
109. Выделенное антитело по любому из пп. 78–108, в котором антитело связывает CCR8 человека с аффинностью (K_D) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее 100 пМ, или менее 75 пМ, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ.
110. Выделенное антитело по любому из пп. 78–109, в котором антитело связывает CCR8 человека с аффинностью на клетке (K_D) менее 10 нМ, или менее 5 нМ, или менее 1 нМ, или менее 500 пМ, или менее 250 пМ, или менее 100 пМ, или менее 75, или менее 50 пМ, или менее 25 пМ.
111. Выделенное антитело по п. 109 или 110, в котором аффинность (K_D) определяют с помощью анализа кинетического исключения (т. е. KinExA).
112. Выделенное антитело по любому из пп. 78–111, в котором антитело представляет собой моноклональное антитело.
113. Выделенное антитело по любому из пп. 78–112, в котором антитело представляет собой человеческое или гуманизированное антитело.

114. Выделенное антитело по любому из пп. 78–113, в котором антитело представляет собой полноразмерное антитело.
115. Выделенное антитело по любому из пп. 78–114, в котором антитело представляет собой антитело IgG1 или IgG3.
116. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп. 78–115.
117. Способ лечения злокачественного новообразования, включающий введение субъекту со злокачественным новообразованием антитела по любому из пп. 78–115.
118. Способ по п. 117, в котором злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидное злокачественное новообразование.
119. Способ по п. 117 или 118, в котором злокачественное новообразование экспрессирует CCR8.
120. Способ по любому из пп. 117–119, в котором злокачественное новообразование представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому.
121. Способ по любому из пп. 117–119, в котором злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы.
122. Способ по любому из пп. 117–121, дополнительно включающий введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов.
123. Способ по п. 122, в котором один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из антитела к Trop-2 (например, сацитуумаба говитекана, SKB-264, JS-108 (DAC-002), датопотамаба дерукстекана, BAT-8003), антитела к CD47 или блокатора CD47 (например, магролимаба, DSP-107, AO-176, ALX-148, IBI-188, лемзопарлимаба, TTI-621, TTI-622), антитела к SIRP α (например, GS-0189), слитого белка FLT3L-Fc (например, GS-3583), антитела к PD-1 (пембролизумаба, ниволумаба, зимберелимаба), низкомолекулярного ингибитора PD-L1 (например, GS-4224), антитела к PD-L1 (например, атезолизумаба), низкомолекулярного ингибитора MCL1 (например, GS-9716), низкомолекулярного ингибитора HPK1 (например, GS-6451), деструктора HPK1 (PROTAC; например ARV-766), низкомолекулярного ингибитора DGKa, низкомолекулярного ингибитора CD73 (например, AB680), антитела к CD73 (например, олеклумаба), двойного антагониста аденозиновых рецепторов A_{2a}/A_{2b} (например, этрумаденанта (AB928)), антитела к TIGIT (например, тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308), антитела к TREM1 (например, PY159), антитела к TREM2 (например, PY314), ловушки TGF β (например, бинтрафуспа альфа, AGEN-1423), антитела к TGF β 1 (например, SRK-181) и препарата на основе CAR-Т-клеток (например, аксикабтагена цилолейцела, брексукабтагена аутолейцела, тисагенлеклейсела).
124. Способ по п. 122, в котором один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из сацитуумаба говитекан-хзия, магролимаба, GS-0189, GS-3583, зимберелимаба, GS-4224, GS-9716, GS-6451, AB680, этрумаденанта (AB928), домваналимаба, AB308, PY159, PY314, SRK-181, аксикабтагена цилолейцела и брексукабтагена аутолейцела.
125. Способ по любому из пп. 122–124, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют одновременно с введением антитела.
126. Способ по любому из пп. 122–124, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют до или после введения антитела.

127. Способ по любому из пп. 117–126, в котором злокачественное новообразование представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI).

128. Способ по п. 127, в котором терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT.

129. Способ по п. 128, в котором антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; причем антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб; или при этом антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.

130. Применение выделенного антитела по любому из пп. 1–20 или 78–115 или слитого белка по любому из пп. 28–43 для лечения злокачественного новообразования.

131. Применение по п. 130, в котором злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидную опухоль.

132. Применение по п. 130 или 131, в котором злокачественное новообразование экспрессирует CCR8.

133. Применение по любому из пп. 130–132, в котором злокачественное новообразование представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому.

134. Применение по любому из пп. 130–132, в котором злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы.

135. Применение по любому из пп. 130–134, дополнительно включающее введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов.

136. Применение по п. 135, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют одновременно с введением антитела.

137. Применение по п. 135, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют до или после введения антитела.

138. Применение по любому из пп. 130–137, в котором злокачественное новообразование представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI).

139. Применение по п. 138, в котором терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT.

140. Применение п. 139, в котором антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемиплимаба-gwlc и зимберелимаба; причем антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб; или при этом антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.

141. Выделенное антитело по любому из пп. 1–20 или 78–115 или слитый белок по любому из пп. 28–43 для применения при лечении злокачественного новообразования.

142. Выделенное антитело или слитый белок по п. 141, в котором злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидную опухоль.

143. Выделенное антитело или слитый белок по п. 141 или 142, в котором злокачественное новообразование экспрессирует CCR8.

144. Выделенное антитело или слитый белок по любому из пп. 141–143, в котором злокачественное новообразование представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому.

145. Выделенное антитело или слитый белок по любому из пп. 141–143, в котором злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы.

146. Выделенное антитело или слитый белок любому из пп. 141–145, дополнительно включающий введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов.

147. Выделенное антитело или слитый белок по п. 146, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют одновременно с введением антитела.

148. Выделенное антитело или слитый белок по п. 146, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют до или после введения антитела.

149. Выделенное антитело или слитый белок по любому из пп. 141–148, в котором злокачественное новообразование представляет собой рефрактерное злокачественное новообразование или злокачественное новообразование, которое резистентно к терапии ингибитором контрольной точки (CPI).

150. Способ лечения рефрактерного злокачественного новообразования или резистентного к ингибитору контрольной точки (CPI) злокачественного новообразования, включающий введение субъекту со злокачественным новообразованием выделенного антитела по любому из пп. 1–20 или 78–115 или слитого белка по любому из пп. 28–43, причем субъекта ранее лечили химиотерапией или терапией CPI без ответа на химиотерапию или терапию CPI.

151. Способ по п. 150, в котором терапия CPI включает антитело к PDL1, антитело к CTLA4 или антитело к TIGIT.

152. Способ по п. 151, в котором антитело к PDL1 выбрано из пембролизумаба, ниволумаба, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба, цемипламаба-rwlc и зимберелимаба; причем антитело к CTLA4 представляет собой ипилимумаб или тремелиумаб; или при этом антитело к TIGIT выбрано из тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308, BMS-986207 и дурвалумаба.

