(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 045238 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.07

(21) Номер заявки
201891093

(22) Дата подачи заявки
2016.11.01

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА, СПЕЦИФИЧЕСКИ СВЯЗЫВАЮЩИЕ PD-1, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) **62/250,095**
(32) **2015.11.03**
(33) **US**
(43) **2018.10.31**
(86) **PCT/US2016/059833**
(87) **WO 2017/079112 2017.05.11**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Верона Ралука, Пауэрс Гордон, Сейбинз Нина Чи, Диэнджелис Никки А., Сантулли-Маротто Сандра, Вихэджен Карла Р., Ву Шэн-Дзюн, Ферранте Кэтрин, Убани Энрике Зудаире (US)

(74) Представитель:
Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В., Кузнецова Т.В., Соколов Р.А. (RU)

(56) US-A1-20150165025
US-A1-20030096977
US-A1-20140112915
US-A1-20120017292
US-A1-2003040044
US-A1-20030226155
US-A1-20120108795
US-A1-20120114652
US-A1-20050009136
US-A1-20090220485
US-A1-20060222645
US-A1-20140322218
US-A1-20050215770
US-A1-20070048315
US-A1-20040133357
WO-A1-2012061448
US-A1-20100260754
US-A1-20150183874

(57) Изобретение относится к антителам, специфически связывающим PD-1, полинуклеотидам, кодирующим антитела или фрагменты, а также способам получения и применения вышеуказанного.

045238 B1

045238 B1

Перечень последовательностей

Изобретение содержит перечень последовательностей, представленных по сети EFS-Web, все содержание которого полностью включено в настоящий документ путем ссылки. Текстовый файл ASCII, созданный 28 октября 2016 г., назван JBI5071WOPCT_ST25.txt и имеет размер 418 килобайт.

Область применения изобретения

Настоящее изобретение относится к антителам, специфически связывающим PD-1, полинуклеотидам, кодирующим антитела или фрагменты, а также способам получения и применения вышеуказанного.

Предпосылки создания изобретения

Иммунная система жестко контролируется сетью костимуляторных и коингибиторных лигандов и рецепторов. Эти молекулы обеспечивают вторичные сигналы для активации Т-клеток и обеспечивают сбалансированную сеть положительных и отрицательных сигналов для максимизации иммунных ответов против инфекции и опухолей, в то же время ограничивая иммунность против самих себя (Wang et al., (Epub Mar. 7, 2011) J Exp Med 208(3):577-92; Lepenies et al., (2008) Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 8:279-288.

Терапия иммунных контрольных точек, нацеленная на коингибиторные пути в Т-клетках для стимулирования противоопухолевых иммунных ответов, привела к прогрессу в клиническом лечении пациентов с раком.

PD-1 представляет собой молекулу негативной иммунной контрольной точки, которая подавляет функции Т-клеток CD4+ и CD8+ в микросреде опухоли (TME). Связывание PD-1 со своими лигандами (PD-L1 и PD-L2) вызывает инактивацию и истощение Т-клеток в опухолях посредством ингибирования множества путей сигнализации от рецепторов Т-клеток, что приводит к снижению выживаемости, роста и пролиферации Т-клеток, нарушению эффекторной функции и изменению метаболизма. Доклинические исследования продемонстрировали, что блокада пути PD-1 может обращать истощение Т-клеток и стимулировать противоопухолевый иммунитет.

Следовательно, путь PD-1 участвует в понижающей регуляции функций Т-клеток в TME и уклонению опухолей от иммунного разрушения. Истощенные Т-клетки в TME, в дополнение к экспрессии высоких уровней PD-1, экспрессируют и другие ингибиторные рецепторы, включая CTLA-4, TIM-3, LAG-3, CD244, TIGIT и CD160 (см., например, Pauken & Wherry; 2015, Trends in Immunology 36(4):265-276).

TIM-3 представляет собой трансмембранный рецептор, который экспрессируется на Th1-клетках (Т-хелпер 1) CD4+ и цитотоксических Т-клетках CD8+, которые секретируют ИФН-γ. TIM-3 по существу не экспрессируется на наивных Т-клетках, но вместо этого усиливается на активированных эффекторных Т-клетках. TIM-3 играет роль в регуляции иммунитета и толерантности in vivo (см. Hastings et al., (2009) Eur J Immunol 39(9):2492-501).

Антитела к PD-1 были описаны, например, в: патентах США № 5,897,862 и 7,488,802 и в международных патентных публикациях № WO2004/004771, WO2004/056875, WO2006/121168, WO2008/156712, WO2010/029435, WO2010/036959, WO2011/110604, WO2012/145493, WO2014/194302, WO2014/206107, WO2015/036394, WO2015/035606, WO2015/085847, WO2015/112900 и WO2015/112805.

Антитела к TIM-3 были описаны, например, в: Monney et al., Nature (2002) 415 (6871): 536-41 и в международных патентных публикациях № WO2011/155607, WO2013/006490 и WO2015/117002.

Комбинации с антителом к TIM-3 и антителом к PD-L1 оценивали, например, в международной патентной публикации № WO2011/159877.

Хотя антитела к PD-1/PD-L1 демонстрируют обнадеживающие значения клинического ответа у пациентов с множественными солидными опухолями, показатели ответа все еще достаточно низкие и составляют около 15-20% у ранее получавших лечение пациентов (Swaika et al., (2015) Mol Immunol doi: 10.1016/j.molimm.2015.02.009).

Таким образом, существует потребность в новых терапевтических средствах, которые ингибируют иммуносупрессивную активность ингибиторов контрольной точки, таких как PD-1 и TIM-3, для применения в иммунотерапии рака и лечении других заболеваний, которое могло бы быть основано на усилении иммунного ответа, таких как хронические инфекции.

Краткое изложение сущности изобретения

В изобретении предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающееся с PD-1, содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 84 соответственно или с SEQ ID NO: 82, 83 и 85 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающееся с PD-1, содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 84 соответственно и определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающееся с PD-1, содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 85 соответственно и определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающееся

с PD-1, содержащее определенные аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, описанные в настоящем документе.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающееся с PD-1, содержащее определенные аминокислотные последовательности VH и VL, описанные в настоящем документе.

В изобретении также предложен иммуноконъюгат, содержащий антитело или его антигенсвязывающий участок по изобретению, связанный с терапевтическим агентом или визуализирующим агентом.

В изобретении также предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

В изобретении также предложен полинуклеотид, кодирующий VH антитела, VL антитела или VH и VL антитела по изобретению.

В изобретении также предложен вектор, содержащий полинуклеотид, который кодирует VH антитела, VL антитела или VH и VL антитела по изобретению.

В изобретении также предложена клетка-хозяин, содержащая вектор по изобретению.

В изобретении также предложен способ получения антитела по изобретению, включающий культивирование клетки-хозяина по изобретению в условиях экспрессии антитела и выделение антитела, продуцируемого клеткой-хозяином.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий введение требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества выделенного антитела по изобретению в течение времени, достаточного для лечения рака.

В изобретении также предложен способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий введение требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества выделенного антитела по изобретению в течение времени, достаточного для усиления иммунного ответа.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, связывающееся с антителом по изобретению.

В изобретении также предложен набор, содержащий антитело по изобретению.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1A показано, что поверхностная экспрессия TIM-3 в опухолях повышается после обработки антителами к PD-1. Мышей Balb/c с подтвержденными опухолями карциномы толстой кишки CT26 два раза в неделю обрабатывали антителом к PD-1 или носителем. Опухоли собирали в день 22 и оценивали экспрессию TIM-3 на инфильтрированных Т-клетках опухоли с помощью проточной цитометрии. СИФ - средняя интенсивность флуоресценции. PBS контроль.

На фиг. 1B показано, что на инфильтрированных лимфоцитах опухоли (TIL) после обработки антителами к PD-1 повышается поверхностная экспрессия TIM-3. Мышей Balb/c с подтвержденными опухолями карциномы толстой кишки MC38 два раза в неделю обрабатывали антителом к PD-1 или носителем. Средняя геометрическая интенсивность флуоресценции (гСИФ) экспрессии TIM-3 в общей популяции TIL CD8 показана у животных, получавших обработку носителем (PBS), или получавших обработку антителом к PD-1 (PD-1). p=0,003 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1.

На фиг. 1C показана относительная частота клеток TIM-3+ CD8 из всех TIL CD8+ в опухолях MC38, собранных у мышей, получавших обработку носителем (PBS), или получавших обработку антителом к PD-1 (PD-1). p=0,045 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1.

На фиг. 2A показано, что поверхностная экспрессия CD137 (гСИФ) повышена на TIL в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к PD-1 (группа PD-1), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,005 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 2B показано, что относительная частота клеток CD137 CD8+ из всех TIL CD8+ повышается в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к PD-1 (группа PD-1), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,0475 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 3A показано, что поверхностная экспрессия OX40 (гСИФ) повышена на TIL в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к PD-1 (группа PD-1), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,0013 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 3B показано, что относительная частота клеток OX40 CD8+ из всех TIL CD8+ повышается в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к PD-1 (группа PD-1), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,03 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 4A показано, что поверхностная экспрессия GITR (гСИФ) повышена на TIL в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к PD-1 (группа PD-1), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,0004 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 4B показано, что относительная частота клеток GITR CD8+ из всех TIL CD8+ повышается в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к PD-1 (группа PD-1), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,0015 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к PD-1. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 5 показано, что обработка антителами к TIM-3 после введения антител к PD-1 дополнительно индуцирует антиген-специфический иммунный ответ. Антитела испытывали в анализе ЦМВ с применением PBMC от ЦМВ-положительных доноров, у которых были индуцированы антиген-специфические иммунные ответы на пулы пептидов pp65. Клетки обрабатывали в течение 5 дней антителом PD1B244 к PD-1, повторно стимулировали и обрабатывали в течение 24 часов антителом TM3B105 к TIM-3. Иммунный ответ определяли посредством измерения повышений секреции ИФН-γ. Изо-IgG2: IgG2сигма - изотипический контроль. ЦМВ - проба, обработанная пептидами цитомегаловируса p65 в отсутствие антител.

На фиг. 6 показаны последовательности HCDR1 выбранных антител к PD-1 и родовую последовательность HCDR1.

На фиг. 7 показаны последовательности HCDR2 выбранных антител к PD-1 и родовую последовательность HCDR2.

На фиг. 8 показаны последовательности HCDR3 выбранных антител к PD-1 и первая родовая последовательность HCDR3.

На фиг. 9 показаны последовательности HCDR3 выбранных антител к PD-1 и вторая родовая последовательность HCDR3.

На фиг. 10 показаны последовательности LCDR1 выбранных антител к PD-1 и родовая последовательность LCDR1.

На фиг. 11 показаны последовательности LCDR2 выбранных антител к PD-1 и родовая последовательность LCDR2.

На фиг. 12 показаны последовательности LCDR3 выбранных антител к PD-1 и родовая последовательность LCDR3.

На фиг. 13 показаны последовательности HCDR1 выбранных антител к TIM-3 и родовая последовательность HCDR1. Родовую последовательность определяли путем построения молекулярных моделей для всех Fv (пары VH/VL) в MOE (CCG, г. Монреаль, Канада) с помощью протокола по умолчанию для моделирования антител. Для CDR, имеющих разные длины, эти структурные модели были выровнены на основе структурно консервативных областей, и были идентифицированы структурно эквивалентные положения CDR.

На фиг. 14 показаны последовательности HCDR2 выбранных антител к TIM-3 и родовая последовательность HCDR2. Родовую последовательность HCDR2 получали так, как описано для фиг. 10.

На фиг. 15 показаны последовательности HCDR3 выбранных антител к TIM-3 и первая родовая последовательность HCDR3. Родовую последовательность HCDR3 получали так, как описано для фиг. 10.

На фиг. 16 показаны последовательности LCDR1 выбранных антител к TIM-3 и родовая последовательность LCDR1. Родовую последовательность LCDR1 получали так, как описано для фиг. 10.

На фиг. 17 показаны последовательности LCDR2 выбранных антител к TIM-3 и родовая последовательность LCDR2. Родовую последовательность LCDR2 получали так, как описано для фиг. 10.

На фиг. 18 показаны последовательности LCDR3 выбранных антител к TIM-3 и родовую последовательность LCDR3. Родовую последовательность LCDR3 получали так, как описано для фиг. 10.

На фиг. 19A показано, что поверхностная экспрессия TIGIT (гСИФ) повышена на TIL в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к TIM-3 (группа TIM-3), по сравнению с группе, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,0181 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к TIM-3. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 19B показано, что относительная частота клеток TIGIT+ CD8 из всех TIL CD8+ повышается в опухолях карциномы толстой кишки MC38 у животных, получавших обработку антителами к TIM-3 (группа TIM-3), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,0475 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к TIM-3. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 20A показано, что поверхностная экспрессия TIGIT (гСИФ) повышена на TIL в опухолях карциномы толстой кишки CT26 у животных, получавших обработку антителами к TIM-3 (группа TIM-3), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p<0,001 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к TIM-3. Каждая точка представляет одну мышь. Данные

представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 20B показано, что относительная частота клеток TIGIT+ CD8 из всех TIL CD8+ повышается в опухолях карциномы толстой кишки CT26 у животных, получавших обработку антителами к TIM-3 (группа TIM-3), по сравнению с группой, получавшей обработку носителем (PBS). p=0,0105 в сравнении групп, получавших обработку носителем и антителом к TIM-3. Каждая точка представляет одну мышь. Данные представляют по меньшей мере 2 независимых эксперимента.

На фиг. 21 показано усиление экспрессии TIM-3 на периферийных Т-клетках в PBMC пациентов с меланомой после стимуляции ранее не получавших лечения пациентов с меланомой пулами пептидов антигенов меланомы (NY ESO, gp100, MART-1) в присутствии или в отсутствие антител PD-1 или к TIM-3, блокирующих функцию. Экспрессию TIM-3 определяли с помощью проточной цитометрии на повторно стимулированных клетках в день 6.

На фиг. 22A показано, что обработка TM3B403 повышает частоту активированных NK-клеток в PBMC человека, стимулированных IL-2. IgG2s - изотипический контроль. Активацию NK-клеток оценивали как процентную долю (%) клеток, экспрессирующих CD69 в стимулированных PBMC.

На фиг. 22B показано, что обработка TM3B403 повышает частоту активированных NK-клеток в PBMC человека, стимулированных IL-2. IgG2s - изотипический контроль. Активацию NK-клеток оценивали как процентную долю (%) клеток, экспрессирующих CD25 в стимулированных PBMC.

Подробное описание изобретения

Все публикации, включая, без ограничений, патенты и заявки на патенты, цитируемые в настоящем описании, включены в настоящий документ путем ссылки так, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

Следует понимать, что применяемые в настоящем документе термины предназначены только для цели описания конкретных вариантов осуществления и не имеют ограничительного характера. Все применяемые в настоящем документе технические и научные термины, если не указано иное, имеют общепринятое значение, понятное обычному специалисту в области, к которой относится изобретение.

В настоящем документе описаны примеры материалов и способов, хотя при практическом осуществлении для проверки настоящего изобретения могут применяться любые способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в настоящем документе. При описании и изложении формулы настоящего изобретения будут применяться следующие термины.

В настоящем описании и приложенной формуле изобретения формы единственного числа включают обозначения множественного числа, если из содержания текста четко не следует иное. Так, например, ссылка на "клетку" включает в себя комбинацию двух или более клеток и т. п.

Термины "специфическое связывание", или "специфически связывает", или "связывает" относятся к связыванию антитела с антигеном или эпитопом в пределах антигена с большей аффинностью, чем с другими антигенами. Как правило, антитело связывается с антигеном или эпитопом в пределах антигена с равновесной константой диссоциации (KD) около 1×10-8 M или менее, например, около 1×10-9 M или менее, около 1×10-10 M или менее, около 1×10-11 M или менее или около 1×10-12 M или менее, как правило, с KD, которая по меньшей мере в сто раз ниже его KD связывания с неспецифическим антигеном (например, БСА, казеином). Константу диссоциации можно измерять с помощью стандартных процедур. Однако антитела, которые специфически связываются с антигеном или эпитопом в пределах антигена, могут иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами, например, с таким же антигеном других биологических видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например, Macaca fascicularis (яванский макак, макак), Pan troglodytes (шимпанзе) или Callithrix jacchus (обыкновенная игрунка, игрунка). Моноспецифическое антитело специфически связывает один антиген или один эпитоп, а биспецифическое антитело специфически связывает два разных антигена или два разных эпитопа.

Термин "антитела" подразумевается в широком значении и включает в себя молекулы иммуноглобулинов, включая моноклональные антитела, в том числе мышиные, человеческие, гуманизированные и химерные моноклональные антитела, антигенсвязывающие фрагменты, биспецифические или мультиспецифические антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела, одноцепочечные антитела, доменные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит антигенсвязывающий сайт требуемой специфичности. "Полноразмерные антитела" состоят из двух тяжелых (H) цепей и двух легких (L) цепей, взаимно соединенных дисульфидными связями, а также из их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи (состоящей из доменов CH1, шарнирной области CH2 и CH3). Каждая легкая цепь состоит из вариабельной области легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи (CL). Области VH и VL можно дополнительно подразделить на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), между которыми расположены каркасные области (FR). Каждая область VH и VL состоит из трех CDR и четырех сегментов FR, размещенных в направлении от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

"Области, определяющие комплементарность (CDR)" представляют собой "антигенсвязывающие

сайты" в антителе. CDR можно определять с помощью различных терминов: (i) Области, определяющие комплементарность (CDR), три в VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три в VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), основаны на вариабельности последовательности (Wu and Kabat (1970) J Exp Med 132:211-50; Kabat et al Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991). (ii) Термин "гипервариабельные области", "HVR" или "HV", три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3), относится к областям вариабельных доменов антитела, которые являются гипервариабельными по структуре согласно определению Chothia and Lesk (Chothia and Lesk (1987) Mol Biol 196:901-17). В международной базе данных ImMunoGeneTics (IMGT) (http://www_imgt_org) представлены стандартизированная нумерация и определение антигенсвязывающих сайтов. Соответствие между определениями CDR, HV и IMGT описано в публикации Lefranc et al., (2003) Dev Comparat Immunol 27:55-77. Термины "CDR", "HCDR1", "HCDR2", "HCDR3", "LCDR1", "LCDR2" и "LCDR3" в настоящем документе включают в себя CDR, определенные любым из способов, описанных выше, по Kabat, Chothia или IMGT, если в описании явным образом не указано иное.