153. Способ по любому из пп. 150–152, в котором злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз или солидное злокачественное новообразование.

154. Способ по любому из пп. 150–153, в котором злокачественное новообразование экспрессирует CCR8.

155. Способ по любому из пп. 150–154, в котором злокачественное новообразование представляет собой Т-клеточный острый лимфолейкоз взрослых, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз у детей, лимфобластную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, кожную Т-клеточную лимфому, Т-клеточный острый лимфоцитарный лейкоз, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых, Т-клеточный лимфобластный лейкоз/лимфому или анапластическую крупноклеточную лимфому.

156. Способ по любому из пп. 150–154, в котором злокачественное новообразование выбрано из рака молочной железы, колоректального рака, рака головы и шеи, рака легкого, рака яичников, рака желудка, аденокарциномы желудка и тимомы.

157. Способ по любому из пп. 150–156, дополнительно включающий введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов.

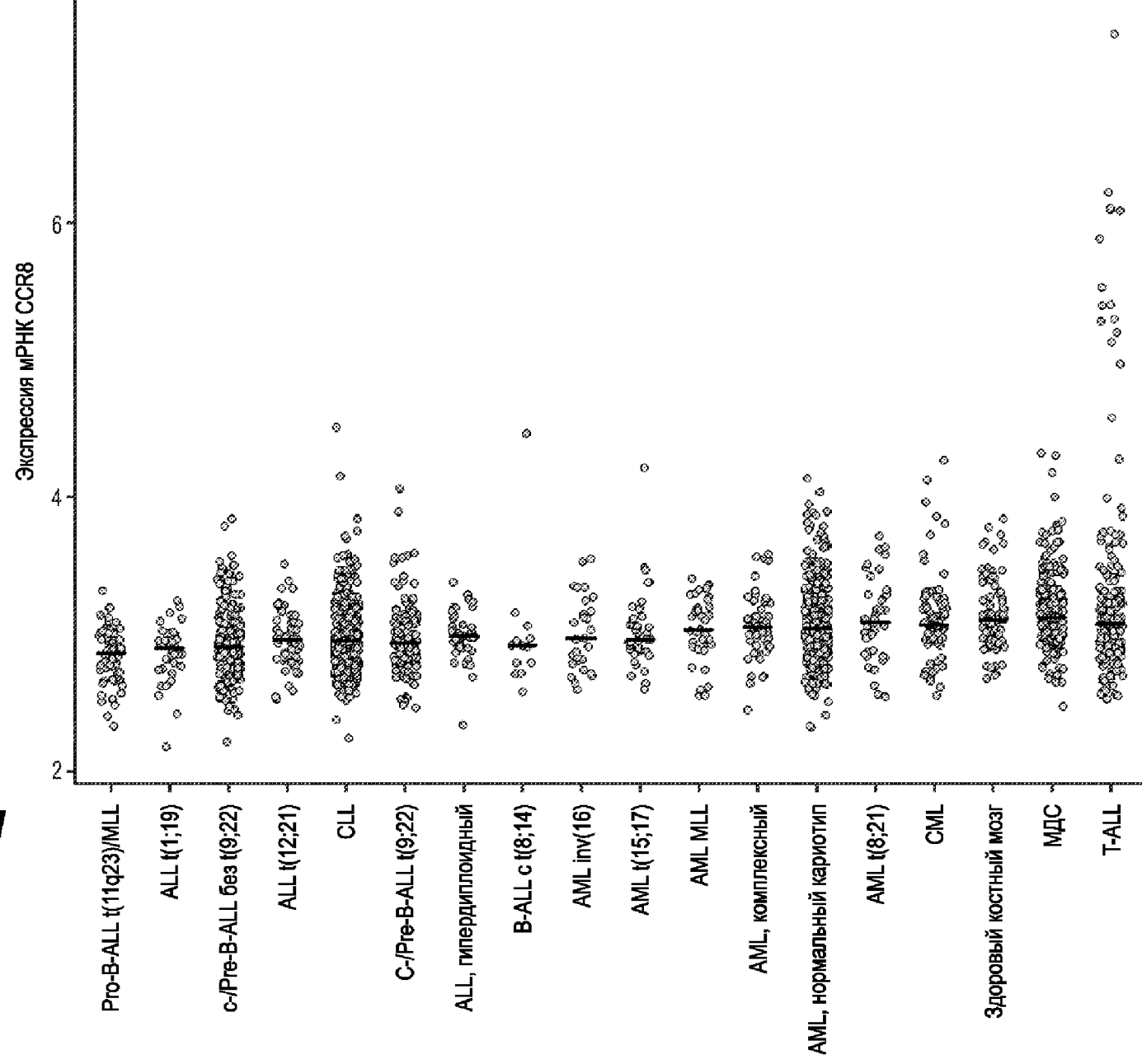
158. Способ по п. 157, в котором один или более дополнительных терапевтических агентов выбрано из антитела к Tgfr-2 (например, сацитузумаба говитекана, SKB-264, JS-108 (DAC-002), датопотамаба дерукстекана, BAT-8003), антитела к CD47 или блокатора CD47 (например, магролимаба, DSP-107, AO-176, ALX-148, IBI-188, лемзопарлимаба, TTI-621, TTI-622), антитела к SIRPα (например, GS-0189), слитого белка FLT3L-Fc (например, GS-3583), антитела к PD-1 (пембролизумаба, ниволумаба, зимберелимаба), низкомолекулярного ингибитора PD-L1 (например, GS-4224), антитела к PD-L1 (например, атезолизумаба), низкомолекулярного ингибитора MCL1 (например, GS-9716), низкомолекулярного ингибитора HPK1 (например, GS-6451), деструктора HPK1 (PROTAC; например ARV-766), низкомолекулярного ингибитора DGKa, низкомолекулярного ингибитора CD73 (например, AB680), антитела к CD73 (например, олеклумаба), двойного антагониста аденозиновых рецепторов A_{2a}/A_{2b} (например, этрумаденанта (AB928)), антитела к TIGIT (например, тираголумаба, вибостолимаба, домваналимаба, AB308), антитела к TREM1 (например, PY159), антитела к TREM2 (например, PY314), ловушки TGFβ (например, бинтрафуспа альфа, AGEN-1423), антитела к TGFβ1 (например, SRK-181) и препарата на основе CAR-T-клеток (например, аксикабтагена цилолейцела, брексукабтагена аутолейцела, тисагенлеклейсела).

159. Способ по п. 157, в котором один или более дополнительных терапевтических агентов выбраны из сацитузумаба говитекан-хзия, магролимаба, GS-0189, GS-3583, зимберелимаба, GS-4224, GS-9716, GS-6451, AB680, этрумаденанта (AB928), домваналимаба, AB308, PY159, PY314, SRK-181, аксикабтагена цилолейцела и брексукабтагена аутолейцела.

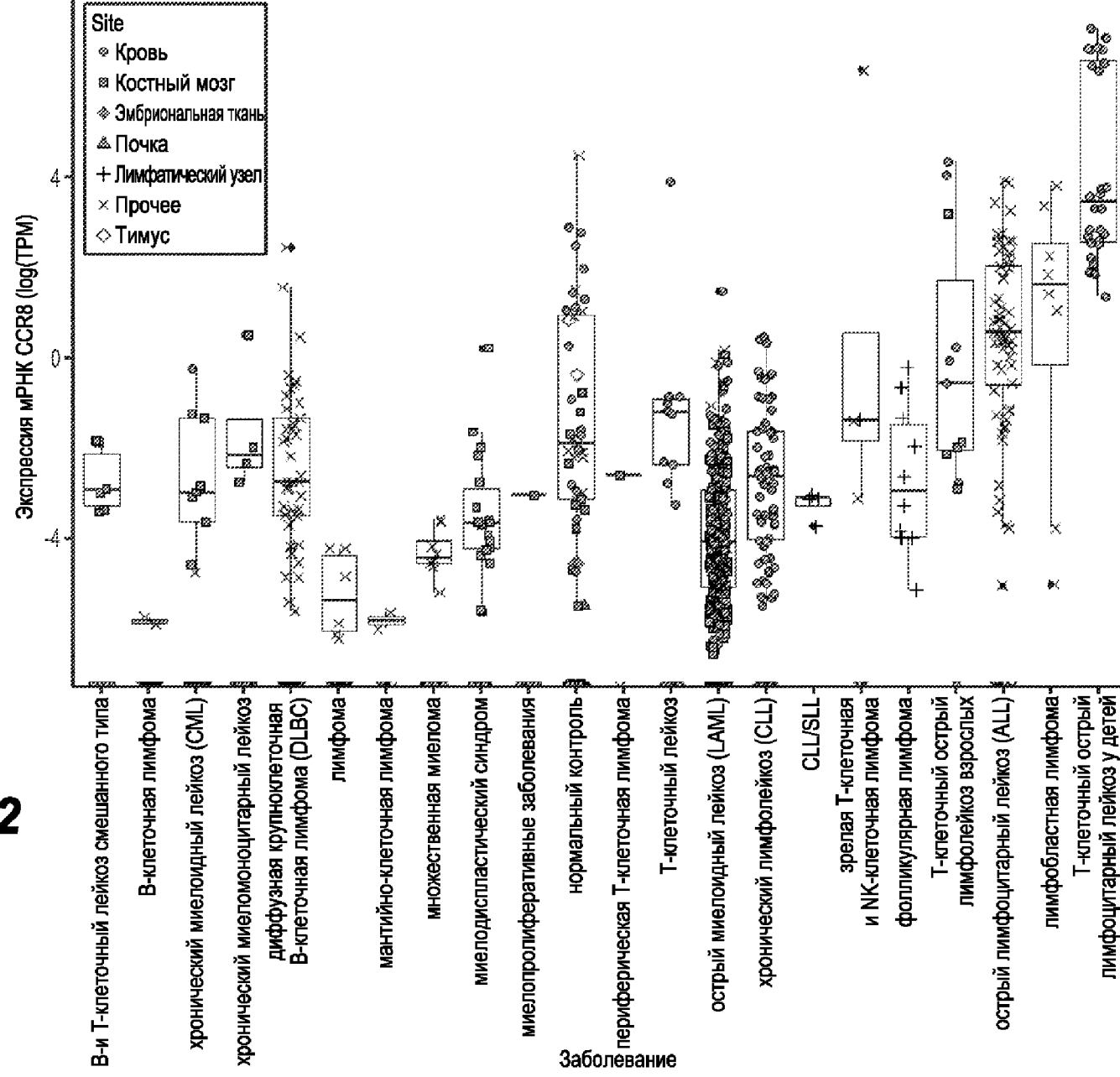
160. Способ по любому из пп. 157–159, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют одновременно с введением антитела.

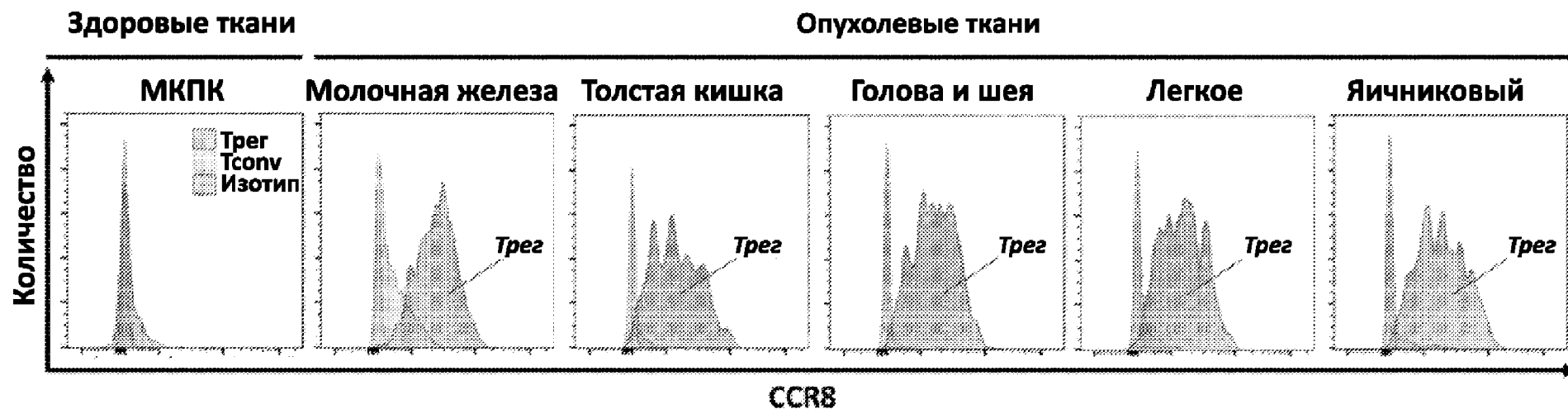
161. Способ по любому из пп. 157–159, в котором введение одного или более дополнительных терапевтических агентов осуществляют до или после введения антитела.