В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи иммуноглобулины могут относиться к пяти основным классам - IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов можно отнести к одному из двух четко отличающихся типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ).

Термины "фрагменты антигена" или "антигенсвязывающий участок" относятся к части молекулы иммуноглобулина, которая сохраняет антигенсвязывающие свойства исходного полноразмерного антитела. Примерами антигенсвязывающих участков являются определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1, 2 и 3, определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1, 2 и 3, вариабельная область тяжелой цепи (VH), вариабельная область легкой цепи (VL), фрагменты Fab, F(ab')2, Fd и Fv, а также доменные антитела (dAb), состоящие из одного домена либо VH, либо VL. Домены VH и VL могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL могут объединяться в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельными одноцепочечными конструктами антител с образованием моновалентного антигенсвязывающего сайта, такими как одноцепочечный Fv (scFv) или диатело; они описаны, например, в международных патентных публикациях № WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 и WO1992/01047.

Термин "моноклональное антитело" относится к популяции антител с одинаковым аминокислотным составом в каждой тяжелой и каждой легкой цепи за исключением возможных известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела. Моноклональные антитела, как правило, связываются с одним антигенным эпитопом за исключением мультиспецифических моноклональных антител, которые связываются с двумя или более разными антигенами или эпитопами. Биспецифические моноклональные антитела связываются с двумя разными антигенными эпитопами. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональные антитела могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими, а также моновалентными, двухвалентными или мультивалентными. Термин "моноклональное антитело", такое как биспецифическое антитело или триспецифическое антитело, включен в понятие мультиспецифического антитела.

Термин "выделенное антитело" относится к антителу или фрагменту антитела, которое по существу не содержит других антител, имеющих другие значения антигенной специфичности (например, выделенное антитело, специфически связывающее PD-1, по существу не содержит антител, специфически связывающих антигены, отличные от PD-1). Выделенное антитело, специфически связывающее TIM-3, по существу не содержит антител, специфически связывающих антигены, отличные от TIM-3. В случае биспецифических антител PD-1/TIM-3 биспецифическое антитело специфически связывает как PD-1, так и TIM-3 и по существу не содержит антител, специфически связывающих антигены, отличные от PD-1 и TIM-3. Термин "выделенное антитело" охватывает антитела, выделенные так, что они имеют более высокую степень чистоты, такие как антитела, являющиеся чистыми на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%.

Термин "гуманизированные антитела" относится к антителам, в которых по меньшей мере один CDR получен из биологического вида, отличного от человека, а каркасы вариабельной области получены из последовательностей человеческого иммуноглобулина. Гуманизированные антитела могут включать в себя намеренно встроенные мутации в каркасных областях, так что каркас может не быть точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или последовательностей генов зародышевой линии.

Термин "человеческое антитело" относится к антителу, имеющему вариабельные области тяжелой и легкой цепей, в которых как каркасные области, так и все 6 CDR получены из последовательностей человеческого происхождения. Если антитело содержит константную область или часть константной области, то константная область также получена из последовательностей человеческого происхождения.

Человеческое антитело содержит вариабельные области тяжелой или легкой цепи, которые "полу-

чены из" последовательностей человеческого происхождения, если вариабельные области антитела получены из системы, в которой применяется человеческий иммуноглобулин зародышевого типа или перестроенные гены иммуноглобулина. Такими примерами систем являются библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, отображаемые на фаге, и трансгенные животные, отличные от человека, такие как мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов, как описано в настоящем документе. "Человеческое антитело" может содержать аминокислотные отличия по сравнению с иммуноглобулином зародышевой линии человека или перестроенными генами иммуноглобулинов, обусловленные, например, встречающимися в естественных условиях соматическими мутациями или намеренным встраиванием замен в каркас или антигенсвязывающий сайт, или оба варианта. Как правило, "человеческое антитело" по аминокислотной последовательности по меньшей мере на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой генами иммуноглобулина человеческой зародышевой линии или перестроенными генами иммуноглобулина. В некоторых случаях "человеческое антитело" может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализов каркасных последовательностей человека, например, как описано в Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57-86, или синтетическую HCDR3, включенную в библиотеки генов иммуноглобулинов человека, отображаемых на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385-96 и международной патентной публикации № WO2009/085462.

Человеческие антитела, полученные из последовательностей иммуноглобулинов человека, могут быть получены с помощью таких систем, как фаговый дисплей, включая синтетические CDR и/или синтетические каркасы, или могут быть подвергнуты мутагенезу in vitro для улучшения свойств антитела, что позволяет получать антитела, не экспрессирующиеся зародышевой линией человека in vivo .

Термин "рекомбинантный" относится к антителам и другим белкам, которые приготовлены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными средствами.

Термин "эпитоп" относится к части антигена, с которым специфически связывается антитело. Как правило, эпитопы состоят из химически активных (таких как полярные, неполярные или гидрофобные) поверхностных группировок фрагментов, таких как боковые цепи аминокислот или полисахаридов, и могут иметь конкретные характеристики трехмерной структуры, а также конкретные характеристики заряда. Эпитоп может состоять из непрерывных и/или прерывистых аминокислот, образующих конформационное пространственное звено. В случае прерывистого эпитопа аминокислоты из разных участков линейной последовательности антигена подходят близко друг к другу в трехмерном пространстве за счет сворачивания молекулы белка. "Эпитоп" антитела зависит от методологии, применяемой для выявления эпитопа.

Термин "мультиспецифический" относится к антителу, которое специфически связывает по меньшей мере два разных антигена или два разных эпитопа в пределах антигенов, например, три, четыре или пять разных антигенов или эпитопов.

Термин "биспецифический" относится к антителу, которое специфически связывает два разных антигена или два разных эпитопа в пределах одного антигена. Биспецифическое антитело может иметь перекрестную реактивность с другими родственными антигенами, например, таким же антигеном от других видов (гомологов), таких как человек или обезьяна, например, Macaca fascicularis (яванский макак, крабоед), Pan troglodytes (шимпанзе), Callithrix jacchus (игрунка обыкновенная, мармозет), или может связывать эпитоп, который имеется в двух или более разных антигенах.

Термин "вариант" относится к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или эталонного полинуклеотида одной или более модификациями, например, заменами, вставками или делециями.

Термин "вектор" относится к полинуклеотиду, который способен к удвоению внутри биологической системы или который может быть перемещен между такими системами. Полинуклеотиды-векторы, как правило, содержат элементы, такие как точки начала репликации, сигнал полиаденилирования или селективные маркеры, функция которых заключается в том, чтобы способствовать удвоению или сохранению этих полинуклеотидов в биологической системе. Примеры таких биологических систем могут включать в себя клетку, вирус, животное, растение и реконструированные биологические системы, в которых используются биологические компоненты, способные к удвоению вектора. Содержащий вектор полинуклеотид может представлять собой молекулы ДНК или РНК или их гибрид.

Термин "экспрессионный вектор" относится к вектору, который можно использовать в биологической системе или в реконструированной биологической системе для направления трансляции полипептида, кодируемого полинуклеотидной последовательностью, присутствующей в экспрессионном векторе.

Термин "полинуклеотид" относится к синтетической молекуле, содержащей цепь нуклеотидов, ковалентно связанных через сахарофосфатную основную цепь или другую эквивалентную ковалентную химическую структуру. кДНК является типичным примером полинуклеотида.

Термины "полипептид" или "белок" относятся к молекуле, которая содержит по меньшей мере два аминокислотных остатка, связанных пептидной связью с образованием полипептида. Малые полипептиды, содержащие менее 50 аминокислот, могут называться "пептидами".

PD-1 относится к человеческому белку 1 запрограммированной гибели клеток (PD-1). PD-1 также известен как CD279 или PDCD1. Аминокислотная последовательность зрелого человеческого PD-1 (без сигнальной последовательности) показана в последовательности SEQ ID NO: 1. Внеклеточный домен охватывает остатки 1-150, трансмембранный домен охватывает остатки 151-171, а цитоплазматический домен охватывает остатки 172-268 в последовательности SEQ ID NO: 1. В тексте описания "внеклеточный домен человеческого PD-1 huPD1-ECD" относится к белку, имеющему аминокислотную последовательность из остатков 1-149 в последовательности SEQ ID NO: 1 и показанному в последовательности SEQ ID NO: 2. "PD-1" в описании относится к зрелому человеческому PD-1, если явно не указано иное.

TIM-3 относится к клеточному рецептору 2 вируса гепатита А человека, также называемому HAVCR2. Аминокислотная последовательность зрелого человеческого TIM-3 (без сигнальной последовательности) показана в последовательности SEQ ID NO: 138. Внеклеточный домен охватывает остатки 1-181, трансмембранный домен охватывает остатки 182-202, а цитоплазматический домен охватывает остатки 203-280 в последовательности SEQ ID NO: 138. В тексте описания "внеклеточный домен человеческого TIM-3 huTIM-3-ECD" относится к белку, имеющему аминокислотную последовательность из остатков 1-179 в последовательности SEQ ID NO: 138 и показанному в последовательности SEQ ID NO: 89. "TIM-3" в описании относится к зрелому человеческому TIM-3, если явно не указано иное.

Термин "в комбинации с" означает, что два или более терапевтических средства вместе вводят субъекту в смеси, одновременно в виде отдельных агентов или последовательно в виде отдельных агентов в любом порядке.

Термины "сверхэкспрессировать", "сверхэкспрессированный" и "сверхэкспрессия" применяются взаимозаменяемо и относятся к пробе, такой как раковая клетка, злокачественная клетка или раковая ткань, которая имеет измеримо более высокие уровни PD-1, TIM-3, PD-L1, PD-L2 или лиганда TIM-3 по сравнению с эталонной пробой. Сверхэкспрессия может быть вызвана амплификацией генов или повышенной транскрипцией или трансляцией. Экспрессию и сверхэкспрессию белка в пробе можно измерять с помощью известных анализов, например, твердофазного ИФА, иммунофлуоресценции, проточной цитометрии или радиоиммунного анализа на живых или лизированных клетках. Экспрессию и сверхэкспрессию полинуклеотида в пробе можно измерять, например, с помощью флуоресцентной гибридизации in situ, саузерн-блоттинга или методик ПЦР. Белок или полинуклеотид сверхэкспрессирован, когда уровень белка или полинуклеотида в пробе по меньшей мере в 1,5 раза выше или статистически значим по сравнению с эталонной пробой. Методика выбора эталонной пробы известна.

Термин "проба" относится к сбору аналогичных текучих сред, клеток или тканей, выделенных из организма субъекта, а также к текучим средам, клеткам или тканям, находящимся внутри субъекта. Примерами проб являются биологические текучие среды, такие как кровь, сыворотка и серозные текучие среды, плазма, лимфа, моча, слюна, кистозная текучая среда, слезы, кал, мокрота, слизистые выделения секреторных тканей и органов, влагалищные выделения, асцитные жидкости, такие как связанные с несолидными опухолями, текучие среды в плевре, перикарде, брюшине, брюшной и других полостях тела, текучие среды, собранные посредством смыва из бронхов, жидкие растворы, контактировавшие с субъектом или биологическим источником, например, среда для культуры клеток и органов, включая кондиционированную среду клеток и органов, промывные жидкости и т. п., биоптаты тканей, аспираты, взятый тонкой иглой, или ткань опухоли после хирургической резекции.

Термин "раковая клетка" или "опухолевая клетка" относится к раковой, предраковой или трансформированной клетке, in vivo, ex vivo или в культуре тканей, которая имеет спонтанные или индуцированные фенотипические изменения. Эти изменения не обязательно затрагивают поступление нового генетического материала. Хотя трансформация может быть вызвана инфекцией трансформирующим вирусом и встраиванием новой геномной нуклеиновой кислоты, поглощением экзогенной нуклеиновой кислоты или она также может возникать спонтанно или после воздействия канцерогена, в результате чего происходит мутация эндогенного гена. Трансформация/рак проявляются в морфологических изменениях, иммортализации клеток, нарушении контроля роста, образовании очагов, пролиферации, злокачественности, модулировании уровней маркера, специфичных для опухоли, инвазивности, росте опухоли у приемлемых животных-хозяев, таких как бестимусные мыши и т. п., in vitro, in vivo и ex vivo (Freshney, Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique (3rd ed. 1994)).

Термин "около" означает "в пределах приемлемого диапазона ошибки" для конкретного значения, определенного обычным специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом было измерено или определено значение, т.е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах описания в контексте конкретного анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин "около" означает "в пределах одного стандартного отклонения" в соответствии с практикой, принятой в данной области, или "в диапазоне до 5%", в зависимости от того, что больше.

Термины "биспецифическое антитело PD-1/TIM-3", "антитело PD-1/TIM-3", "биспецифическое антитело к PD-1/TIM-3" или "антитело к PD-1/TIM-3" относятся к молекуле, содержащей по меньшей мере один связывающий домен, специфически связывающий PD-1, и по меньшей мере один связывающий домен, специфически связывающий TIM-3. Домены, специфически связывающие PD-1 и TIM-3, обычно

представляют собой пары VH/VL. Биспецифическое антитело к PD-1 или TIM-3 может быть моновалентным с точки зрения его связывания с PD-1 или TIM-3.

Термин "валентный" относится к наличию в молекуле установленного числа сайтов связывания, специфичных для антигена. Таким образом, термины "моновалентный", "двухвалентный", "четырехвалентный" и "шестивалентный" относятся к наличию в молекуле одного, двух, четырех и шести сайтов связывания соответственно, специфичных для антигена.

Термин "специфическая к антигену Т-клетка CD4+ или CD8+" относится к Т-клетке CD4+ или CD8+, активированной специфическим антигеном или его иммуностимуляторным эпитопом.

Термин "CD137" (также называемый членом 9 надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли - TNFRSF9, 4-1BBL) относится к молекуле CD137 человека, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в последовательности SEQ ID NO: 281.

SEQ ID NO: 281

MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQ
RTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFG
TFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQI
ISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG
GCEL

Термин "TIGIT" (также называемый иммунорецептором Т-клеток с доменами Ig и ITIM) относится к молекуле TIGIT человека, имеющей аминокислотную последовательность, показанную в последовательности SEQ ID NO: 301.

SEQ ID NO: 301

MMTGTIETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNWEQQDQLLAICNADLGWHISPS
FKDRVAPGPGLGLTLQSLTVNDTGEYFCIYHTYPDGTYTGRIFLEVLESSVAEHGARFQIPLLG
AMAATLVVICTAVIVVVALTRKKKALRIHSVEGDLRRKSAGQEEWSPSAPSPPGSCVQAEAAPA
GLCGEQRGEDCAELHDYFNVLSYRSLGNCSFFTETG

Термин "агонист" относится к молекуле, которая при связывании с клеточным белком индуцирует по меньшей мере одну реакцию или тип активности, индуцируемые естественным лигандом белка. Молекула является агонистом, если происходит индукция в по меньшей мере одной реакции или типе активности на по меньшей мере около 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% больше, чем в по меньшей мере одной реакции или типе активности в отсутствие агониста (например, отрицательный контроль), или когда индукция статистически значима по сравнению с индукцией в отсутствие агониста. Агонист может представлять собой антитело, растворимый лиганд или малую молекулу. Примером агониста является антитело-агонист, которое специфически связывает активирующую Т-клетки молекулу.

Термин "антагонист" относится к молекуле, которая при связывании с клеточным белком подавляет по меньшей мере одну реакцию или тип активности, индуцируемые естественным лигандом белка. Молекула является антагонистом, если происходит подавление по меньшей мере одной реакции или типа активности на по меньшей мере около 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% по сравнению с подавлением по меньшей мере одной реакции или типа активности в отсутствие антагониста (например, отрицательный контроль) или когда подавление является статистически значимым по сравнению с подавлением в отсутствие антагониста. Антагонистом может быть антитело, растворимый лиганд, малая молекула, ДНК или РНК, такая как миРНК. Примерами антагонистов являются антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 или антитело-антагонист, специфически связывающее ингибирующую Т-клетки молекулу. Типичную реакцию или тип активности, который индуцируется связыванием PD-1 со своим рецептором PD-L1 или PD-L2, может представлять собой снижение пролиферации антигенспецифических клеток CD4+ или CD8+ или снижение продукции интерферона-γ (ИФН-γ) Т-клетками, что приводит к подавлению иммунных ответов против, например, опухоли. Типичная реакция или тип активности, которые индуцируются, например, связыванием TIM-3 со своим рецептором, таким как галектин-9, может представлять собой снижение пролиферации антигенспецифических клеток CD4+ или CD8+, снижение продукции ИФН-γ Т-клетками или снижение поверхностной экспрессии CD137 на клетках CD4+ или CD8+, что приводит к подавлению иммунных ответов против, например, опухоли. Аналогичным образом типичная реакция или тип активности, которые индуцированы молекулой, ингибирующей Т-клетки, представляет собой иммуносупрессию. Таким образом, антитело-антагонист PD-1, специфически связывающее PD-1, антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 или антитело-антагонист, специфически связывающее ингибирующую Т-клетки молекулу, индуцирует иммунные ответы посредством ингибирования ингибиторных путей.