ФИГ. 1

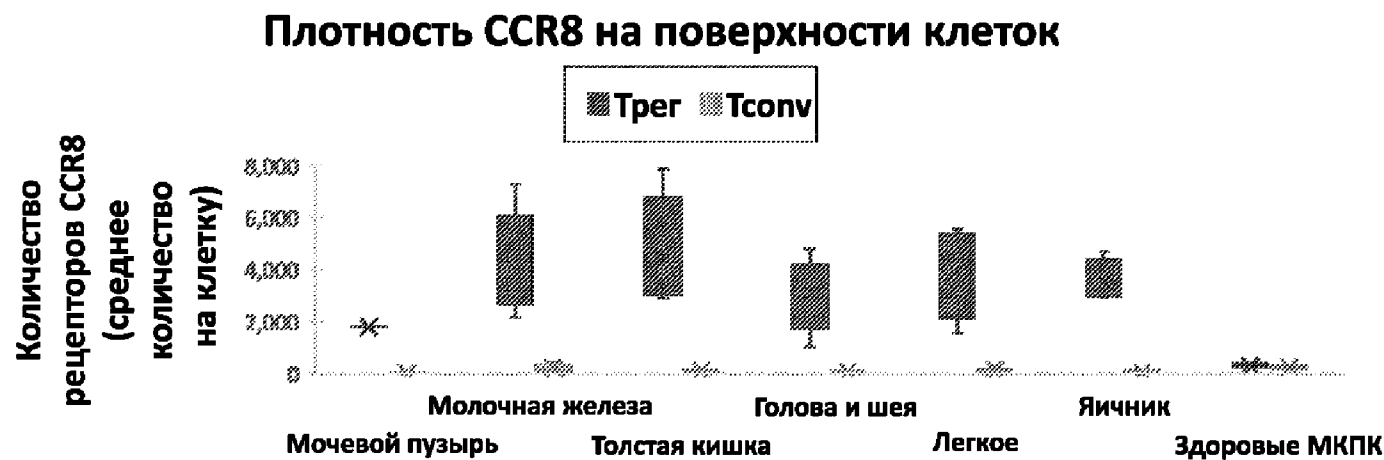


ФИГ. 2

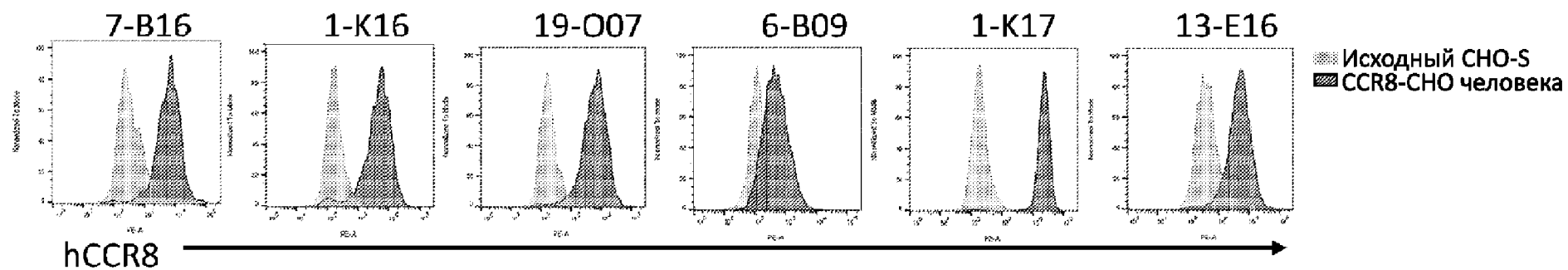




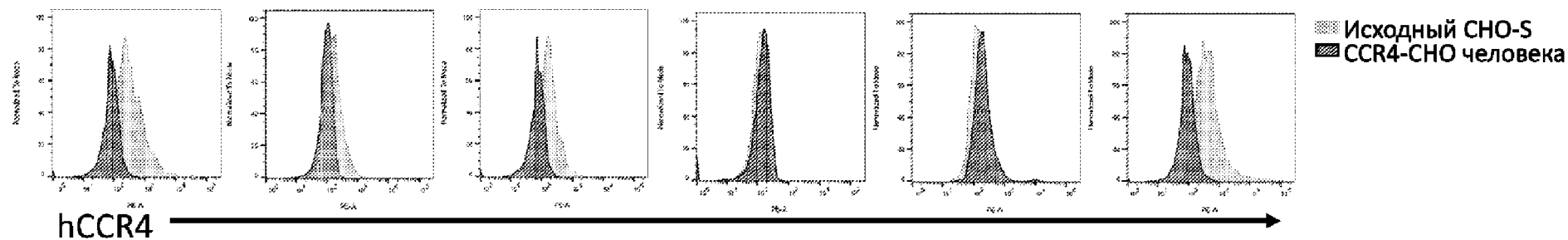
ФИГ. 3А