Термин "субъект" включает в себя любого человека или не относящегося к человеку животного.

Термин "не относящееся к человеку животное" включает в себя всех позвоночных, например, млекопитающих и не млекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, цыплята, амфибии, рептилии и т. д. Если не указано иное, термины "пациент" или "субъект" применяются взаимозаменяемо.

Нумерация аминокислотных остатков в константной области антитела в тексте описания приведена в соответствии с каталогом EC, как описано в публикации Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991), если явно не указано иное.

В настоящем документе применяются традиционные одно- и трехбуквенные коды обозначения аминокислот, как показано в табл. 1.

Таблица 1

Аминокислота	Трехбуквенный код	Однобуквенный код
Аланин	Ala	A
Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N
Аспартат	Asp	D
Цистеин	Cys	C
Глутамат	Gln	E
Глутамин	Glu	Q
Глицин	Gly	G
Гистидин	His	H
Изолейцин	Ile	I
Лизин	Lys	K
Метионин	Met	M
Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P
Серин	Ser	S
Треонин	Thr	T
Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y
Валин	Val	V

Композиции настоящего изобретения.

В настоящем изобретении предложены антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, и биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3. В настоящем изобретении предложены полипептиды и полинуклеотиды, кодирующие антитела по изобретению, или комплементарные к ним нуклеиновые кислоты, векторы, клетки-хозяева и способы их получения и применения.

Антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1.

PD-1 после взаимодействия с лигандом подавляет функции Т-клеток за счет множества механизмов (Pauken & Wherry (2015) Trends in Immunology 36(4):265-276). Взаимодействие с PD-1 непосредственно ингибирует сигнализацию рецептора Т-клеток (TCR) посредством совмещения с TCR и последующей индукции дефосфорилирования проксимальных сигнальных молекул TCR, ингибирования пути Ras/MEK/ERK, ведущего к ингибированию продвижения клеточного цикла и пролиферации Т-клеток, ингибированию роста и выживания клеток и перепрограммированию метаболизма Т-клеток за счет подавления пути PI3K/AKT, ведущего к усилению фактора транскрипции BATF и модуляции развития, поддержания и функции регуляторных Т-клеток. Также было выдвинуто предположение, что PD-1 повышает подвижность Т-клеток и ограничивает длительность взаимодействия между Т-клетками и клетками-мишенями, снижая таким образом степень активации Т-клеток (Honda et al., (2014) Immunity 40(2):235-47).

Опухоли встраивались в сигнальный путь PD-1 для понижающей регуляции функции Т-клеток в микросреде опухоли (TME) и во избежание иммунного разрушения. В условиях устойчивого антигена и воспаления в TME Т-клетки становятся истощенными или нефункциональными и постепенно теряют свою эффекторную функцию и способность к пролиферации. Истощенные Т-клетки экспрессируют высокие уровни PD-1, зачастую вместе с другими ингибиторными рецепторами, такими как TIM-3 или LAG-3 (Pauken & Wherry (2015) Trends in Immunology 36(4):265-276). Один из лигандов PD-1 -PD-L1 - в

различных опухолях также усиливается. Экспрессия PD-L1 происходит на самих раковых клетках и/или инфильтрированных иммунных клетках, включая связанные с опухолью макрофаги, дендритные клетки, фибробласты и активированные Т-клетки (Chen et al., 2012 Clin Cancer Res 18(24):6580-7). В таких условиях предполагается, что взаимодействие с PD-1 ограничивает противоопухолевые ответы Т-клеток и ведет к уклонению от иммунитета. Недавние исследования показали, что более высокая частота и уровень экспрессии PD-1 наблюдаются на инфильтрированных лимфоцитах опухоли (TIL) во множественных солидных опухолей. Важно, что эти TIL PD-1+ функционально повреждены, о чем свидетельствует снижение пролиферативных и эффекторных функций (Pauken & Wherry; 2015, Trends in Immunology 36(4):265-276). Эти данные подтверждают гипотезу о том, что PD-1 опосредует иммуносупрессию в TME.

Истощение Т-клеток в опухолях по меньшей мере частично обращается посредством блокады пути PD-1. Как было показано в ряде доклинических моделей опухолей, антитела к PD-1/PD-L1 усиливают функцию Т-клеток и приводят к улучшению противоопухолевого иммунитета. Антитела PD-1/PD-L1 также продемонстрировали обнадеживающие клинические ответы при множестве солидных опухолей, при этом общая частота ответа (ORR) составила 20-40% при меланоме, 10-24% при немелкоклеточном раке легких (NSCLC), 12-31% при почечно-клеточной карциноме (RCC), 24-52% при раке мочевого пузыря и 20% при раке головы и шеи (Swaika et al., (2015) Mol Immunol 67 (2 Pt A):4-17).

В изобретении предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащие определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 84 соответственно или с SEQ ID NO: 82, 83 и 85 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 84 соответственно и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 85 соответственно и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

SEQ ID NO: 82, 83, 84, 85, 86, 87 и 88 представляют последовательности рода HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 аффинно-зрелых вариантов антител-антагонистов, специфически связывающих PD-1, имеющих аналогичные последовательности HCDR1, HCDR2, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, и две аналогичные группы последовательностей HCDR3. Антитела в пределах рода связывают PD-1 с KD менее около 1×10-7 M, например, менее около 1×10-8 M, например, менее около 1×10-9 M или, например, менее около 1×10-10 M. Примерами таких антител являются антитела, имеющие последовательности аминокислот HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 антител PD1B114, PD1B149, PD1B160, PD1B162, PD1B164, PD1B11, PD1B183, PD1B184, PD1B185, PD1B187, PD1B71, PD1B177, PD1B70, PD1B175, PD1B194, PD1B195, PD1B196, PD1B197, PD1B198, PD1B199, PD1B200, PD1B201 и PD1B244, как описано в настоящем документе.

SEQ ID NO: 82
X1YX2IX3,
где X1 представляет собой S или D;
X2 представляет собой V или A; и
X3 представляет собой H или S.
SEQ ID NO: 83
GIIPIX4X5TANYAQKFQG,
где X4 представляет собой Y или F; и
X5 представляет собой G или D.
SEQ ID NO: 84
PGLAAAYDTGX6LDY,
где X6 представляет собой N или S.
SEQ ID NO: 85
GX7X8X9X10TGX11LDY,
где X7 представляет собой T или Y;
X8 представляет собой L или V;
X9 представляет собой D или R;
X10 представляет собой R или A; и
X11 представляет собой H или M.
SEQ ID NO: 86
RASQSVX12X13YLA,

где X12 представляет собой S, R или D; и
X13 представляет собой S или N.
SEQ ID NO: 87
DASX14RAT,
где X14 представляет собой N, D, Y, S или T.
SEQ ID NO: 88
QQRX15X16WPLT,
где X15 представляет собой S, N, G, E, D, W или A; и
X16 представляет собой N, Y, E или A.

В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок имеют одно, два, три, четыре или пять из следующих свойств:

a) усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4 + или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1;

b) связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

c) связывает PD-1 человека с KD менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

d) связывает PD-1 яванского макака с KD менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C; или

e) связывает PD-1 яванского макака с KD менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

Примерами таких антител являются антитела PD-1 PD1B114, PD1B149, PD1B160, PD1B162, PD1B164, PD1B11, PD1B183, PD1B184, PD1B185, PD1B187, PD1B71, PD1B177, PD1B70, PD1B175, PD1B194, PD1B195, PD1B196, PD1B197, PD1B198, PD1B199, PD1B200, PD1B201 и PD1B244, как описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 10 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает PD-1 яванского макака с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает PD-1 яванского макака с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 10 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

Активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ можно оценивать посредством измерения усиления пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), повышения секреции интерферона-γ (ИФН-γ) в анализе MLR, повышения секреции ФНО-α в анализе MLR, повышения секреции ИФН-γ в анализе с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ) или повышения секреции ФНО-α в анализе ЦМВ с помощью известных протоколов и так, как описано в примере 1. Антитела по изобретению усиливают активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, когда измеренная функциональность Т-клеток повышается с помощью антител по изобретению дозозависимым образом.

Аффинность антитела к PD-1 человека или яванского макака можно определить экспериментально с помощью любого приемлемого способа. В таких способах могут использоваться приборы ProteOn

XPR36, Biacore 3000 или KinExA, твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА) или анализы конкурентного связывания, известные специалистам в данной области. Измеренное значение аффинности взаимодействия конкретного антитела/PD-1 может изменяться при измерении в разных условиях (например, осмолярность, pH). Таким образом, измерения аффинности и других параметров связывания (например, KD, Kon, Koff), как правило, проводятся в стандартизированных условиях и с использованием стандартизированного буферного раствора, такого как буферный раствор, описанный в настоящем документе. Специалистам в данной области будет понятно, что внутренняя ошибка измерений аффинности, например, с помощью Biacore 3000 или ProteOn (измеряемая как стандартное отклонение (СО)), как правило, может составлять 5-33% для измерений, проводимых в границах типичных пределов обнаружения. Следовательно, термин "около" в контексте KD отражает типичное стандартное отклонение в анализе. Например, типичное СО для KD, равной 1×10-9 М, составляет до ±0,33×10-9 М.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащиеся в пределах вариабельной области тяжелой цепи (VH) последовательностей SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 или 48, причем HCDR1, HCDR2 и HCDR3 определяются по Chothia, Kabat или IMGT.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок по изобретению содержат LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащиеся в пределах вариабельной области легкой цепи (VL) последовательностей SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61 или 62, причем LCDR1, LCDR2 и LCDR определяются по Chothia, Kabat или IMGT.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок по изобретению содержат

HCDR1 с SEQ ID NO: 10, 11 или 12;

HCDR2 с SEQ ID NO: 13, 14 или 15; и

HCDR3 с SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок по изобретению содержат

LCDR1 с SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24 или 25;

LCDR2 с SEQ ID NO: 26, 27, 28, 29 или 30; и

LCDR3 с SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок по изобретению содержат

HCDR1 с SEQ ID NO: 10, 11 или 12;

HCDR2 с SEQ ID NO: 13, 14 или 15;

HCDR3 с SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19;

LCDR1 с SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24 или 25;

LCDR2 с SEQ ID NO: 26, 27, 28, 29 или 30; и

LCDR3 с SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок по изобретению содержат HCDR1, HCDR2 и HCDR3 последовательностей

SEQ ID NO: 10, 13 и 16 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 14 и 16 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 13 и 17 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 13 и 18 соответственно;

SEQ ID NO: 11, 15 и 18 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 13 и 19 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 14 и 17 соответственно; или

SEQ ID NO: 12, 13 и 19 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок по изобретению содержат LCDR1, LCDR2 и LCDR3 последовательностей

SEQ ID NO: 20, 26 и 31 соответственно;

SEQ ID NO: 21, 26 и 32 соответственно;

SEQ ID NO: 22, 27 и 33 соответственно;

SEQ ID NO: 22, 26 и 34 соответственно;

SEQ ID NO: 23, 28 и 35 соответственно;

SEQ ID NO: 20, 26 и 36 соответственно;

SEQ ID NO: 21, 27 и 37 соответственно;

SEQ ID NO: 23, 26 и 32 соответственно;

SEQ ID NO: 22, 26 и 32 соответственно;

SEQ ID NO: 24, 26 и 38 соответственно;

SEQ ID NO: 20, 29 и 39 соответственно;

SEQ ID NO: 20, 30 и 32 соответственно;

SEQ ID NO: 25, 26 и 40 соответственно; или

SEQ ID NO: 24, 26 и 32 соответственно.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, необязательно менее около 10 нМ, например менее около 1 нМ, например менее около 500 пМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок связывает PD-1 яванского макака с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, необязательно менее около 10 нМ, например менее около 1 нМ, например менее около 500 пМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL кодируются полинуклеотидными последовательностями с SEQ ID NO: 196 и 197 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4/κ, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 и относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 и относится к изотипу IgG4/κ, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 72 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 73.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 и относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 и относится к изотипу IgG2/κ, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении меланомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного NSCLC.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении неплоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении аденокарциномы легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении почечно-клеточной карциномы (RCC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении мезотелиомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карциномы носоглотки (NPC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении колоректального рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении устойчивого к кастрации рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака яичника.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака печени.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака поджелудочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака щитовидной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного рака головы и шеи.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карцином пищевода или желудочно-кишечного тракта.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака молочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака фаллопиевой трубы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака головного мозга.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака уретры.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении эндометриоза.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака шейки матки.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении метастатического ракового поражения.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении гематологической злокачественной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении неходжкинской лимфомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении хронического лимфоцитарного лейкоза.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3 и содержащим VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3 и содержащим VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3 и содержащим VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с ингибитором FGFR.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с вакциной.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим GITR (SEQ ID NO: 271).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим CD137 (SEQ ID NO: 281).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим OX-40 (SEQ ID NO: 279).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 66, 67, 68, 69, 70 и 71 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL кодируются полинуклеотидными последовательностями с SEQ ID NO: 198 и 199 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 63 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, необязательно менее около 10 нМ, например менее около 1 нМ, например менее около 100 пМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4/κ, необязательно содер-

жащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65 и относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65 и относится к изотипу IgG4/κ, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 74 и LC с SEQ ID NO: 75.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замену V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65 и относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65 и относится к изотипу IgG2/κ, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении меланомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного NSCLC.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении неплоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении аденокарциномы легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении почечно-клеточной карциномы (RCC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении мезотелиомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карциномы носоглотки (NPC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении колоректального рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении устойчивого к кастрации рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака яичника.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака печени.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака поджелудочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака щитовидной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного рака головы и шеи.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карцином пищевода или желудочно-кишечного тракта.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака молочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака фаллопиевой трубы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака головного мозга.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака уретры.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении эндометриоза.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака шейки матки.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении метастатического ракового поражения.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении гематологической злокачественной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении неходжкинской лимфомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении хронического лимфоцитарного лейкоза.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3 и содержащим VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3 и содержащим VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3 и содержащим VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с ингибитором FGFR.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с вакциной.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим GITR (SEQ ID NO: 271).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим CD137 (SEQ ID NO: 281).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим OX-40 (SEQ ID NO: 279).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12, 13, 19, 24, 26 и 38 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 30 и 32 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL кодируются полинуклеотидными последовательностями с SEQ ID NO: 202 и 203 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 76 и LC с SEQ ID NO: 77.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 16, 20, 26 и 31 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 212 и LC с SEQ ID NO: 213.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 16, 21, 26 и 32 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 214 и LC с SEQ ID NO: 215.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 27 и 33 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 216 и LC с SEQ ID NO: 217.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 26 и 34 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 218 и LC с SEQ ID NO: 219.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 16, 23, 28 и 35 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 220 и LC с SEQ ID NO: 221.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 31 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 36 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 54.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит за-

мену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 222 и LC с SEQ ID NO: 223.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 26 и 32 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 224 и LC с SEQ ID NO: 225.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 27 и 37 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 226 и LC с SEQ ID NO: 227.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 23, 26 и 32 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 22, 26 и 32 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 228 и LC с SEQ ID NO: 229.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 18, 20, 26 и 31 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 26 и 31 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 46 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 28 и 35 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 22, 26 и 34 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 29 и 39 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 25, 26 и 40 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 24, 26 и 32 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 63 или 64.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 или 65.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 63 или 64 и VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 или 65.

Последовательности VH, VL, HCDR и LCDR примеров антител-антагонистов, специфически связывающих PD-1, по изобретению показаны в табл. 2.

Хотя варианты осуществления, проиллюстрированные в примерах, содержат пары вариабельных областей (одну из тяжелой цепи и одну из легкой цепи), специалисту в данной области будет понятно, что альтернативные варианты осуществления могут содержать одиночные вариабельные области тяжелой или легкой цепи. Одиночную вариабельную область можно применять для скрининга вариабельных

доменов, способных к формированию двухдоменного специфического антигенсвязывающего фрагмента, способного, например, связываться с человеческим PD-1. Скрининг можно проводить посредством скрининга фагового дисплея, например, с применением иерархического двойного комбинаторного подхода, раскрытого в международной патентной публикации № WO1992/01047. Согласно этому подходу отдельную колонию, содержащую клон либо с VH-, либо с VL-цепью, применяют для инфицирования полной библиотеки клонов, кодирующих другую цепь (VL или VH), и полученный двухцепочечный специфичный антигенсвязывающий домен отбирают в соответствии с методиками фагового дисплея, применяя известные способы и способы, описанные в настоящем документе. Таким образом, отдельные полипептидные цепи VH и VL можно использовать при определении дополнительных антител, специфически связывающихся с человеческим PD-1, с помощью способов, раскрытых в международной патентной публикации № WO1992/01047.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, представляет собой мультиспецифическое антитело.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, представляет собой биспецифическое антитело.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, связывает PD-L1 (SEQ ID NO: 5), PD-L2 (SEQ ID NO: 8), LAG-3 (SEQ ID NO: 293), TIM-3 (SEQ ID NO: 138), CEACAM-1 (SEQ ID NO: 296), CEACAM-5 (SEQ ID NO: 307), OX-40 (SEQ ID NO: 279), GITR (SEQ ID NO: 271), CD27 (SEQ ID NO: 280), VISTA (SEQ ID NO: 286), CD137 (SEQ ID NO: 281), TIGIT (SEQ ID NO: 301) или CTLA-4 (SEQ ID NO: 292). Биспецифические и мультиспецифические антитела можно создавать с помощью описанных в настоящем документе способов.