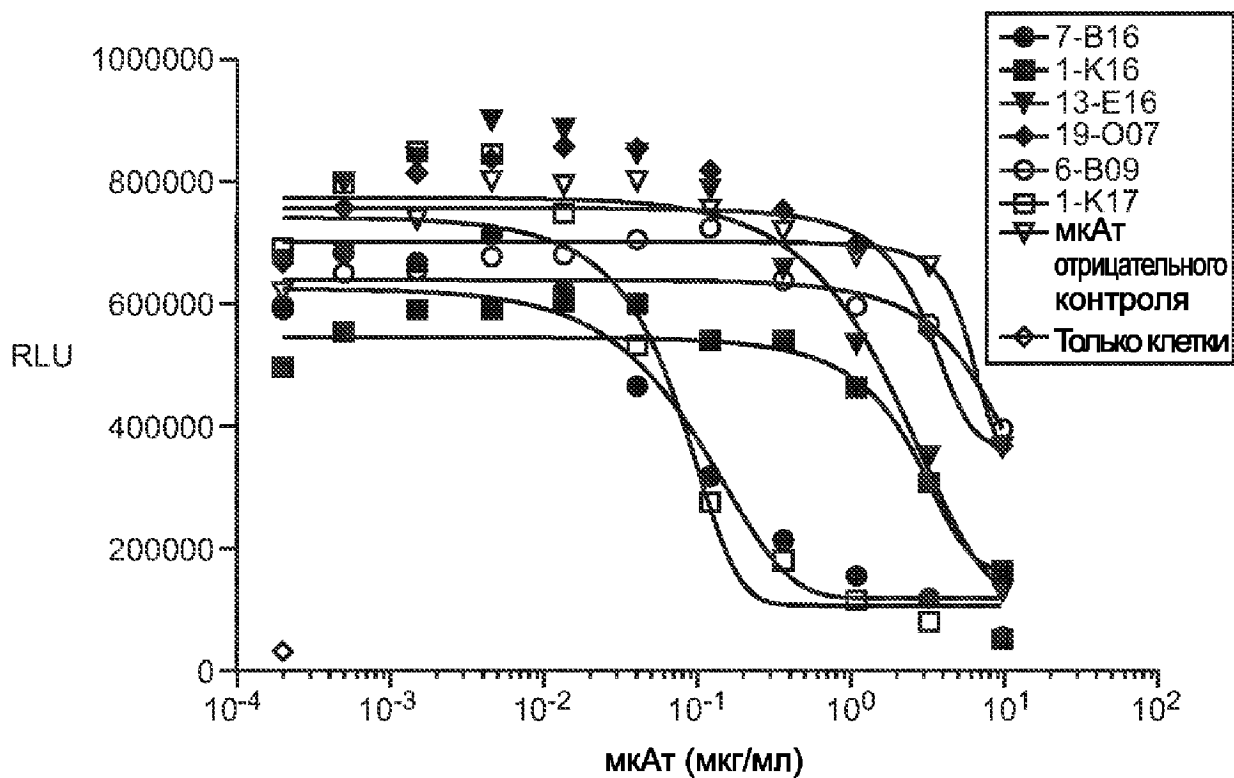
ФИГ. 3В



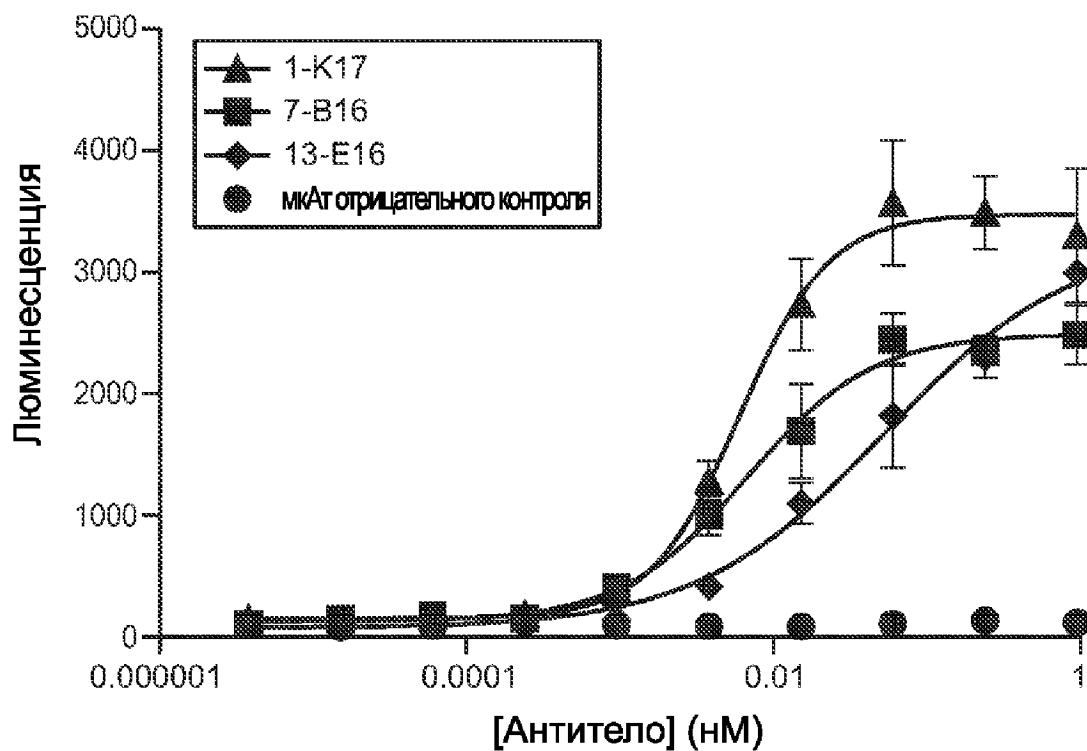
ФИГ. 4А



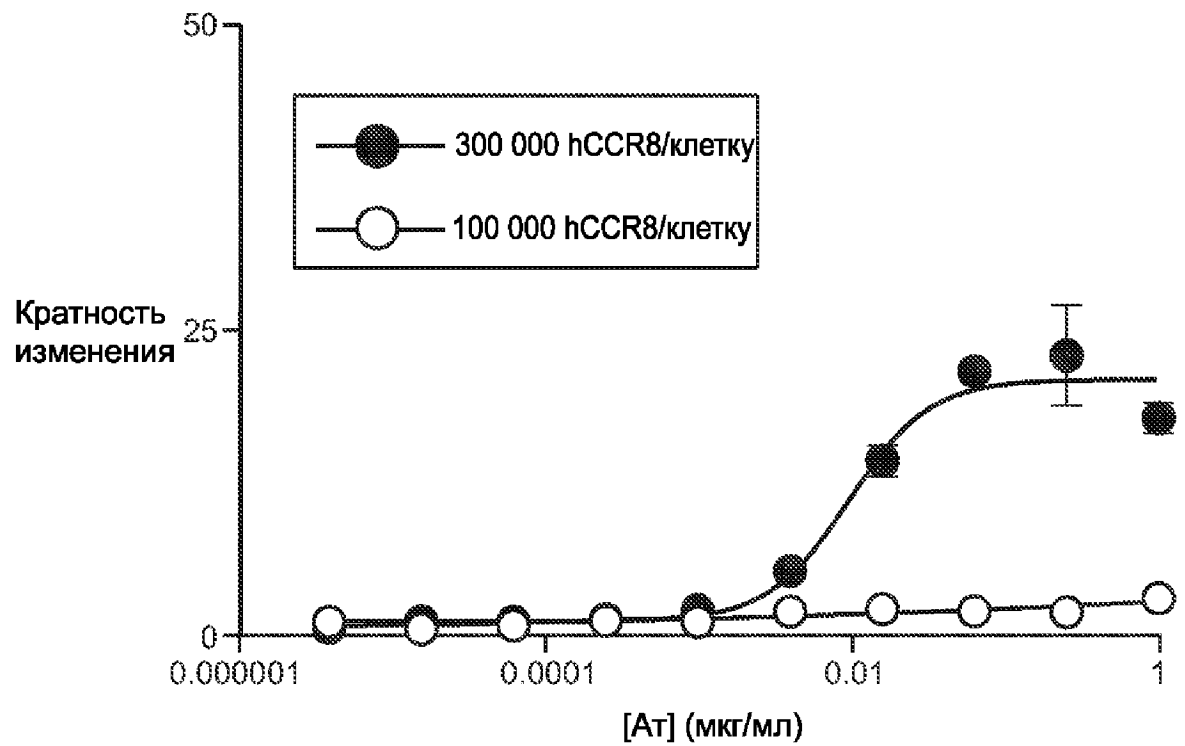
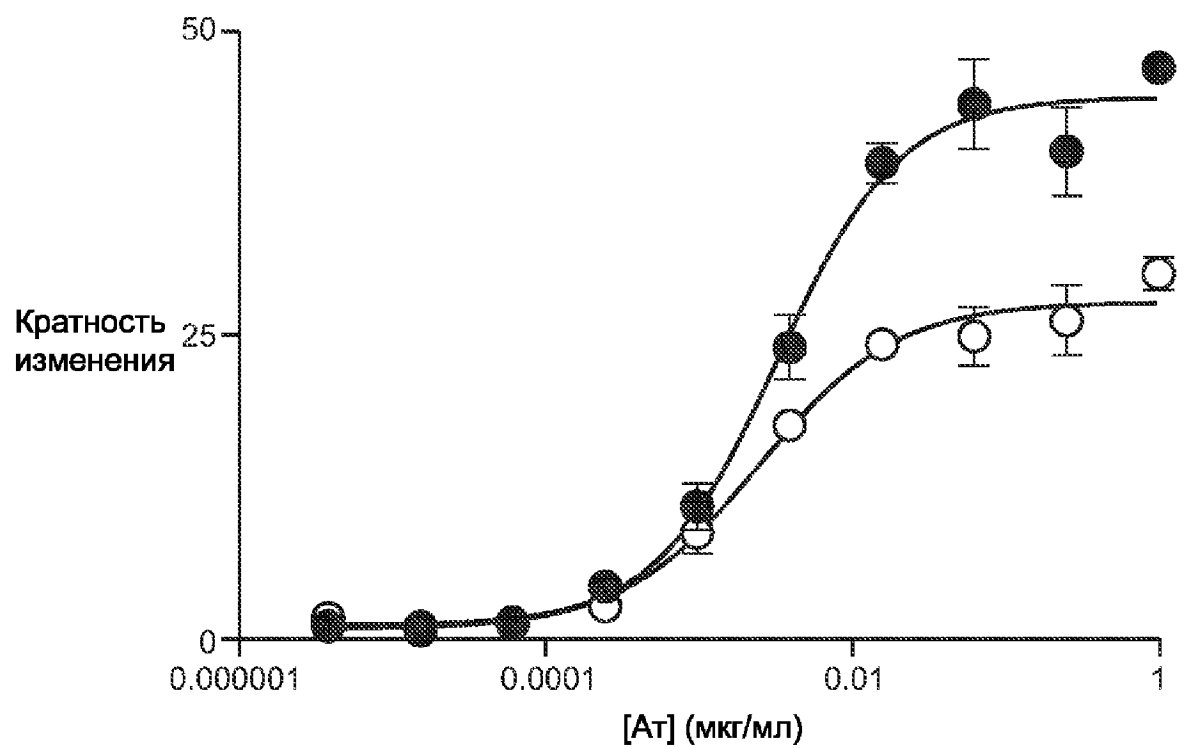
ФИГ. 4В

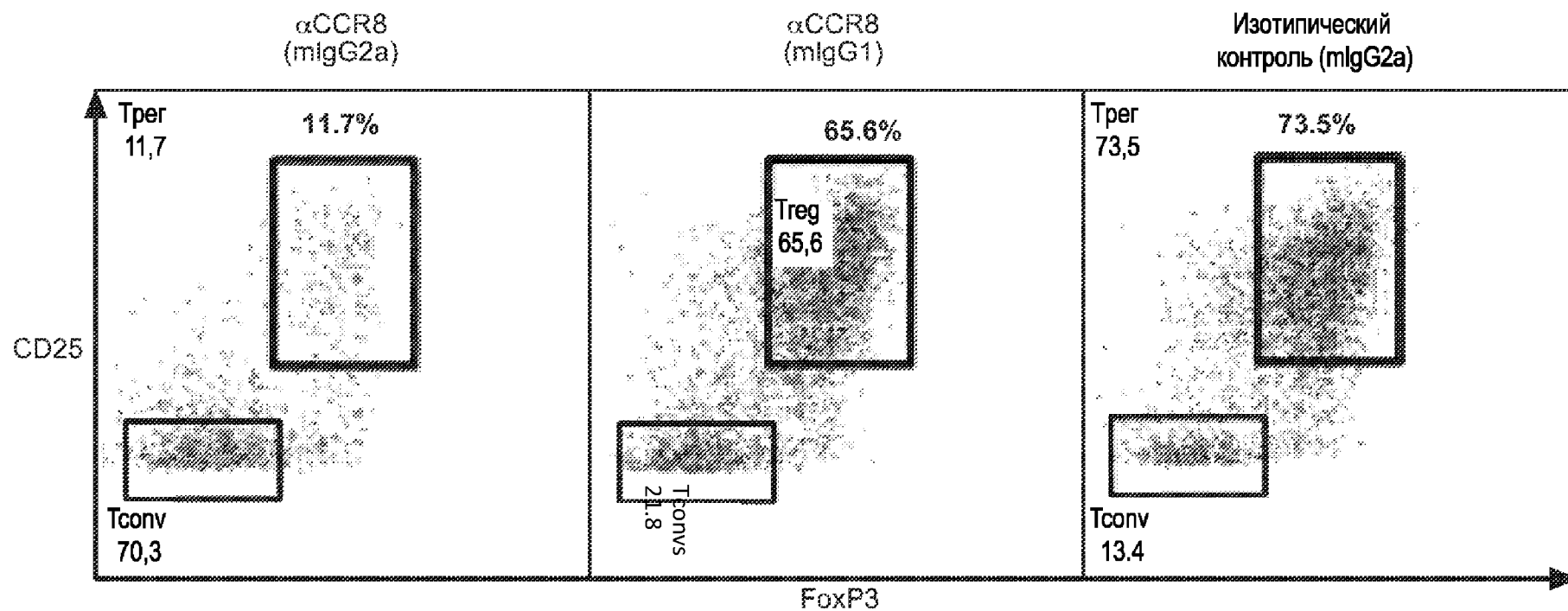


ФИГ. 5

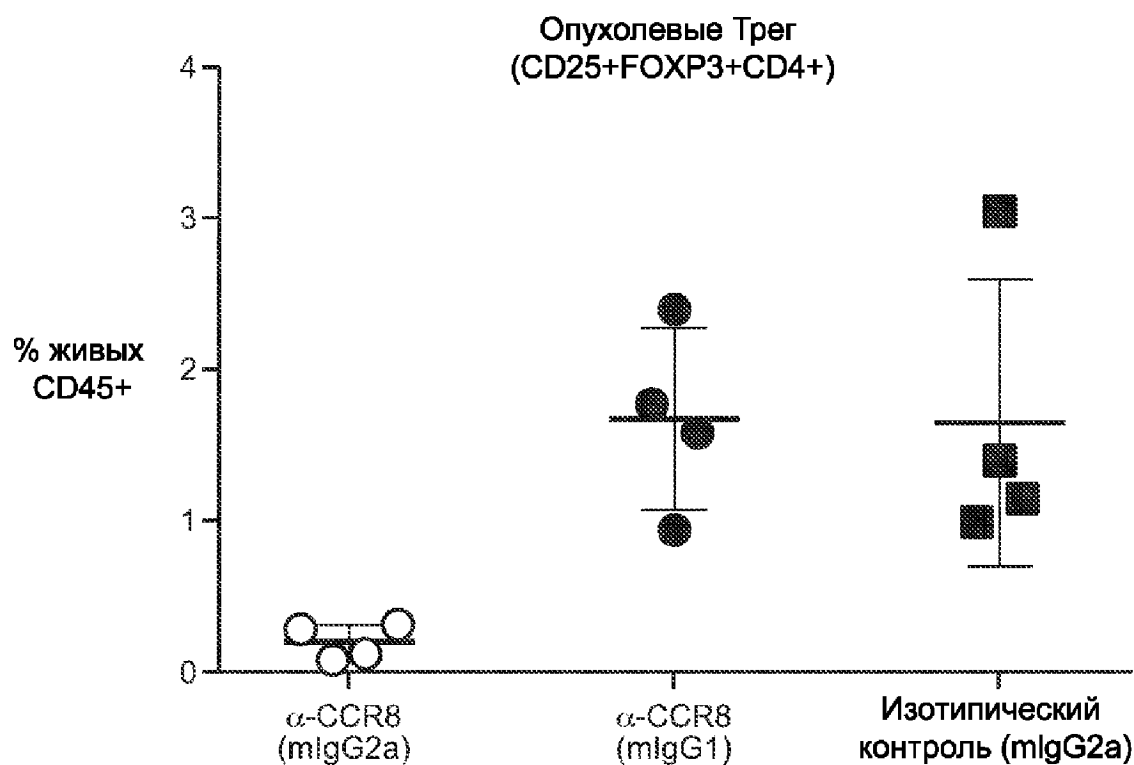