Таблица 2

Антитело	SEQ ID NO:							
	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH	VL
PD1B114	10	13	16	20	26	31	41	49
PD1B149	10	13	16	21	26	32	41	50
PD1B160	10	14	16	22	27	33	42	51
PD1B162	10	14	16	22	26	34	42	52
PD1B164	10	14	16	23	28	35	42	53
PD1B11	10	13	17	20	26	31	43	49
PD1B183	10	13	17	20	26	36	43	54
PD1B184	10	13	17	21	26	32	43	50
PD1B185	10	13	17	21	27	37	43	55
PD1B187	10	13	17	23	26	32	43	56
PD1B192	10	13	17	22	26	32	43	57
PD1B71	10	13	18	20	26	31	44	49
PD1B177	11	15	18	20	26	31	45	49
PD1B70	10	13	19	20	26	31	46	49
PD1B175	12	13	19	20	26	31	47	49
PD1B194	10	14	17	23	28	35	48	53
PD1B195	10	14	17	22	26	34	48	52
PD1B196	10	14	17	23	26	32	48	56
PD1B197	12	13	19	24	26	38	47	58
PD1B198	12	13	19	20	29	39	47	59
PD1B199	11	15	18	20	30	32	45	60
PD1B200	11	15	18	25	26	40	45	61
PD1B201	11	15	18	24	26	32	45	62
PD1B131	66	67	68	69	70	71	63	65
PD1B132	66	67	68	69	70	71	64	65

Гомологичные антитела.

Варианты антител-антагонистов, специфически связывающих PD-1, или их антигенсвязывающего участка по изобретению, которые содержат аминокислотные последовательности VH, VL или VH и VL, показанные в табл. 2, табл. 21 и табл. 22, входят в рамки объема изобретения. Например, варианты могут содержать одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен в VH и/или VL постольку, поскольку гомологичные антитела сохранили или имеют улучшенные функциональные свойства по сравнению с исходными антителами. В некоторых вариантах осуществления идентичность последовательностей мо-

жет составлять около 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с аминокислотной последовательностью VH или VL по изобретению. Необязательно любое изменение варианта по сравнению с исходным антителом не выполняется в рамках CDR варианта.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 63 или 64, причем VH необязательно имеет одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 или 65, причем VL необязательно имеет одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий

VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 50;
VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 51;
VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 52;
VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 53;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 54;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 50;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 55;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 56;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 57;
VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 46 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 53;
VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 52;
VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58;
VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 59;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 61;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 62; или

VH с SEQ ID NO: 63 и VL с SEQ ID NO: 65, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH, имеющую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 64 или 65. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VL, имеющую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 или 65. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его

антигенсвязывающий участок, содержащий VH, имеющую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 63 или 64, и VL, имеющую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 или 65. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие последовательности аминокислот, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH и VL с SEQ ID NO:

41 и 49 соответственно;
41 и 50 соответственно;
42 и 51 соответственно;
42 и 52 соответственно;
42 и 53 соответственно;
43 и 49 соответственно;
43 и 54 соответственно;
43 и 50 соответственно;
43 и 55 соответственно;
43 и 56 соответственно;
43 и 57 соответственно;
44 и 49 соответственно;
45 и 49 соответственно;
46 и 49 соответственно;
47 и 49 соответственно;
48 и 53 соответственно;
48 и 52 соответственно;
47 и 58 соответственно;
47 и 59 соответственно;
45 и 60 соответственно;
45 и 61 соответственно;
45 и 62 соответственно; или
63 и 65 соответственно. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

Гомологичные антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, или их антигенсвязывающие участки по изобретению имеют одно, два, три, четыре или пять из представленных ниже свойств:

a) усиливают активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4 + или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1;

b) связывают человеческий PD-1 с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

c) связывают человеческий PD-1 с KD менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

d) связывают PD-1 яванского макака с SEQ ID NO: 3 с KD менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C; или

e) связывают PD-1 яванского макака с SEQ ID NO: 3 с KD менее около 1 нМ,

причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитело усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает человеческий PD-1 с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитело усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 10 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

Процент идентичности между двумя последовательностями зависит от числа идентичных положений, общих для последовательностей (т.е. % идентичности=число идентичных положений/общее число положений × 100), с учетом числа гэпов и длины каждого гэпа, который необходимо встроить для оптимального выравнивания двух последовательностей.

Процент идентичности между двумя аминокислотным последовательностями можно определить с помощью алгоритма E. Meyers and W. Miller (Comput Appl Biosci 4:11-17 (1988)), который встроен в программу ALIGN (версия 2.0), и с помощью таблицы массы остатков PAM120, штрафа на длину гэпа 12 и штрафа гэпа 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма Needleman and Wunsch (J Mol Biol 48:444-453 (1970)), который встроен в программу GAP в пакете программ GCG (доступен на сайте http://_www_gcg_com), и с помощью либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, а также веса гэпов 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и веса длины гэпов 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

Антитела с консервативными модификациями.

В изобретении также предложены антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, или их антигенсвязывающие участки, которые содержат VH, содержащие последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, и VL, которые содержат последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, причем одна или более из последовательностей CDR содержит установленные аминокислотные последовательности на основании описанных в настоящем документе антител (например, антител, показанных в табл. 2, табл. 21 и табл. 22) или их консервативных модификаций, и при этом антитела сохраняют желательные функциональные свойства исходных антител-антагонистов, специфически связывающих PD-1, по изобретению.

Антитела с консервативными модификациями имеют одно, два, три, четыре или пять из следующих свойств:

a) усиливают активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1;

b) связывают человеческий PD-1 с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

c) связывают человеческий PD-1 с KD менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

d) связывают PD-1 яванского макака с SEQ ID NO: 3 с KD менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C; или

e) связывают PD-1 яванского макака с SEQ ID NO: 3 с KD менее около 1 нМ,

причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитело усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает человеческий PD-1 с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления антитело усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1, а также связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 10 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 66, 67, 68, 69, 70 и 71 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 10, 13, 16, 20, 26 и 31 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 13, 16, 21, 26 и 32 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 27 и 33 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 26 и 34 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 14, 16, 23, 28 и 35 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 31 соответственно;

SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 36 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 27 и 37 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 23, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 22, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 18, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 28 и 35 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 17, 22, 26 и 34 соответственно;
SEQ ID NO: 12, 13, 19, 24, 26 и 38 соответственно;
SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 29 и 39 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 30 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 25, 26 и 40 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 24, 26 и 32 соответственно и их консервативные модификации.

Термин "консервативная модификация" относится к модификациям аминокислот, которые не оказывают значимого влияния или не изменяют характеристики связывания антитела, содержащего аминокислотные последовательности. Консервативные модификации включают в себя замены, добавления и делеции аминокислот. Консервативные замены представляют собой замены, в которых аминокислоту заменяют аминокислотным остатком, имеющим аналогичную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих аналогичные боковые цепи, четко определены и включают в себя аминокислоты с кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), щелочными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, цистеин, серии, треонин, тирозин, триптофан), ароматическими боковыми цепями (например, фенилаланин, триптофан, гистидин, тирозин), алифатическими боковыми цепями (например, глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, серин, треонин), амидами (например, аспарагин, глутамин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и серосодержащими боковыми цепями (цистеин, метионин). Более того, любой нативный остаток в полипептиде может быть также замещен аланином, как было описано ранее для мутагенеза с аланиновым сканированием (MacLennan et al., Acta Physiol. Scand. Suppl. 643:55-67, 1998; Sasaki et al., Adv. Biophys. 35:1-24, 1998). Аминокислотные замены в антителах по изобретению могут быть выполнены известными способами, например, путем ПЦР-опосредованного мутагенеза (патент США № 4,683,195). Альтернативно могут быть созданы библиотеки вариантов с помощью известных способов, например, с помощью случайных (NNK) или неслучайных кодонов, например, кодонов DVK, кодирующих 11 аминокислот (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp). Характеристики полученных в результате вариантов антител могут быть исследованы с помощью анализов, описанных в настоящем документе.

Антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3.

Домен иммуноглобулина Т-клеток и домен муцина 3 (TIM-3, также известный как клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2)) является коингибиторным рецептором иммунной контрольной точки, который был предложен для отрицательной регуляции как адаптивных, так и врожденных иммунных ответов. TIM-3 экспрессируется на конкретных подмножествах Т-клеток CD4+ и CD8+ и функционирует с целью ограничения длительности и величины ответов Т-клеток.

Ингибиторная роль TIM-3 в регуляции ответов Т-клеток подтверждается фактами по нескольким направлениям. Мыши, дефицитные по TIM-3, имеют дефекты при индукции как антиген-специфичной, так и трансплантационной толерантности, что согласуется с тем, что TIM-3 ингибирует эффекторные Т-клетки при нормальных иммунных ответах (Sabatos et al., (2003) Nat Immunol 4 (11): 1102-1110; Sanchez-Fueyo et al., (2003) Nat Immunol 4 (11): 1093-1101). Антитела к TIM-3 обостряют экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (EAE) в животных моделях (Monney et al., (2002) Nature 415 (6871): 536-541). Было показано, что TIM-3 является критическим фактором дисфункционального или истощенного состояния Т-клеток, которое наблюдается при хронической инфекции и раке (Sakuishi, K. and A. C. Anderson (2014). TIM-3 Regulation of Cancer Immunity. Tumor-Induced Immune Suppression. D. I. Gabrilovich and A. A. Hurwitz, Springer New York: 239-261).

Было показано, что блокада TIM-3 восстанавливает активность эффекторных клеток, такую как секреция цитокинов и пролиферация. В истощенных вирусами популяциях клеток, например, в клетках, инфицированных ВГС, экспрессирующие TIM-3-клетки (клетки TIM-3+), экспрессируют меньше цитокинов ФНО-α и ИФН-γ, чем TIM-3-отрицательные клетки в обеих популяциях эффекторных клеток, Т-клетках CD4+ и CD8+ (Golden-Mason et al., (2009) J Virol 83:9122). Блокада TIM-3 восстанавливала пролиферацию в Т-клетках CD8+ от пациента с ВИЧ или в клетках, которые воспроизводили вирусное ис-

тощение (Jones et al., (2008) J Exp Med 205:2763), а также пролиферацию и секрецию ИФН-γ и/или ФНО-α в специфичных к NY-ESO-1 Т-клетках из PBMC от пациентов с метастазами (Fourcade et al., (2010) J Exp Med 207:2175). Было обнаружено, что Т-клетки TIM-3+ концентрируются в опухолях и участвуют в иммуносупрессивной среде опухоли (Sakuishi et al., (2013) Oncoimmunology, 2: e23849).

Блокада TIM-3 (сама по себе частично или в комбинации с блокадой пути PD-1 - аддитивно или синергетически) показала противоопухолевую эффективность в нескольких доклинических моделях рака, включая карциному толстой кишки CT26 (Sakuishi et al., (2010) J Exp Med 207 (10): 2187-94), саркому WT3 и карциному предстательной железы TRAMP-C1 (Ngiow et al., (2011) Cancer Res 71(10):3540-3551).

Механизмы, посредством которых TIM-3 ингибирует реакции Т-клеток, изучены не полностью. Цитоплазматический хвост TIM 3 содержит множество тирозиновых остатков (Ferris et al., (2014) J Immunol 193(4):1525-1530), но не имеет ингибиторных сигнальных повторов, таких как ITIM или ITSM, которые обнаружены во внутриклеточном хвосте PD-1. Показано, что тирозинкиназы Fyn и Lck семейства Src связывают TIM-3, хотя точные последствия этих взаимодействий еще необходимо подтвердить in vivo. Предложены две противоположные модели того, как TIM-3 регулирует сигнализацию Т-клеток. С одной стороны, была предложена теория, что TIM-3 отрицательно регулирует сигнализацию TCR посредством привлечения фосфатазы в иммунологический синапс и дефосфорилирования Lck (Clayton et al., (2014) J Immunol 192 (2):782-791). Напротив, также было предположено, что TIM-3 усиливает сигнализацию TCR и, что парадоксально, приводит Т-клетки в более истощенное состояние посредством усиления активации активности NFAT и сигнализации NFκB.

В дополнение к экспрессии на эффекторных Т-клетках TIM-3 также экспрессируется на регуляторных Т-клетках (T-reg), и было показано, что он отмечает супрессивное подмножество T-reg в опухолях. Анализы как на первичных человеческих клетках, так и на доклинических мышиных моделях показали, что T-reg TIM-3+ более эффективны в ингибировании Т-хелперов 1 (Th1) и Т-хелперов 17 (Th17), чем T-reg TIM-3- (Gautron et al., (2014) Eur J Immunol 44(9):2703-2711; Sakuishi et al., (2013) Oncoimmunology, 2: e23849). Поскольку TIM-3 экспрессируется на высокосупрессивных T-reg, он может непосредственно ингибировать ответы Т-клеток CD4+ и CD8+. Кроме того, T-reg TIM 3+ экспрессируют высокие уровни IL-10, который предположительно является фактором истощения эффекторных Т-клеток в TME, в качестве дополнительного косвенного механизма супрессии противоопухолевых иммунных ответов (Sakuishi et al., (2013) Oncoimmunology, 2: e23849).

TIM-3 экспрессируется на нескольких типах врожденных иммунных клеток, включая моноциты/макрофаги, дендритные клетки и NK-клетки. Существующие данные подтверждают супрессивную роль TIM-3 в этих разных типах клеток.

TIM-3 конститутивно экспрессируется циркулирующими моноцитами CD14+ у здоровых доноров, и его экспрессия на периферических моноцитах значительно повышена у пациентов с хроническим воспалением и раком (Rong et al., (2014) Tissue Antigens 83(2):76-81). Уровни TIM-3 также возрастают на макрофагах, которые инфильтрируются в опухоли гепатоцеллюлярной карциномы (HCC), по сравнению с макрофагами из смежных тканей и предположительно играют роль при направлении поляризации макрофагов к фенотипу M2 развития опухоли.

Как сообщалось недавно, TIM-3 экспрессируется на дендритных клетках, которые инфильтрируются в опухолях у мышей. В данных условиях взаимодействие TIM-3 с HMBG1 предположительно подавляет врожденный иммунитет посредством блокирования распознавания и ответа на иммуностимулирующую нуклеиновую кислоту (Chiba et al., (2012) Immunol 13(9):832-842). TIM-3 также конститутивно экспрессируется на NK-клетках в периферической крови. Одно недавнее исследование показало, что NK-клетки у пациентов с прогрессирующей меланомой экспрессируют высокие уровни TIM-3 на периферийных NK-клетках. Важно отметить, что NK-клетки TIM-3+ были функционально истощены и блокада анти-TIM-3 смогла обратить истощение и усилить функциональность NK-клеток (da Silva et al., (2014) Cancer Immunol Res 2(5):410-422).

TIM-3 связывает лиганды галектин-9 (Gal-9), фосфатидилсерин (PtdSer), HMGB1 и CEACAM-1. Лектин S-типа галектин-9 может ингибировать связанную с TIM-3 функцию эффектора Th1 и индуцировать апоптоз в Т-клетках, экспрессирующих TIM-3 в мышиных моделях. PtdSer, как правило, находится на внутриклеточной стороне плазматической мембраны, но переворачивается на внеклеточную сторону во время апоптоза. PtdSer связывает сохраненное расщепление во всех трех членах семейства TIM человека (TIM-1, -3, -4). Ингибирование PtdSer, связывающего TIM-3, может активировать ответ Т-клеток. Галектин-9 секретируется опухолевыми клетками и может способствовать уклонению от противоопухолевого иммунитета. Алармин ДНК, HMGB1, для которого TIM-3 может служить в качестве "стока", может предотвращать взаимодействия HMGB1/RAGE, которые стимулируют врожденный иммунитет. CEACAM-1 может взаимодействовать с TIM-3 как в цис-форме в виде гетеродимера на Т-клетках, так и в трансформе в виде лиганда. Взаимодействие между CEACAM-1 и TIM-3 может помогать опосредовать блокирование сигнализации иммунных ответов. Сочетанная блокада TIM-3 и CEACAM-1 при карциноме толстой кишки CT26 показала эффективность, аналогичную той, которую наблюдали при сочетанной блокаде PD-L1 и TIM-3.

Таким образом, блокада TIM-3 с помощью антител по изобретению, описанных в настоящем документе, которая ингибирует функцию TIM-3, может улучшать иммунный ответ против инфекции и противоопухолевый иммунитет.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, причем антитело ингибирует связывание TIM-3 с галектином-9.

Ингибирование связывания TIM-3 с галектином-9 антителами по изобретению можно оценивать с помощью конкурентного твердофазного ИФА. В примере анализа 1 мкг/мл рекомбинантного человеческого Fc-TIM-3 связывают на лунках планшет для микротитрования, лунки промывают и блокируют и затем добавляют 10 мкг/мл исследуемого антитела. Без промывки в лунки добавляют 7,5 мкг/мл галектина-9 и инкубируют в течение 30 мин, после чего добавляют 0,5 мкг/мл антитела к галектин-9-биотину и инкубируют в течение 30 мин. Планшеты промывают и добавляют 0,5 мкг/мл конъюгата поликлонального антитела к нейтравидину-HRP, инкубируют в течение 30 минут. Планшеты промывают и добавляют субстрат хемилюминесценции POD непосредственно перед считыванием сигнала люминесценции. Антитела по изобретению ингибируют связывание TIM-3 с галектином-9, причем связывание галектина-9 уменьшается на по меньшей мере около 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% по анализу, описанному в настоящем документе и в примере 1. Примерами антител, которые ингибируют связывание TIM-3 с галектином-9, являются антитела TM3B103, TM3B105, TM3B107, TM3B108, TM3B109, TM3B113, TM3B189, TM3B190 и TM3B196.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого усиления поверхностной экспрессии CD137 не специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+ по способам, описанным в примере 14.

Применение CD137 в качестве маркера специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, которые распространяются в ответ на стимуляцию антигеном ЦМВ, позволило обнаруживать функциональные эффекты антител-антагонистов изобретения к TIM-3 по изобретению.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261).

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261) и остатков 50-56 (DERDVNY) (SEQ ID NO: 262).

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (RIQIPGIMNDEKF) (SEQ ID NO: 263).

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (RIQIPGIMNDEKF) (SEQ ID NO: 263) и остатков 50-56 (DERDVNY) в SEQ ID NO: 262.

Термин "в пределах" означает, что 80% или более остатков эпитопа, с которым связывается антитело, расположены в пределах указанных участков аминокислотных последовательностей и что до 20% остатков эпитопа, с которым связывается антитело, расположены за пределами указанных участков аминокислотных последовательностей.

Эпитоп Tim-3, с которым связывается антитело, может быть определен, например, с помощью обмена водород/дейтерий (обмен H/D) или с помощью анализа кристаллической структуры антитела в комплексе с TIM-3. Остатки эпитопа представляют собой остатки, защищенные антителом по меньшей мере на 5% разности уровней дейтерирования посредством обмена H/D или экспонируемые на поверхности аминокислотные остатки, определенные как связывающие антитело в кристаллической структуре комплекса антитела и TIM-3. В кристаллической структуре комплекса антитела и TIM-3 остатками эпитопа являются те остатки TIM-3, которые находятся на расстоянии в пределах 4 Å или менее от любого из остатков CDR антитела.

При анализе обмена H/D белок TIM-3 инкубируют в присутствии или в отсутствие антитела в дейтерированной воде в течение заданных периодов времени, что приводит к включению дейтерия в обмениваемые атомы водорода, не защищенные антителом, с последующим расщеплением белка протеазой и анализами пептидных фрагментов с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ЖХ-МС). В примере анализа 5 мкл исследуемого антитела (10 мкг) или 5 мкл комплекса TIM-3 и исследуемого антитела (10 и 7,35 мкг соответственно) инкубируют с 120 мкл буферного раствора для мечения оксидом дейтерия (50 мМ фосфат, 100 мМ хлорид натрия при pH 7,4) в течение 0 с, 60 с, 300 с, 1800 с, 7200 с и 14400 с. Реакцию обмена дейтерия гасят путем добавлением 63 мкл 5 М гидрохлорида гуаниди-

на, и конечный уровень pH составляет 2,5. Погашенную пробу подвергают расщеплению на колонке пепсином/протеазой типа XIII и анализу ЖХ-МС. Для расщепления пепсином/протеазой типа XIII 5 мкг проб денатурируют в 125 мкл контрольного буферного раствора (50 мМ фосфата, 100 мМ хлорида натрия при pH 7,4) путем добавления 63 мкл 5 М гидрохлорида гуанидина (конечный уровень pH составляет 2,5) и инкубации смеси в течение 3 мин. Затем смесь подвергают расщеплению пепсином/протеазой типа XIII и полученные пептиды анализируют с помощью системы сверхэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (СВЭЖХ-МС), состоящей из хроматографа Waters Acquity UPLC, соединенного с квадрупольным масс-спектрометром на платформе Q ExactiveTM Hybrid Quadrupole-Orbitrap (Thermo). Исходные данные МС обрабатывают с помощью программного обеспечения HDX WorkBench, предназначенного для анализа данных МС обмена H/D. Уровни дейтерия вычисляют с помощью средней разности масс между дейтерированным пептидом и его нативной формой (t0). Выявление пептида осуществляют путем поиска данных МС/МС в сравнении с последовательностью TIM-3 с помощью Mascot. Допуск по массе для ионов предшественника и продукта составляет 20 ч./млн и 0,05 Да соответственно.

Для рентгеновской кристаллографии TIM-3 и исследуемое антитело экспрессируют и очищают с помощью стандартных протоколов. Комплекс TIM-3/исследуемое антитело инкубируют в течение ночи при 4°C, концентрируют и отделяют от не образовавших комплекс соединений с помощью эксклюзионной хроматографии. Комплекс кристаллизуют способом паровой диффузии из различных известных исследуемых растворов, например, растворов, содержащих ПЭГ3350, цитрат аммония и 2-(N-морфолино)этансульфоновую кислоту (MES).

Антитела, связывающие в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261), 90-102 (RIQIPGIMNDEKF) (SEQ ID NO: 263) и/или 50-56 (DERDVNY) (SEQ ID NO: 262), могут быть получены посредством выделения антител, связывающих TIM-3, с помощью библиотек фагового дисплея, отбора тех антител, которые конкурируют с эталонным антителом TM3B105 (VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156) или TM3B291 (VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173) за связывание с TIM-3 на 100%, и подтверждения эпитопа полученных антител посредством решения кристаллической структуры комплекса антитело/TIM-3. Альтернативно мышей, крыс или кроликов можно иммунизировать с помощью пептидов, охватывающих остатки 32-47, 90-102 и/или 50-56 в TIM-3, и полученные антитела можно оценивать на их связывание в пределах указанной области.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащие определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 164, 165 и 166 соответственно.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 167, 168 и 169 соответственно.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 164, 165 и 166 соответственно и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 167, 168 и 169 соответственно.

SEQ ID NO: 164, 165, 166, 167, 168 и 169 представляют родовые последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 антагонистов к TIM-3, полученные из библиотек фагового дисплея. Родовые последовательности были получены на основании структурных моделей, которые приводили к выравниваниям последовательностей, представленным на фиг. 13, фиг. 14, фиг. 15, фиг. 16, фиг. 17 и фиг. 18 и обобщенным в настоящем документе.

SEQ ID NO: 164
X17YX18MX19,
где X17 представляет собой N, S, G или D;
X18 представляет собой W или A; и
X19 представляет собой S или H.
SEQ ID NO: 165
X20IX21X22SGGSX23YYADSVKG,
где X20 представляет собой A или V;
X21 представляет собой S или K;
X22 представляет собой G или Y; и
X23 представляет собой T или K.
SEQ ID NO: 166
X24X25X26X27X28X29X30X31DY,
где X24 представляет собой D, S, N, G или E;
X25 представляет собой H, P, E, T или L;
X26 представляет собой W, E, N или удален;
X27 представляет собой D, P или удален;
X28 представляет собой P, Y, D или удален;
X29 представляет собой N, A, D, G или удален;

X30 представляет собой F, P, R, W или V; и
X31 представляет собой L или F.
SEQ ID NO: 167
X32X33SQSVX34X35X36X37X38X39X40X41X42LA,
где X32 представляет собой R или K;
X33 представляет собой A или S;
X34 представляет собой S, N или L;
X35 представляет собой S, A, N или удален;
X36 представляет собой S или удален;
X37 представляет собой S или удален;
X38 представляет собой N или удален;
X39 представляет собой N или удален;
X40 представляет собой K или удален;
X41 представляет собой S, D или N; и
X42 представляет собой Y или T.
SEQ ID NO: 168
X43ASX44RX45X46,
где X43 представляет собой G, D, W или T;
X44 представляет собой S, N или T;
X45 представляет собой A или E; и
X46 представляет собой T или S.
SEQ ID NO: 169
QQX47X48X49X50PX51T (SEQ ID NO: 169),
где X47 представляет собой Y, G или S;
X48 представляет собой G или Y;
X49 представляет собой S, H или T;
X50 представляет собой S, A или T; и
X51 представляет собой L, I или W.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащиеся в пределах вариабельной области тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 145, 146, 147, 148 или 149, причем HCDR1, HCDR2 и HCDR3 определены по Chothia, Kabat или IMGT.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащиеся в пределах вариабельной области легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 155, 156, 157 или 158, причем LCDR1, LCDR2 и LCDR3 определены по Chothia, Kabat или IMGT.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок содержит

HCDR1 с SEQ ID NO: 90, 91, 92 или 93;
HCDR2 с SEQ ID NO: 99, 100 или 101; и
HCDR3 с SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110 или 111.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок по изобретению содержат

LCDR1 с SEQ ID NO: 117, 118, 119 или 120;
LCDR2 с SEQ ID NO: 126, 127, 128 или 129; и
LCDR3 с SEQ ID NO: 135, 136, 137 или 139.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок содержит

HCDR1 с SEQ ID NO: 90, 91, 92 или 93;
HCDR2 с SEQ ID NO: 99, 100 или 101;
HCDR3 с SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110 или 111;
LCDR1 с SEQ ID NO: 117, 118, 119 или 120;
LCDR2 с SEQ ID NO: 126, 127, 128 или 129; или
LCDR3 с SEQ ID NO: 135, 136, 137 или 139.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с

SEQ ID NO: 90, 99 и 107 соответственно;
SEQ ID NO: 91, 99 и 108 соответственно;
SEQ ID NO: 91, 99 и 109 соответственно;
SEQ ID NO: 92, 100 и 110 соответственно; или
SEQ ID NO: 93, 101 и 111 соответственно;

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3,

или его антигенсвязывающий участок содержит LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 117, 126 и 135 соответственно;

SEQ ID NO: 118, 127 и 136 соответственно;

SEQ ID NO: 119, 128 и 137 соответственно; или

SEQ ID NO: 120, 129 и 139 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 90, 99, 107, 117, 126 и 135 соответственно;

SEQ ID NO: 91, 99, 108, 118, 127 и 136 соответственно;

SEQ ID NO: 91, 99, 109, 119, 128 и 137 соответственно;

SEQ ID NO: 92, 100, 110, 117, 126 и 135 соответственно; или

SEQ ID NO: 93, 101, 111, 120, 129 и 139 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 164, 165 и 108 соответственно и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 118, 168 и 169 соответственно.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 91, 99, 108, 118, 127 и 136 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261).

В некоторых вариантах осуществления антитело, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261) и остатков 50-56 (DERDVNY) SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления антитело, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок ингибирует связывание TIM-3 с галектином-9.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV3-11 (SEQ ID NO: 171).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL кодируются полинуклеотидными последовательностями с SEQ ID NO: 204 и 205 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого усиления поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+ по способам, описанным в примере 14.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4/κ, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156 и относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156 и относится к изотипу IgG4κ, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156 и относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156 и относится к изотипу IgG2/κ, содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 78 и LC с SEQ ID NO: 79.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 240 и LC с SEQ ID NO: 79.

SEQ ID NO: 78

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPYAPLDYWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 79

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNDYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQGGHAPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 240

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPYAPLDYWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении меланомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного NSCLC.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении неплоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении аденокарциномы легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении почечно-клеточной карциномы (RCC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении мезотелиомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карциномы носоглотки (NPC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении колоректального рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении устойчивого к кастрации рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака яичника.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака печени.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака поджелудочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака щитовидной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного рака головы и шеи.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карцином пищевода или желудочно-кишечного тракта.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака молочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака фаллопиевой трубы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака головного мозга.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака уретры.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении эндометриоза.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака шейки матки.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении метастатического ракового поражения.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIGIT (SEQ ID NO: 301).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с ингибитором FGFR.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с вакциной.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим GITR (SEQ ID NO: 271).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим CD137 (SEQ ID NO: 281).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим OX-40 (SEQ ID NO: 279).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который получает или получал лечение антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который получает или получал лечение антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который не поддается лечению антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который не поддается лечению антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 97, 105, 115, 124, 133 и 143 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV5-51 (SEQ ID NO: 179), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV1-39 (SEQ ID NO: 182).

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL кодируются полинуклеотидными последовательностями с SEQ ID NO: 206 и 207 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого усиления поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+ по способам, описанным в примере 14.

В некоторых вариантах осуществления антитело, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 263).

В некоторых вариантах осуществления антитело, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 263) и остатков 50-56 (DERDVNY) в SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления антитело, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок ингибирует связывание TIM-3 с галектином-9.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4/κ, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173 и относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173 и относится к изотипу IgG4κ, который содержит замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173 и относится к изотипу IgG2/κ, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173 и относится к изотипу IgG2/κ, содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит HC с SEQ ID NO: 80 и LC с SEQ ID NO: 81.

SEQ ID NO: 80

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMQWVRQMPGKGLEWMGAIYPGDGDIR

YTQNFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWEKSTTVVQRNYFDYWGQGTTVTVS

SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPK

DTLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQD

WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD

IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS

LSLSPGK

SEQ ID NO: 81

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVGTFVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRYTGVP

SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQSYSYPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ

LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK

HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, такое как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении меланомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного NSCLC.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении неплоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении аденокарциномы легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении почечно-клеточной карциномы (RCC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении мезотелиомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карциномы носоглотки (NPC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении колоректального рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении устойчивого к кастрации рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака яичника.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака печени.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака поджелудочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака щитовидной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного рака головы и шеи.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карцином пищевода или желудочно-кишечного тракта.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака молочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака фаллопиевой трубы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака головного мозга.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака уретры.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении эндометриоза.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака шейки матки.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении метастатического ракового поражения.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении гематологической злокачественной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, в комбинации с антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 65 и VL с SEQ ID NO: 65.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIGIT (SEQ ID NO: 301).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с ингибитором FGFR.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с вакциной.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим GITR (SEQ ID NO: 271).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная

опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим CD137 (SEQ ID NO: 281).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака, такого как солидная опухоль, в комбинации с антителом-агонистом, специфически связывающим OX-40 (SEQ ID NO: 279).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который получает или получал лечение антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который получает или получал лечение антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который не поддается лечению антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который не поддается лечению антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом-антагонистом, которое специфически связывает PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 90, 99, 107, 117, 126 и 135 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV3-20 (SEQ ID NO: 180).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL кодируются полинуклеотидными последовательностями с SEQ ID NO: 208 и 209 соответственно.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 91, 99, 109, 119, 128 и 137.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV4-1 (SEQ ID NO: 181).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 148 и VL с SEQ ID NO: 157.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 92, 100, 110, 117, 126 и 135 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV3-20 (SEQ ID NO: 180).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 147 и VL с SEQ ID NO: 155.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 93, 101, 111, 120, 129 и 139 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV3-20 (SEQ ID NO: 180).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 149 и VL с SEQ ID NO: 158.

В некоторых вариантах осуществления VH и VL кодируются полинуклеотидными последовательностями с SEQ ID NO: 201 и 211 соответственно.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 94, 102, 112, 121, 130 и 140 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит

каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV1-02 (SEQ ID NO: 175), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV4-1 (SEQ ID NO: 181).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 150 и VL с SEQ ID NO: 159.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 95, 103, 113, 122, 131 и 141 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV4-30-4 (SEQ ID NO: 176), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV1-39 (SEQ ID NO: 182).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 151 и VL с SEQ ID NO: 160.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 96, 104, 114, 123, 132 и 142 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV1-03 (SEQ ID NO: 177), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV1-33 (SEQ ID NO: 183).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 152 и VL с SEQ ID NO: 161.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 97, 105, 115, 124, 133 и 143 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV1-03 (SEQ ID NO: 177), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV1-39 (SEQ ID NO: 182).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 98, 106, 116, 125, 134 и 144 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит каркас тяжелой цепи, полученный из IGHV2-26 (SEQ ID NO: 178), и каркас легкой цепи, полученный из IGKV4-1 (SEQ ID NO: 181).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок содержит VH с SEQ ID NO: 154 и VL с SEQ ID NO: 163.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий участок усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого усиления поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+ по способам, описанным в примере 14.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

Последовательности VH, VL, HCDR и LCDR примеров антител-антагонистов, специфически связывающих TIM-3, по изобретению показаны в табл. 3.

Хотя варианты осуществления, проиллюстрированные в примерах, содержат пары вариабельных областей (одну из тяжелой цепи и одну из легкой цепи), специалисту в данной области будет понятно, что альтернативные варианты осуществления могут содержать одиночные вариабельные области тяжелой или легкой цепи. Одиночную вариабельную область можно применять для скрининга вариабельных доменов, способных к формированию двухдоменного специфического антигенсвязывающего фрагмента, способного, например, связываться с человеческим TIM-3. Скрининг можно проводить способами скрининга фагового дисплея аналогично тому, как описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, представляет собой мультиспецифическое антитело.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, представляет собой биспецифическое антитело.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое или мультиспецифическое антитело связывает PD-1 (SEQ ID NO: 1), PD-L1 (SEQ ID NO: 5), PD-L2 (SEQ ID NO: 8), LAG-3 (SEQ ID NO: 293),

CEACAM-1 (SEQ ID NO: 296), CEACAM-5 (SEQ ID NO: 307), NKG2D (SEQ ID NO: 282) или TIGITI (SEQ ID NO: 301). Биспецифические и мультиспецифические антитела можно создавать с помощью описанных в настоящем документе способов.

Таблица 3

Название mAb	SEQ ID NO:							
	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH	VL
TM3B103	90	99	107	117	126	135	145	155
TM3B105	91	99	108	118	127	136	146	156
TM3B109	91	99	109	119	128	137	148	157
TM3B108	92	100	110	117	126	135	147	155
TM3B113	93	101	111	120	129	139	149	158
TM3B189	94	102	112	121	130	140	150	159
TM3B190	95	103	113	122	131	141	151	160
TM3B193	96	104	114	123	132	142	152	161
TM3B195	97	105	115	124	133	143	153	162
TM3B196	98	106	116	125	134	144	154	163
TM3B291	97	105	115	124	133	143	172	173

Гомологичные антитела.