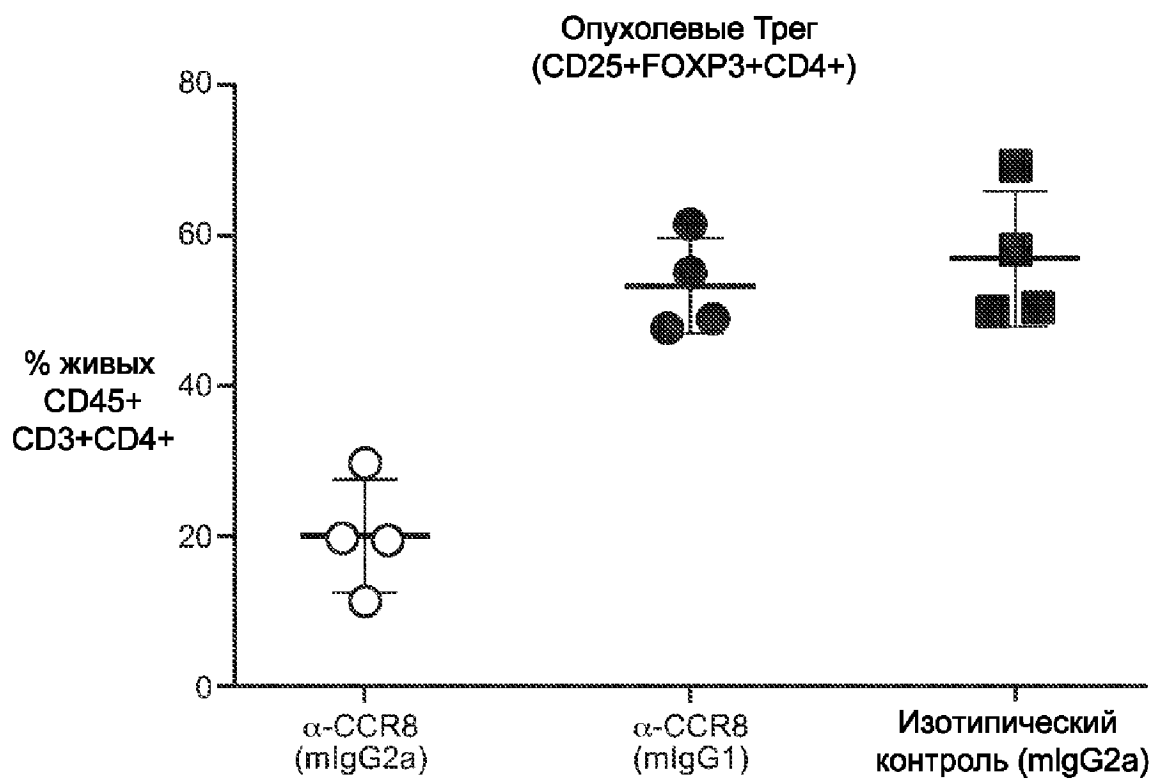


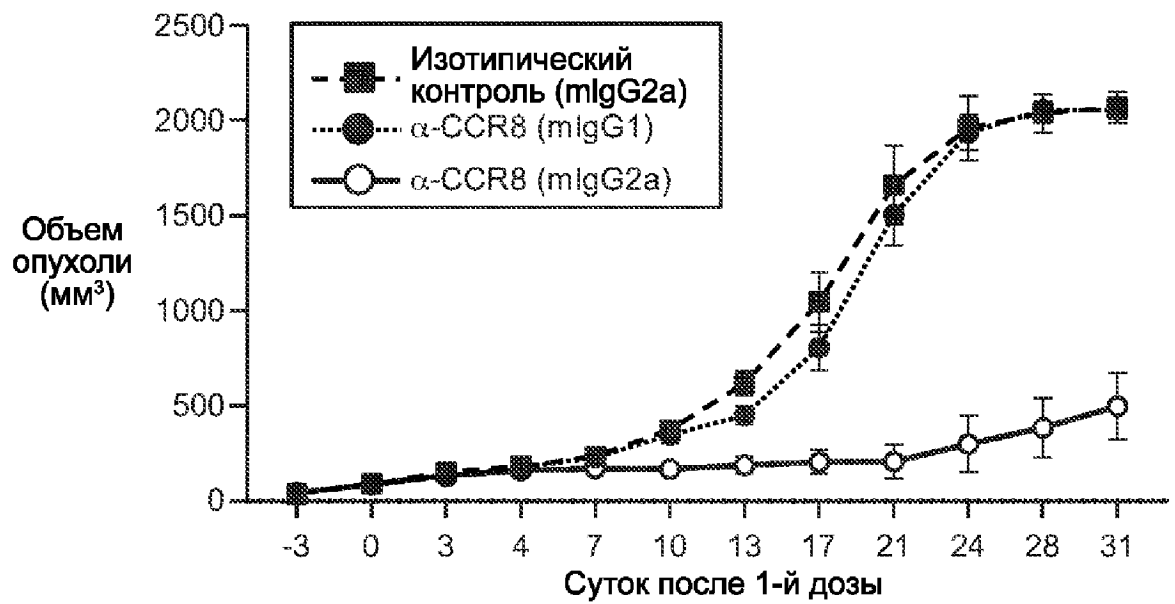
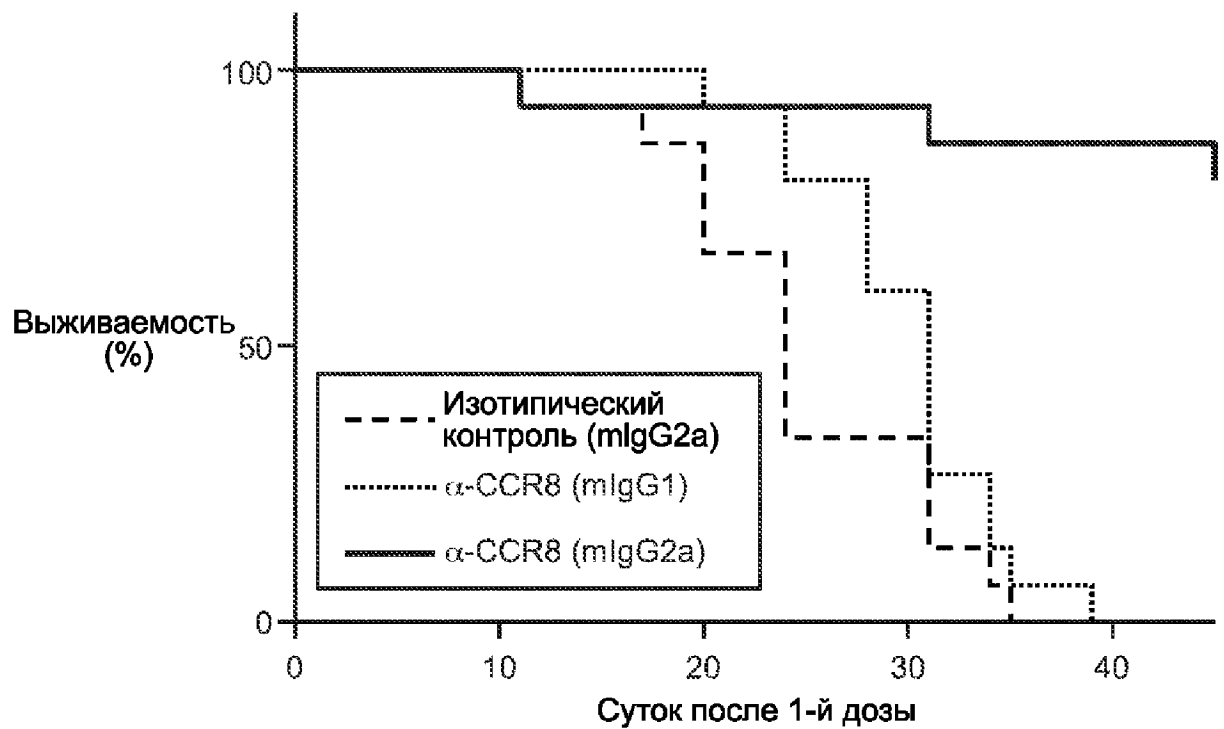
ФИГ. 6