Варианты антител-антагонистов, которые специфически связывают TIM-3, по изобретению, содержащих аминокислотные последовательности VH или VL, показанные в табл. 3, табл. 36 и табл. 37, находятся в рамках объема изобретения. Например, варианты могут содержать одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен в VH и/или VL постольку, поскольку гомологичные антитела сохранили или имеют улучшенные функциональные свойства по сравнению с исходными антителами. В некоторых вариантах осуществления идентичность последовательностей может составлять около 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% с аминокислотной последовательностью VH или VL по изобретению.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 148 и VL с SEQ ID NO: 157, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 147 и VL с SEQ ID NO: 155, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 149 и VL с SEQ ID NO: 158, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 150 и VL с SEQ ID NO: 159, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его

антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 151 и VL с SEQ ID NO: 160, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 152 и VL с SEQ ID NO: 161, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит VH с SEQ ID NO: 154 и VL с SEQ ID NO: 163, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH, имеющую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична VH с SEQ ID NO: 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154 или 172. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VL, имеющую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична VL с SEQ ID NO: 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163 или 173. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH, имеющую аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична VH с SEQ ID NO: 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, или 172, и VL, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичную VL с SEQ ID NO: 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163 или 173. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 148 и VL с SEQ ID NO: 157. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 147 и VL с SEQ ID NO: 155. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его

антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 149 и VL с SEQ ID NO: 158. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 150 и VL с SEQ ID NO: 159. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 151 и VL с SEQ ID NO: 160. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 152 и VL с SEQ ID NO: 161. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 154 и VL с SEQ ID NO: 163. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, содержащий VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности, которые на по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173. Необязательно любое изменение последовательностей с SEQ ID NO не выполняется в рамках CDR.

Гомологичные антитела по изобретению, описанные в настоящем документе, имеют по существу аналогичные функциональные свойства по сравнению с исходными антителами TIM-3.

Антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению с консервативными модификациями.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит VH, содержащую последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3, и VL, содержащую последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3, причем одна или более из последовательностей CDR содержит установленные аминокислотные последовательности на основе описанных в настоящем документе антител (например, антител, показанных в табл. 3, табл. 36 или табл. 37) или их консервативных модификаций, и при этом антитела сохраняют желательные функциональные свойства исходных антител-антагонистов, специфически связывающих TIM-3, по изобретению.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 90, 99, 107, 117, 126 и 135 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 91, 99, 108, 118, 127 и 136 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 91, 99, 109, 119, 128 и 137 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 92, 100, 110, 117, 126 и 135 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 93, 101, 111, 120, 129 и 139 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 94, 102, 112, 121, 130 и 140 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 95, 103, 113, 122, 131 и 141 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 96, 104, 114, 123, 132 и 142 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 97, 105, 115, 124, 133 и 143 соответственно и их консервативные модификации.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 98, 106, 116, 125, 134 и 144 соответственно и их консервативные модификации.

Термин "консервативная модификация" относится к модификациям, описанным в настоящем документе.

Антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению с конкретными каркасными последовательностями.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит VH и VL, полученные из конкретных последовательностей иммуноглобулина зародышевых линий человека.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), IGHV1-02 (SEQ ID NO: 175), IGHV4-30-4 (SEQ ID NO: 176), IGHV1-03 (SEQ ID NO: 177), IGHV2-26 (SEQ ID NO: 178) или IGHV5-51 (SEQ ID NO: 179).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VL, полученный из IGKV3-20 (A27) (SEQ ID NO: 180), IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 171), IGKV4-1 (B3) (SEQ ID NO: 181), IGKV1-39 (O12) (SEQ ID NO: 182) или IGKV1-33 (O18) (SEQ ID NO: 183).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас VL, полученный из IGKV3-20 (SEQ ID NO: 180).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас VL, полученный из IGKV3-11 (SEQ ID NO: 171).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), и каркас VL, полученный из IGKV4-1 (SEQ ID NO: 181).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV1-02 (SEQ ID NO: 175), и каркас VL, полученный из IGKV4-1 (SEQ ID NO: 181).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV4-30-4 (SEQ ID NO: 176), и каркас VL, полученный из IGKV1-39 (SEQ ID NO: 182).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV1-03 (SEQ ID NO: 177), и каркас VL, полученный из IGKV1-33 (SEQ ID NO: 183).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV1-03 (SEQ ID NO: 177), и каркас VL, полученный из IGKV1-39 (SEQ ID NO: 182).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV2-26 (SEQ ID NO: 178), и каркас VL, полученный из IGKV4-1 (SEQ ID NO: 181).

В изобретении также предложено антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, или его антигенсвязывающий участок, который содержит каркас VH, полученный из IGHV5-51 (SEQ ID NO: 179), и каркас VL, полученный из IGKV1-39 (SEQ ID NO: 182).

К антителам по изобретению, содержащим вариабельные области тяжелой или легкой цепи и "полученным из" конкретного каркаса или последовательности зародышевой линии, относятся антитела, полученные из системы, в которой применяются гены иммуноглобулина зародышевой линии человека, например, из трансгенных мышей или из библиотек фаговых дисплеев, как описано в настоящем документе. Антитело, "полученное из" конкретного каркаса или последовательности зародышевой линии, может содержать аминокислотные отличия по сравнению с последовательностью, из которой оно получено, например, вследствие возникающих в естественных условиях соматических мутаций или намерен-

ных замен.

Примеры антител-антагонистов, специфически связывающих TIM-3 и имеющих определенные каркасные последовательности VH и VL, показаны в табл. 38.

Биспецифические антитела к PD-1/TIM-3.

В изобретении также предложены биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3.

В изобретении также предложено выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем усиленную активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого повышения поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению ингибирует связывание TIM-3 с галектином-9.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению

связывает человеческий PD-1 с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

связывает PD-1 человека с KD менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

связывает PD-1 яванского макака с KD менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C; или

связывает PD-1 яванского макака с KD менее около 1 нМ;

причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого повышения поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+, а также связывает человеческий PD-1 с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого повышения поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+, а также связывает человеческий PD-1 с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого повышения поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+, а также связывает PD-1 яванского макака с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого повышения поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+, а также связывает PD-1 яванского макака с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

Описанные в настоящем документе биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению можно оценивать по их способности усиливать активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, ингибировать связывание TIM-3 с галектином-9, а кинетику связывания с PD-1 или TIM-3 человека или яванского макака можно оценивать с помощью способов, описанных в настоящем документе.

Например, в качестве маркера активации специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ можно применять CD137. Поверхностную экспрессию CD137 можно измерять на Т-клетках, культивированных в присутствии или в отсутствие исследуемого антитела, такого как биспецифическое антитело PD-1/TIM-3, с помощью антитела к CD137 и вторичного антитела, конъюгированного, например, с флуоресцентным красителем. Оценивают статистически значимое различие полученного сигнала на Т-клетках, культивированных в присутствии или в отсутствие исследуемого антитела.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261).

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261) и остатков 50-56 (DERDVNY) SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 263).

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 по изобретению связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 263) и остатков 50-56 (DERDVNY) в SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 84 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 85 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 84 соответственно и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 82, 83 и 85 соответственно и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 164, 165 и 166 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 167, 168 и 169 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 164, 165 и 166 соответственно и LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с последовательностями аминокислот SEQ ID NO: 167, 168 и 169 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 10, 13, 16, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 16, 21, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 27 и 33 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 26 и 34 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 16, 23, 28 и 35 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 36 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 27 и 37 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 23, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 17, 22, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 18, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 28 и 35 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 17, 22, 26 и 34 соответственно;
SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 12, 13, 19, 24, 26 и 38 соответственно;
SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 29 и 39 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 30 и 32 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 25, 26 и 40 соответственно;
SEQ ID NO: 11, 15, 18, 24, 26 и 32 соответственно; или
SEQ ID NO: 66, 67, 68, 69, 70 и 71 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

SEQ ID NO: 90, 99, 107, 117, 126 и 135 соответственно;
SEQ ID NO: 91, 99, 108, 118, 127 и 136 соответственно;
SEQ ID NO: 91, 99, 109, 119, 128 и 137 соответственно;
SEQ ID NO: 92, 100, 110, 117, 126 и 135 соответственно;
SEQ ID NO: 93, 101, 111, 120, 129 и 139 соответственно;

SEQ ID NO: 94, 102, 112, 121, 130 и 140 соответственно;
SEQ ID NO: 95, 103, 113, 122, 131 и 141 соответственно;
SEQ ID NO: 96, 104, 114, 123, 132 и 142 соответственно;
SEQ ID NO: 97, 105, 115, 124, 133 и 143 соответственно; или
SEQ ID NO: 98, 106, 116, 125, 134 и 144 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 63 или 64, причем VH необязательно имеет одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать консервативных аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 или 65, причем VL необязательно имеет одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать консервативных аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 63 или 64 и VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 и 65, причем VH, VL или VH и VL необязательно имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать консервативных аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154 или 172, причем VH необязательно имеет одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать консервативных аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VL с SEQ ID NO: 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163 или 173, причем VL необязательно имеет одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать консервативных аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154 или 172 и VL с SEQ ID NO: 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163 или 173, причем VH и VL необязательно имеют одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать консервативных аминокислотных замен. Необязательно любые замены не выполняются в рамках CDR.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 54.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 46 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID

NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 63 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 148 и VL с SEQ ID NO: 157.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 147 и VL с SEQ ID NO: 155.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 149 и VL с SEQ ID NO: 158.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 150 и VL с SEQ ID NO: 159.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 151 и VL с SEQ ID NO: 160.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 152 и VL с SEQ ID NO: 161.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 154 и VL с SEQ ID NO: 163.

В некоторых вариантах осуществления второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

В изобретении также предложено выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, причем первый домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно, а второй домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 91, 99, 108, 118, 127 и 136 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261).

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 связывает TIM-3 в пределах остатков 32-47 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 261) и остатков 50-56 (DERDVNY) SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 ингибирует связывание TIM-3 с галектином-9.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены F405L и/или K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замены F405L и K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P в тяжелой цепи по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит первую тяжелую цепь (HC1), первую легкую цепь (LC1), вторую тяжелую цепь (HC2) и вторую легкую цепь (LC2) с SEQ ID NO: 241, 188, 245 или 194 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 186, 188, 191 или 194 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 186, 188, 248 или 194 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 243, 188, 246 или 194 соответственно.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении солидной опухоли.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении меланомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного NSCLC.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении неплоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении аденокарциномы легкого.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении почечно-клеточной карциномы (RCC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении мезотелиомы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карциномы носоглотки (NPC).

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении колоректального рака.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении устойчивого к кастрации рака предстательной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака яичника.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака желудка.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака печени.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака поджелудочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака щитовидной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении плоскоклеточного рака головы и шеи.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении карцином пищевода или желудочно-кишечного тракта.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака молочной железы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака фаллопиевой трубы.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака головного мозга.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака уретры.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении эндометриоза.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении рака шейки матки.

Антитело приемлемо для применения в терапии, например, в лечении метастатического ракового поражения.

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который получает или получал лечение антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который получает или получал лечение антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который не поддается лечению антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который не поддается лечению антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

Антитело приемлемо для применения в терапии субъекта, который имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

В изобретении также предложено выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, причем первый домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 66, 67, 68, 69, 70 и 71 соответственно, а второй домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 97, 105, 115, 124, 133 и 143 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (WGKGACPVFECGNVVL) (SEQ ID NO: 263).

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело PD-1/TIM-3 связывает TIM-3 в пределах остатков 90-102 TIM-3 (RIQIPGIMNDEKF) (SEQ ID NO: 263) и остатков 50-56 (DERDVNY) в SEQ ID NO: 262.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело PD-1/TIM-3 ингибирует связывание TIM-3 с галектином-9.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65, а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены F405L и/или K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замены F405L и K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P в тяжелой цепи по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 187, 189, 190 и 193 соответственно.

В изобретении также предложено выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, причем первый домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 66, 67, 68, 69, 70 и 71 соответственно, а второй домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 91, 99, 108, 118, 127 и 136 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65, а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены F405L и/или K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замены F405L и K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P в тяжелой цепи по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 187, 189, 191 и 194 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело PD-1/TIM-3 содер-

жит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 242, 189, 246 и 194 соответственно. В изобретении также предложено выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, причем первый домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно, а второй домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 97, 105, 115, 124, 133 и 143 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены F405L и/или K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замены F405L и K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P в тяжелой цепи по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 186, 188, 192 и 195 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 241, 188, 244 и 195 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 243, 188, 247 и 195 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+, причем активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4+ или CD8+ оценивают посредством измерения статистически значимого усиления поверхностной экспрессии CD137 на специфичных к антигену Т-клетках CD4+ или CD8+ по способам, описанным в примере 14.

В изобретении также предложено выделенное биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, причем первый домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно, а второй домен содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 97, 105, 115, 124, 133 и 143 соответственно.

В некоторых вариантах осуществления первый домен содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, а второй домен содержит VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 156.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, который содержит замены F405L и/или K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG2, необязательно содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, необязательно содержащему замену S228P по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замены F405L и K409R.

В некоторых вариантах осуществления антитело относится к изотипу IgG4, который содержит замену S228P в тяжелой цепи по сравнению с IgG4 дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления выделенное биспецифическое антитело PD-1/TIM-3 содержит HC1, LC1, HC2 и LC2 с SEQ ID NO: 186, 188, 190 и 193 соответственно.

Примеры биспецифических антител-антагонистов PD-1/TIM-3 по изобретению, имеющих определенные последовательности VH, VL, HCDR и LCDR, показаны в табл. 4 и табл. 5.

Таблица 4

mAb	Последовательности SEQ ID NO плеча, связывающего PD-1:							
	VH	VL	HCDR			LCDR		
			1	2	3	1	2	3
PTBB14	48	56	10	14	17	23	26	32
PTBB15	48	56	10	14	17	23	26	32
PTBB16	64	65	66	67	68	69	70	71
PTBB17	64	65	66	67	68	69	70	71
PTBB24	48	56	10	14	17	23	26	32
PTBB30	48	56	10	14	17	23	26	32
PTBB27	48	56	10	14	17	23	26	32
PTBB28	48	56	10	14	17	23	26	32
PTBB18	64	65	66	67	68	69	70	71
PTBB20	48	56	10	14	17	23	26	32
PTBB21	48	56	10	14	17	23	26	32

Таблица 5

mAb	Последовательности SEQ ID NO плеча, связывающего TIM-3:							
	VH	VL	HCDR			LCDR2		
			1	2	3	1	2	3
PTBB14	153	162	97	105	115	124	133	143
PTBB15	146	156	91	99	108	118	127	136
PTBB16	153	162	97	105	115	124	133	143
PTBB17	146	156	91	99	108	118	127	136
PTBB24	172	173	97	105	115	124	133	143
PTBB30	146	156	91	99	108	118	127	136
PTBB27	172	173	97	105	115	124	133	143
PTBB28	146	156	91	99	108	118	127	136
PTBB18	146	156	91	99	108	118	127	136
PTBB20	146	156	91	99	108	118	127	136
PTBB21	172	173	97	105	115	124	133	143

Сконструированные и модифицированные антитела.

Антитела по изобретению могут быть дополнительно сконструированы с получением модифицированных антител с аналогичными или измененными свойствами по сравнению с исходными антителами. В антителах по изобретению могут быть сконструированы области VH, VL, VH и VL, константные области, каркас VH, каркас VL или любой или все из шести CDR.

Термин "антитела по изобретению", применяемый в настоящем документе, относится к антителам-антагонистам, специфически связывающим PD-1, к антителам-антагонистам, специфически связывающим TIM-3, и к биспецифическим антителам-антагонистам PD-1/TIM-3, которые содержат первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3 (например, биспецифические антитела PD-1/TIM-3), как описано в настоящем документе.

Антитела по изобретению могут быть сконструированы посредством прививания CDR. Одна или более последовательностей CDR антител по изобретению, описанных в настоящем документе, могут быть привиты на другую каркасную последовательность. Прививание CDR можно выполнить с помощью известных способов и способов, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, или биспецифические антитела PD-1/TIM-3 по изобретению содержат VH, которая содержит HDCR1 с

SEQ ID NO: 10, 11 или 12, HCDR2 с SEQ ID NO: 13, 14 или 15, HCDR3 с SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19, и VL, которая содержит LCDR1 с SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24 или 25, LCDR2 с SEQ ID NO: 26, 27, 28, 29 или 30 и/или LCDR3 с SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40, причем каркас VH получен из каркаса VH, отличного от VH1-69 (SEQ ID NO: 170), а каркас VL получен из каркаса VL, отличного от IGKV3-11 (SEQ ID NO: 171).