**ФИГ. 7А****ФИГ. 7В**



ФИГ. 8А

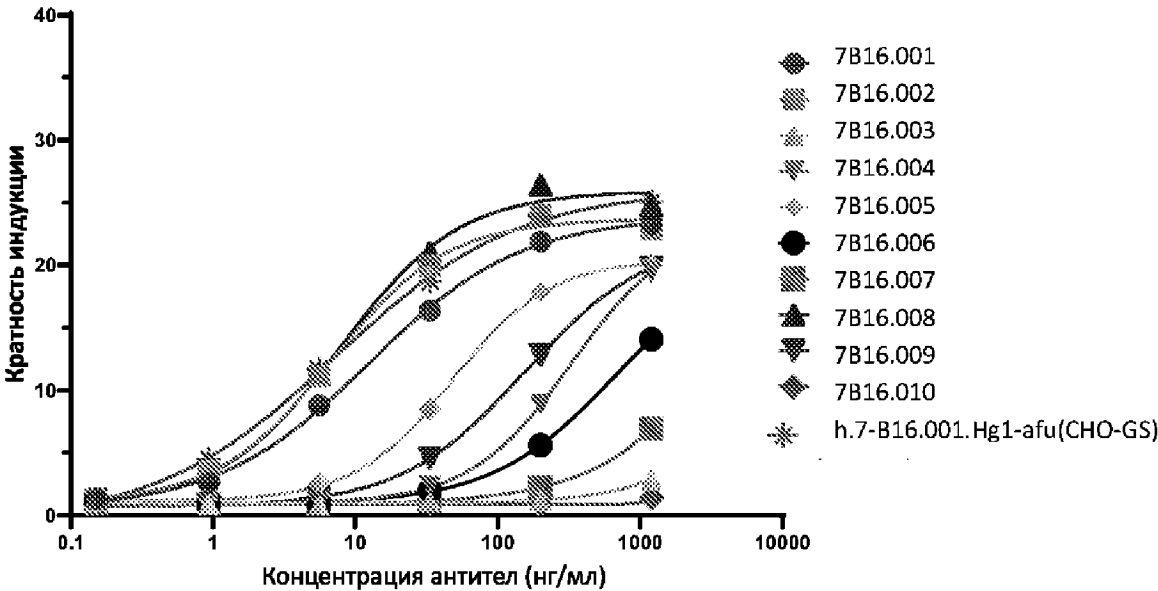
**ФИГ. 8В****ФИГ. 8С**

**ФИГ. 9А****ФИГ. 9В**

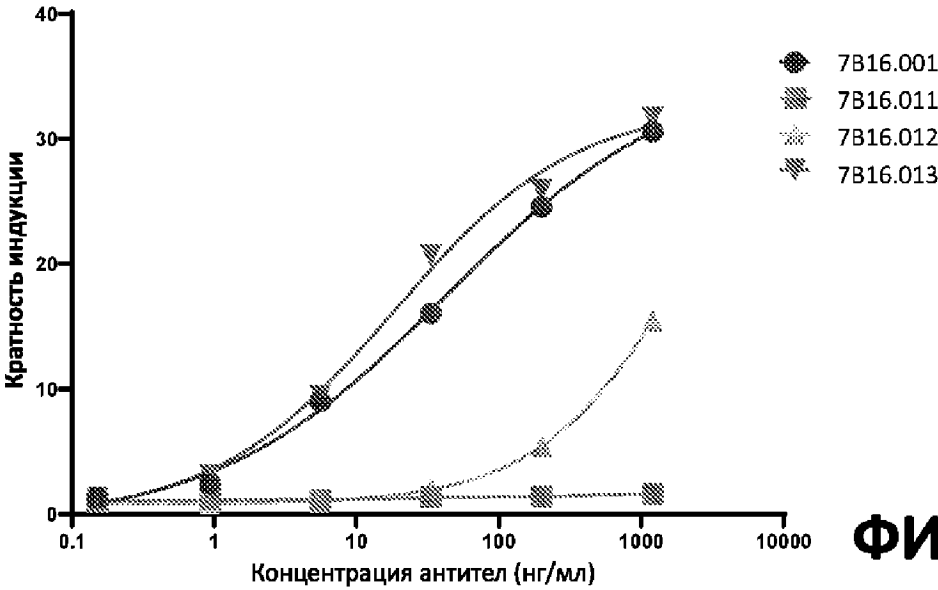
	7B16.001	7B16.002	7B16.003	7B16.004	7B16.005	7B16.006	7B16.007
EC50 (нг/мл)	12.51	6.895	отсутствует соответствия	326.4	48.03	678.2	отсутствует соответствия

	7B16.008	7B16.009	7B16.010	7B16.011	7B16.012	7B16.013	h.7-B16.001.hG1- afu (CHO-GS)
EC50 (нг/мл)	7.795	155.6	отсутствует соответствия	отсутствует соответствия	отсутствует соответствия	18.37	7.333

Планшет ADCC 1



Планшет ADCC 2



ФИГ. 11