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, или биспецифические антитела PD-1/TIM-3 по изобретению содержат HDCR1 с SEQ ID NO: 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97 или 98, HCDR2 с SEQ ID NO: 99, 100, 101, 102, 10, 104, 105 или 106, HCDR3 с SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115 или 116 и VL, содержащую LCDR1 с SEQ ID NO: 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124 или 125, LCDR2 с SEQ ID NO: 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133 или 134 и/или LCDR3 с SEQ ID NO: 135, 136, 137, 139, 140, 141, 142, 143 или 144, причем каркас VH получен из каркаса VH генных последовательностей зародышевой линии человека, отличных от таковых в IGHV3-23 (SEQ ID NO: 174), IGHV1-02 (SEQ ID NO: 175), IGHV4-30-4 (SEQ ID NO: 176), IGHV1-03 (SEQ ID NO: 177), IGHV2-26 (SEQ ID NO: 178) или IGHV5-51 (SEQ ID NO: 179), а каркас VL получен из каркаса VL генных последовательностей зародышевой линии человека, отличных от таковых в IGKV3-20 (A27) (SEQ ID NO: 180), IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 171), IGKV4-1 (B3) (SEQ ID NO: 181), IGKV1-39 (012) (SEQ ID NO: 182) или IGKV1-33 (018) (SEQ ID NO: 183).

Применяемые каркасные последовательности могут быть получены из общедоступных баз данных ДНК или опубликованных источников, включающих в себя генные последовательности антител зародышевой линии. Например, последовательности ДНК и кодируемые белковые последовательности человеческих генов вариабельных областей легкой и тяжелой цепей зародышевой линии можно найти в международной информационной системе IMGT®, international ImMunoGeneTics information system® (http://_www-imgt_org). Каркасные последовательности, которые можно применять для замены существующих каркасных последовательностей в антителах по изобретению, могут быть такими, которые показывают наибольшую процентную идентичность с исходными каркасами по всей длине VH или VL или по длине FR1, FR2, FR3 и FR4. Кроме того, приемлемые каркасы можно дополнительно выбирать на основании VH и VL в отрезках CDR1 и CDR2 или идентичных LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1 и HCDR2 канонической структуры. Приемлемые каркасы можно выбирать с помощью известных способов, таких как адаптация для человеческого каркаса, описанная в патенте США № 8,748,356, или супергуманизация, описанная в патенте США № 7,709,226.

Каркасные последовательности исходных и сконструированных антител можно подвергать дополнительной модификации, например, посредством обратных мутаций, для восстановления и/или улучшения связывания полученного антитела с антигеном, как описано, например, в патенте США № 6,180,370. Каркасные последовательности исходных или сконструированных антител можно дополнительно подвергать модификациям посредством введения мутаций в одном или более остатках в пределах каркасной области или в пределах одной или более областей CDR для удаления Т-клеточных эпитопов и, следовательно, снижения потенциальной иммуногенности антитела. Такой подход также называют "деиммунизацией" и он более подробно описан в патентной публикации США № US20070014796.

Остатки CDR антител по изобретению могут быть мутированы для повышения аффинности антител к PD-1, TIM-3 или PD-1 и TIM-3.

Остатки CDR антител по изобретению могут быть мутированы, например, для сведения к минимуму риска посттрансляционной модификации. Аминокислотные остатки предполагаемых мотивов для дезаминирования (NS), катализированного кислотой гидролиза (DP), изомеризации (DS) или окисления (W) можно замещать любой из природных аминокислот с целью мутагенеза мотивов, и полученные антитела можно проверять на их функциональность и стабильность с применением способов, описанных в настоящем документе.

В антителах по изобретению можно выполнять замены в Fc, чтобы модулировать эффекторные функции и фармакокинетические свойства антитела. В традиционной иммунной функции взаимодействие комплексов антитело-антиген с клетками иммунной системы приводит к широкому ряду ответов в диапазоне от эффекторных функций, таких как антителозависимая цитотоксичность, дегрануляция тучных клеток и фагоцитоз, до иммуномодулирующих сигналов, таких как регулирование пролиферации лимфоцитов и секреция антител. Все из этих взаимодействий инициируются посредством связывания домена Fc антител или иммунных комплексов со специализированными рецепторами клеточной поверхности на гемопоэтических клетках. Разнообразие клеточных ответов, запускаемых антителами и иммунными комплексами, происходит от структурной гетерогенности трех рецепторов Fc: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16). FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32A) и FcγRIII (CD16) представляют собой "активирующие рецепторы Fcγ" (т.е. усиливающие иммунную систему); FcγRIIB (CD32B) представляет собой "ингибирующий рецептор Fcγ" (т.е. тормозящий иммунную систему). Связывание с рецептором FcRn модулирует период полужизни антитела.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты по изобретению содержат по меньшей мере одну замену в области Fc.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты по изобретению содержат один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или больше аминокислотных замен.

Положения в Fc, которые могут быть замещены для модуляции периода полужизни антитела, являются такими, которые, например, описаны в Dall'Acqua et al., (2006) J Biol Chem 281:23514-240; Zalevsky et al., (2010) Nat Biotechnol 28:157-159; Hinton et al., (2004) J Biol Chem 279 (8):6213-6216; Hinton et al., (2006) J Immunol 176:346-356; Shields et al. (2001) J Biol Chem 276:6591-6607; Petkova et al., (2006) Int Immunol 18:1759-1769; Datta-Mannan et al., (2007) Drug Metab Dispos 35:86-94, 2007; Vaccaro et al., (2005) Nat Biotechnol 23:1283-1288; Yeung et al., (2010) Cancer Res 70:3269-3277; Kim et al., (1999) Eur J Immunol 29: 2819, и включают в себя положения 250, 252, 253, 254, 256, 257, 307, 376, 380, 428, 434 и 435. Примерами замен, которые можно выполнять по отдельности или в комбинации, являются замены T250Q, M252Y, I253A, S254T, T256E, P257I, T307A, D376V, E380A, M428L, H433K, N434S, N434A, N434H, N434F, H435A и H435R. Примерами замен, которые можно выполнять по отдельности или в комбинации для увеличения периода полужизни антитела, являются замены M428L/N434S, M252Y/S254T/T256E, T250Q/M428L, N434A и T307A/E380A/N434A. Примерами замен, которые можно выполнять по отдельности или в комбинации для уменьшения периода полужизни антитела, являются замены H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену в положениях аминокислот 250, 252, 253, 254, 256, 257, 307, 376, 380, 428, 434 или 435.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену, которую выбирают из группы, состоящей из T250Q, M252Y, I253A, S254T, T256E, P257I, T307A, D376V, E380A, M428L, H433K, N434S, N434A, N434H, N434F, H435A и H435R.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену, которую выбирают из группы, состоящей из M428L/N434S, M252Y/S254T/T256E, T250Q/M428L, N434A, T307A/E380A/N434A, H435A, P257I/N434H, D376V/N434H, M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F, T308P/N434A и H435R.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену, которая уменьшает связывание антитела с активирующим рецептором Fcγ (FcγR) и/или уменьшает эффекторные функции Fc, такие как связывание C1q, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) или фагоцитоз (ADCP).

Положения в Fc, которые могут быть замещены для уменьшения связывания антитела с активирующим FcγR и, следовательно, для уменьшения эффекторной функции, являются такими, как, например, описанные в Shields et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-6604; международной патентной публикации № WO2011/066501, патентах США № 6,737,056 и 5,624,821; Xu et al., (2000) Cell Immunol 200:16-26; Alegre et al., (1994) Transplantation 57:1537-1543; Bolt et al., (1993) Eur J Immunol 23:403-411; Cole et al., (1999) Transplantation 68:563-571; Rother et al., (2007) Nat Biotechnol 25:1256-1264; Ghevaert et al., (2008) J Clin Invest 118:2929-2938; An et al., (2009) mAbs, 1:572-579); и включают в себя положения 214, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 265, 267, 268, 270, 295, 297, 309, 327, 328, 329, 330, 331 и 365. Примерами замен, которые можно выполнять по отдельности или в комбинации, являются замены K214T, E233P, L234V, L234A, делеция G236, V234A, F234A, L235A, G237A, P238A, P238S, D265A, S267E, H268A, H268Q, Q268A, N297A, A327Q, P329A, D270A, Q295A, V309L, A327S, L328F, A330S и P331S в IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Примерами замен в комбинациях, которые позволяют получать антитела со снижением ADCC, являются замены L234A/L235A в IgG1, V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S в IgG2, F234A/L235A в IgG4, S228P/F234A/L235A в IgG4, N297A во всех изотипах Ig, V234A/G237A в IgG2, K214T/E233P/L234V/L235A/G236-делеция/A327G/P331A/D365E/L358M в IgG1, H268Q/V309L/A330S/P331S в IgG2, S267E/L328F в IgG1, L234F/L235E/D265A в IgG1, L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S в IgG1, S228P/F234A/L235A/G237A/P238S в IgG4 и S228P/F234A/L235A/G236-делеция/G237A/P238S в IgG4. Можно также применять гибридные домены Fc IgG2/4, такие как Fc с остатками 117-260 из IgG2 и остатками 261-447 из IgG4.

Для усиления стабильности IgG4 в антителах IgG4 можно выполнять известную замену S228P.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену в по меньшей мере одном положении остатка 214, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 265, 267, 268, 270, 295, 297, 309, 327, 328, 329, 330, 331 или 365, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат по меньшей мере одну замену, которую выбирают из группы, состоящей из K214T, E233P, L234V, L234A, делеции G236, V234A, F234A, L235A, G237A, P238A, P238S, D265A, S267E, H268A, H268Q, Q268A, N297A, A327Q, P329A, D270A, Q295A, V309L, A327S, L328F, A330S и P331S, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену в по меньшей

мере одном положении остатка 228, 234, 235, 237, 238, 268, 330 или 331, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену S228P, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену V234A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену F234A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену G237A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену P238S, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену H268A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену Q268A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену A330S, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замену P331S, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замены L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S и P331S, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замены F234A, L235A, G237A, P238S и Q268A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замены L234A, L235A или L234A и L235A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замены F234A, L235A или F234A и L235A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат замены S228P, F234A и L235A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену, которая усиливает связывание антитела с рецептором Fcγ (FcγR) и/или усиливает эффекторные функции Fc, такие как связывание C1q, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC) или фагоцитоз (ADCP).

В дополнение к своей иммуномодулирующей активности антитела PD-1 или TIM-3 по изобретению могут уничтожать опухолевые клетки, экспрессирующие PD-1 и/или TIM-3, непосредственно посредством антителоопосредованных эффекторных функций, например, ADCC, ADCP или CDC.

Положения в Fc, которые могут быть замещены для увеличения связывания антитела с активирующим Fcγ и/или для усиления эффекторных функций антитела, являются такими, как, например, описанные в патенте США № 6,737,056; патентной публикации США № 2015/0259434; Shields et al., (2001) J Biol Chem 276:6591-6604; Lazar et al., (2006) Proc Natal Acad Sci 103:4005-4010; Stavenhagen et al., (2007) Cancer Res 67:8882-8890; Richards et al., (2008) Mol Cancer Ther 7:2517-2527; Diebolder et al., Science; опубликованных в сети Интернет 13 марта 2014 г.; doi:10.1126/science.1248943, и включают в себя положения 236, 239, 243, 256, 290, 292, 298, 300, 305, 312, 326, 330, 332, 333, 334, 345, 360, 339, 378, 396 или 430 (нумерация остатков соответствует каталогу EU). Примерами замен, которые можно выполнять по отдельности или в комбинации, являются G236A, S239D, F243L, T256A, K290A, R292P, S298A, Y300L, V305L, K326A, A330K, I332E, E333A, K334A, A339T и P396L. Примеры комбинаций замен, которые позволяют получать антитела с повышенными ADCC или ADCP, представляют собой замены S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L, F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L и G236A/S239D/I332E в IgG1.

Положения в Fc, которые могут быть замещены для усиления CDC антитела, представляют собой описанные, например, в международной заявке на патент WO2014/108198, Idusogie et al., (2001) J Immunol 166:2571-2575 и Moore et al., (2010) Mabs, 2:181-189, и включают в себя положения 267, 268, 324, 326, 333, 345 и 430. Примерами замен, которые можно выполнять по отдельности или в комбинации, являются замены S267E, H268F, S324T, K326A, K326W, E333A, E345K, E345Q, E345R, E345Y, E430S, E430F и E430T. Примерами комбинаций замен, которые позволяют получать антитела с уменьшением CDC, являются замены K326A/E333A, K326W/E333A, H268F/S324T, S267E/H268F, S267E/S324T и S267E/H268F/S324T в IgG1.

Термины "антителозависимая клеточная цитотоксичность", "антителозависимая клеточно-

опосредованная цитотоксичность" или "ADCC" представляют собой механизм индукции гибели клеток, который зависит от взаимодействия покрытых антителами клеток-мишеней с эффекторными клетками, обладающими литической активностью, например, клетками-естественными киллерами, моноцитами, макрофагами и нейтрофилами, посредством гамма-рецепторов Fc (FcγR), экспрессирующихся на эффекторных клетках. Например, NK-клетки экспрессируют FcγRIIIa, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIIIa. Гибель покрытых антителами клеток-мишеней, таких как PD-1- или TIM-3-экспрессирующие клетки, происходит в результате активности эффекторных клеток посредством секреции мембранных порообразующих белков и протеаз. Для оценки активности ADCC антитела по описанному в настоящем документе изобретению антитело можно добавлять к клеткам, экспрессирующим TIM-3 или PD-1, в комбинации с иммунными эффекторными клетками, которые могут активироваться комплексами антиген-антитело, что приводит к цитолизу клетки-мишени. Цитолиз можно обнаруживать по высвобождению метки (например, радиоактивных субстратов, флуоресцентных красителей или природных внутриклеточных белков) из лизированных клеток. Примеры эффекторных клеток для таких анализов включают в себя мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) и NK-клетки. Примеры клеток-мишеней включают в себя клетки, экспрессирующие TIM-3 или PD-1 либо эндогенно, либо рекомбинантно. В примере анализа клетки-мишени применяли в соотношении 1 клетка-мишень на 50 эффекторных клеток. Клетки-мишени предварительно метили BATDA (Perkin-Elmer) в течение 20 минут при 37°C, дважды промывали и ресуспендировали в среде DMEM с 10% термоинактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (FBS), 2 мМ L-глутамина (все получены от компании Invitrogen). Клетки-мишени (1×104 клеток) и эффекторные клетки (0,5×106 клеток) объединяли и добавляли по 100 мкл клеток в лунки 96-луночной планшеты с U-образным дном. Дополнительно добавляли 100 мкл с исследуемыми антителами или без них. Планшеты центрифугировали при 200 g в течение 3 минут, инкубировали при 37°C в течение 2 часов, а затем повторно центрифугировали при 200 g в течение 3 минут. Отбирали в совокупности 20 мкл супернатанта на лунку и лизис клеток измеряли посредством добавления 200 мкл реагента DELPHIA на основе европия (PerkinElmer). Данные нормализовали по максимальной цитотоксичности с 0,67% Triton X-100 (Sigma Aldrich) и минимальному контролю, который определяли по высвобождению BATDA из клеток-мишеней в отсутствие любого антитела. Антитело по изобретению может индуцировать ADCC на уровне около 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%.

"Антителозависимый клеточный фагоцитоз" (ADCP) относится к механизму уничтожения покрытых антителами клеток-мишеней посредством интернализации фагоцитарными клетками, такими как макрофаги или дендритные клетки. ADCP можно оценивать с помощью моноцитарных макрофагов в качестве эффекторных клеток и клеток Дауди (ATCC® CCL-213™) или клеток B-клеточного лейкоза, или лимфомы, или опухолевых клеток, экспрессирующих TIM-3 или PD-1, в качестве клеток-мишеней, сконструированных с целью экспрессии зеленого флуоресцентного белка (GFP) или другой меченой молекулы. Соотношение эффекторных клеток и клеток-мишеней может составлять, например, 4: 1. Эффекторные клетки можно инкубировать с клетками-мишенями в течение 4 часов с антителом по изобретению или без него. После инкубации клетки можно отделять с помощью аккутазы. Идентификацию макрофагов можно проводить с помощью антител к CD11b и к CD14, связанных с флуоресцентной меткой, а процентное значение фагоцитоза можно определять на основании % флуоресцентного GFP в макрофагах CD11+CD14+ с помощью стандартных способов. Антитело по изобретению может индуцировать ADCP на уровне около 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%.

"Комплемент-зависимая цитотоксичность", или "CDC", относится к механизму индукции гибели клеток, в рамках которого эффекторный домен Fc связанного с мишенью антитела связывает и активирует компонент комплемента C1q, который, в свою очередь, активирует каскад комплемента, приводящий к гибели клетки-мишени. Активация комплемента может также приводить к осаждению компонентов комплемента на поверхности клетки-мишени, что упрощает ADCC посредством связывания на лейкоцитах рецепторов комплемента (например, CR3). CDC для клеток, экспрессирующих TIM-3 или PD-1, может измеряться, например, посредством высевания клеток Дауди при 1×105 клеток/лунка (50 мкл/лунка) в RPMI-B (RPMI с добавлением 1% BSA), добавления 50 мкл исследуемых антител в лунки до конечной концентрации в диапазоне 0-100 мкг/мл, инкубирования реакционной смеси в течение 15 мин при комнатной температуре, добавления 11 мкл пулированной человеческой сыворотки в лунки и инкубирования реакционной смеси в течение 45 мин при 37°C. Процентное значение (%) лизированных клеток может определяться как % окрашенных пропидий йодидом клеток в анализе FACS с помощью стандартных способов. Антитела по изобретению могут индуцировать CDC на уровне около 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%.

Способность антител по описанному в настоящем документе изобретению индуцировать ADCC можно усиливать посредством конструирования их олигосахаридного компонента. IgG1 или IgG3 человека подвергаются N-гликозилированию по Asn297 большинством гликанов в известных 2-антенарных формах G0, G0F, G1, G1F, G2 или G2F. Антитела, продуцируемые несконструированными клетками

CHO, как правило, имеют содержание фукозы в гликанах около по меньшей мере 85%. Удаление центральной фукозы из олигосахаридов типа 2-антенарного комплекса, присоединенных к областям Fc, усиливает ADCC антител посредством улучшенного связывания FcγRIIIa без изменения связывания с антигеном или активности CDC. Такие mAb можно получать с помощью разных способов, которые, по имеющимся данным, приводят к успешной экспрессии антител с относительно высокой степенью дефукозилирования, несущих Fc-олигосахариды типа 2-антенарного комплекса, таких как контроль осмоляльности культуры (Konno et al., (2012) Cytotechnology 64:249-65), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии CHO Lec13 (Shields et al., (2002) J Biol Chem 277:26733-26740), применение в качестве линии клеток-хозяев вариантной линии клеток CHO EB66 (Olivier et al., MAbs;2(4), 2010; электронное издание до печатного издания; PMID: 20562582), применение гибридомной клеточной линии крысы YB2/0 в качестве линии клеток-хозяев (Shinkawa et al., (2003) J Biol Chem 278:3466-3473), встраивание малой интерферирующей РНК, специфичной к гену α-1,6-фукозилтрансферазы (FUT8) (Mori et al., (2004) Biotechnol Bioeng 88:901-908), или коэкспрессия β-1,4-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III и α-маннозидазы II комплекса Гольджи, или применение мощного ингибитора альфа-маннозидазы I, кифунензина (Ferrara et al., (2006) J Biol Chem 281:5032-5036; Ferrara et al., (2006) Biotechnol Bioeng 93:851-861; Xhou et al., (2008) Biotechnol Bioeng 99:652-65).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену, которая усиливает эффекторную функцию антитела.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену в положении аминокислот 236, 239, 243, 256, 267, 268, 290, 292, 298, 300, 305, 312, 324, 326, 330, 332, 333, 334, 345, 360, 339, 378, 396 или 430.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену, которую выбирают из группы, состоящей из G236A, S239D, F243L, T256A, K290A, R292P, S298A, Y300L, V305L, K326A, A330K, I332E, E333A, K334A, A339T, P396L, S267E, H268F, S324T, K326A, K326W, E333A, E345K, E345Q, E345R, E345Y, E430S, E430F и E430T.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению содержат в Fc антитела по меньшей мере одну замену, которую выбирают из группы, состоящей из S239D/I332E, S298A/E333A/K334A, F243L/R292P/Y300L, F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L, G236A/S239D/I332E, K326A/E333A, K326W/E333A, H268F/S324T, S267E/H268F, S267E/S324T и S267E/H268F/S324T.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению имеют 2-антенарную структуру гликана с содержанием фукозы от около 0% до около 15%, например, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или 0%.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению имеют 2-антенарную структуру гликана с содержанием фукозы около 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или 0%.

Замены в Fc и сниженное содержание фукозы могут усиливать активность ADCC антител-антагонистов, специфически связывающих TIM-3 или PD-1, по изобретению. Антитела TIM-3 или PD-1 с усиленной активностью ADCC, ADCP и/или CDC можно использовать в лечении пациентов с опухолями, экспрессирующими TIM-3 и/или PD-1, включая злокачественные заболевания крови.

Термин "содержание фукозы" означает количество моносахарида фукозы в пределах сахаридной цепи в положении Asn297. Относительное количество фукозы представляет собой процентное содержание фукозосодержащих структур, относящихся ко всем гликоструктурам. Они могут быть охарактеризованы и количественно определены множеством способов, например: 1) с применением метода частоты оборота матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF) в пробе, обработанной N-гликозидазой F (например, в комплексных, гибридных, олиго- и высокоманнозных структурах), как описано в международной патентной публикации № WO2008/077546; 2) посредством ферментативного высвобождения гликанов Asn297 с последующей дериватизацией и обнаружением/количественным определением с помощью ВЭЖХ (СВЭЖХ) с флуоресцентным обнаружением и/или ВЭЖХ-МС (СВЭЖХ-МС); 3) анализа интактного белка нативного или восстановленного mAb с обработкой или без обработки гликанов Asn297 ферментом Endo S или другим ферментом, который расщепляет связь между первым и вторым моносахаридами GlcNAc, сохраняя фукозу присоединенной к первому GlcNAc; 4) расщепления mAb на составляющие пептиды посредством ферментативного расщепления (например, трипсином или эндопептидазой Lys-C) и последующим разделением, обнаружением и количественным определением посредством ВЭЖХ-МС (СВЭЖХ-МС); или 5) отделения олигосахаридов mAb от белка mAb на Asn 297 посредством специфического ферментативного дегликозилирования с помощью PNGase F. Высвобожденные олигосахариды можно метить флуорофором, разделять и идентифицировать различными вспомогательными методиками, которые позволяют точно охарактеризовать структуры гликанов посредством масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI) посредством сравнения экспериментальных масс с теоретическими массами, определить степень сиалилирования с помощью ионообменной ВЭЖХ (GlycoSep C), разделить и количественно оценить формы олигосаха-

ридов по критерию гидрофильности с помощью ВЭЖХ с обычной фазой (GlycoSep N), а также разделить и количественно оценить формы олигосахаридов с помощью высокоэффективного капиллярного электрофореза с лазер-индуцированной флуоресценцией (HPCE-LIF).

Термины "низкофукозный" или "с низким содержанием фукозы" относятся к антителам с содержанием фукозы около 0-15%.

Выражения "нормофукозный" или "с нормальным содержанием фукозы" относятся к антителам с содержанием фукозы более около 50%, как правило, более около 60%, 70%, 80% или более 85%.

Антитела по изобретению могут быть модифицированы посттрансляционно в рамках процессов, таких как гликозилирование, изомеризация, дегликозилирование или ковалентная модификация неприродного происхождения, такая как присоединение фрагментов полиэтиленгликоля (пегилирование) или липидизация. Такие модификации могут выполняться in vivo или in vitro. Например, антитела по изобретению, описанные в настоящем документе, можно конъюгировать с полиэтиленгликолем (пегилировать) для усовершенствования их фармакокинетических профилей. Конъюгация может быть выполнена методиками, известными специалистам в данной области. Показано, что конъюгация терапевтических антител с ПЭГ улучшает фармакодинамику, в то же время не влияя на функции (Knigh et al., (2004) Platelets 15:409-18; Leong et al., (2001) Cytokine 16:106-19; Yang et al., (2003) Protein Eng 16:761-70).

Антитела по изобретению могут быть модифицированы с целью улучшения стабильности, селективности, перекрестной реактивности, аффинности, иммуногенности или достижения других желательных биологических или биофизических свойств, что также находится в рамках объема изобретения. На стабильность антитела влияет ряд факторов, включая (1) внутреннюю укладку отдельных доменов, влияющую на их собственную стабильность; (2) поверхностные взаимодействия белок/белок, влияющие на объединение в пары HC и LC; (3) глубину расположения полярных и заряженных остатков; (4) сеть Н-мостиков между полярными и заряженными остатками; и (5) поверхностный заряд и распределение полярных остатков наряду с другими внутри- и межмолекулярными взаимодействиями (Worn et al., (2001) J Mol Biol 305:989-1010). Остатки, способные дестабилизировать структуру, можно выявить на основании кристаллической структуры антитела или в определенных случаях путем молекулярного моделирования, а влияние остатков на стабильность антитела можно исследовать путем создания и оценки вариантов, содержащих мутации в выявленных остатках. Один из способов повышения стабильности антитела заключается в увеличении средней температуры перехода (Tm), измеряемой с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC). Как правило, Tm белка имеет положительную корреляцию с его стабильностью и отрицательную корреляцию с его подверженностью нарушениям третичной структуры и денатурации в растворах, а также деградации, которая зависит от склонности белка к нарушению третичной структуры (Remmele et al (2000) Biopharm 13:36-46). В ряде исследований была установлена корреляция между степенью физической стабильности составов, измеренной как термостабильность с помощью DSC, и измерениями физической стабильности, проведенными другими способами (Gupta et al., (2003) AAPS PharmSci 5E8; Zhang et al., (2004) J Pharm Sci 93:3076-89; Maa et al., (1996) Int J Pharm 140:155-68; Bedu-Addo et al., (2004) Pharm Res 21:1353-61; Remmele et al., (1997) Pharm Res 15:200-8). Результаты исследований состава позволяют предположить, что Tm Fab влияет на долговременную физическую стабильность соответствующего моноклонального антитела (mAb).

Циркулирующие эндогенные карбоксипептидазы могут удалять С-концевой лизин (CTL) из введенных антител (Cai et al., (2011) Biotechnol Bioeng 108:404-412). Удаление CTL во время изготовления можно контролировать на уровне менее максимального посредством контроля концентрации внеклеточного Zn2+, ЭДТА или ЭДТА-Fe3+, как описано в патентной публикации США № US20140273092. Содержание CTL в антителах можно измерять с помощью известных способов.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению имеют содержание С-концевого лизина от около 10% до около 90%, от около 20% до около 80%, от около 40% до около 70%, от около 55% до около 70% или около 60%.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению имеют содержание С-концевого лизина около 0%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%.

Способы создания гомологичных антител, антител с консервативными модификациями, а также сконструированных и модифицированных антител.

Антитела по изобретению, которые имеют измененные аминокислотные последовательности по сравнению с исходными антителами, можно создать с помощью стандартных технологий клонирования и экспрессии. Например, можно выполнять направленный точечный мутагенез или ПЦР-опосредованный мутагенез с целью встраивания мутации(й), а влияние на связывание антитела или на другое целевое функциональное свойство можно оценивать известными способами и способами, описанными в примерах в настоящем документе.

Аллотипы антител.

Антитело по изобретению может относиться к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитело по изобретению относится к изотипу IgG1.

В некоторых вариантах осуществления антитело по изобретению относится к изотипу IgG2.

В некоторых вариантах осуществления антитело по изобретению относится к изотипу IgG3.

В некоторых вариантах осуществления антитело по изобретению относится к изотипу IgG4.

Иммуногенность терапевтических антител связана с повышенным риском реакций на инфузию и сниженной длительностью терапевтического ответа (Baert et al., (2003) N Engl J Med 348:602-08). Степень, с которой терапевтические антитела индуцируют иммунный ответ в организме-хозяине, отчасти может определяться аллотипом антитела (Stickler et al., (2011) Genes and Immunity 12:213-21). Аллотип антитела связан с вариациями аминокислотной последовательности в конкретных положениях в последовательностях константных областей антитела.

В табл. 6 показаны выбранные аллотипы IgG1, IgG2 и IgG4.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению относятся к аллотипу G2m(n), G2m(n-), G2m(n)/(n-), nG4m(a), G1m(17) или G1m(17,1).

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению относятся к аллотипу G2m(n), G2m(n-), G2m(n)/(n-), nG4m(a), G1m(17) или G1m(17,1).

В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела PD-1/TIM-3 по изобретению относятся к аллотипу G2m(n), G2m(n-), G2m(n)/(n-), nG4m(a), G1m(17) или G1m(17,l).

Таблица 6

Аллотип	Аминокислотный остаток в положении различия							
	(нумерация остатков: по каталогу EU)							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n-)	P	V						
G2m(n)/(n-)	T	V						
nG4m(a)			L	R				
G1m(17)					K	E	M	A
G1m(17,1)					K	D	L	A

Антиидиотипические антитела.

В настоящем изобретении предложено антиидиотипическое антитело, связывающееся с антителом по изобретению.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающееся с антителом к PD-1 по изобретению.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 50.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 51.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 52.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 53.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 49.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 54.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 50.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 55.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 56.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 57.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 49.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 49.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 46 и VL с SEQ ID NO: 49.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 49.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 53.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 52.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 59.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 61.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 62.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 63 и VL с SEQ ID NO: 65.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, по изобретению.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 148 и VL с SEQ ID NO: 157.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 147 и VL с SEQ ID NO: 155.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 149 и VL с SEQ ID NO: 158.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 150 и VL с SEQ ID NO: 159.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 151 и VL с SEQ ID NO: 160.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 152 и VL с SEQ ID NO: 161.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 154 и VL с SEQ ID NO: 163.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, которое содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, которое содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В изобретении также предложено антиидиотипическое антитело, специфически связывающее антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления антиидиотипическое антитело применяется для обнаружения уровня терапевтических антител (например, антител к PD-1, к TIM-3 или биспецифических антител PD-1/TIM-3 по изобретению, описанных в настоящем документе) в пробе.

Антиидиотипическое (Id) антитело представляет собой антитело, распознающее антигенные детерминанты (например, паратоп или CDR) антитела. Id-антитело может быть блокирующим или неблокирующим антиген. С помощью блокирующего антиген Id можно обнаруживать свободное антитело в пробе (например, антитело к PD-1, к TIM-3 или биспецифическое антитело PD-1/TIM-3 по изобретению, описанное в настоящем документе). Неблокирующее Id-антитело можно применять для обнаружения всех антител (свободных, частично связанных с антигеном или полностью связанных с антигеном) в пробе. Id-антитело можно готовить посредством иммунизации животного антителом, для которого готовят анти-Id-антитело.

Анти-Id-антитело также можно применять в качестве иммуногена для индукции иммунного ответа

у еще одного животного, получая так называемое анти-анти-Id-антитело. Анти-анти-Id-антитело может быть эпитопно идентичным первоначальному mAb, которое индуцировало анти-Id. Таким образом, применяя антитела к идиотипическим детерминантам mAb, можно выявлять другие клоны, экспрессирующие антитела идентичной специфичности. Антитела анти-Id можно подвергать вариациям (таким образом получая варианты антитела анти-Id) и/или получению производных любой приемлемой методикой из тех, что описаны в других разделах настоящего документа в отношении антител, специфически связывающих PD-1 или TIM-3 или биспецифических антител PD-1/TIM-3.

Иммуноконъюгаты.

Термин "иммуноконъюгат" означает антитело по изобретению, конъюгированное с одной или более гетерологичными молекулами.

В некоторых вариантах осуществления антитело по изобретению конъюгировано с одним или более цитотоксическими агентами или визуализирующими агентами.

Примеры цитотоксических агентов включают в себя химиотерапевтические агенты или лекарственные средства, ингибирующие рост агенты, токсины (например, белковые токсины, ферментативно-активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или их фрагменты) и радионуклиды.

Цитотоксический агент может представлять собой одно или более лекарственных средств, таких как майтанзиноид (см., например, патенты США № 5,208,020, 5,416,06), ауристатин, например, монометилауристатиновые функциональные группы DE и DF (MMAE и MMAF) лекарственных средств (см., например, патенты США № 5,635,483, 5,780,588 и 7,498,298), доластатин, калихеамицин или их производные (см., например, патенты США № 5,712,374, 5,714,586, 5,739,116, 5,767,285, 5,770,701, 5,770,710, 5,773,001 и 5,877,296; Hinman et al., (1993) Cancer Res 53:3336-3342 и Lode et al., (1998) Cancer Res 58:2925-2928); антрациклин, такой как дауномицин или доксорубицин (см., например, Kratz et al., (2006) Current Med. Chem 13:477-523; Jeffrey et al., (2006) Bioorganic & Med Chem Letters 16:358-362; Torgov et al., (2005) Bioconj Chem 16:717-721; Nagy et al., (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97:829-834; Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12: 1529-1532 (2002); King et al., (2002) J Med Chem 45:4336-4343 и патент США № 6,630,579), метотрексат, виндезин, таксан, такой как доцетаксел, паклитаксел, ларотаксел, тезетаксел и ортатаксел.

Цитотоксический агент может также представлять собой ферментативно-активный токсин или его фрагмент, такой как А-цепь дифтерии, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (из Pseudomonas aeruginosa), А-цепь рицина, А-цепь модекцина, альфа-сарцин, белки Aleurites fordii, диантины, белки Phytolacca americana (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор Momordica charantia, курцин, кротин, ингибитор Sapaonaria officinalis, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены.

Цитотоксический агент или визуализирующий агент может также представлять собой радионуклид. Примеры радионуклидов включают в себя Ac-225, At-211, I-131, 1-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32, Pb-212 и радиоактивные изотопы Lu. При применении для обнаружения радиоконъюгата он может содержать радиоактивный атом для сцинтиграфических исследований, например, Tc-99m или I-123, или спиновую метку для визуализации с использованием ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (также известна как магнитно-резонансная томография (МРТ)), например, I-123, I-131, In-111, F-19, C-13, N-15 или O-17.

Конъюгаты антител по изобретению и гетерологичных молекул могут быть получены с применением разнообразных бифункциональных агентов сочетания белков, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол)пропионат (SPDP), сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), иминотиолан (IT), бифункциональные производные сложных имидоэфиров (таких как диметиладипимидат HQ), активных сложных эфиров (таких как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидных соединений (таких как бис-(п-азидобензоил)гександиамин), производных бис-диазония (таких как бис-(п-диазонийбензоил)этилендиамин), диизоцианатов (таких как толуол-2,6-диизоцианат) и бис-активных соединений фтора (таких как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, иммунотоксин рицин можно готовить так, как описано в Vitetta et al., (1987) Science 238: 1098. Меченный углеродом-14 l-изотиоцианатобензил-3-метилдиэтилентриаминпентауксусная кислота (MX-DTPA) является примером хелатирующего агента для конъюгации радионуклида с антителом. См., например, W094/11026. Линкер может представлять собой "отщепляемый линкер", способствующий высвобождению цитотоксического лекарственного средства в клетке. Например, можно применять кислотонеустойчивый линкер, чувствительный к пептидазам линкер, фотолабильный линкер, диметиловый линкер или дисульфид-содержащий линкер (Chari et al., (1992) Cancer Res 52: 127-131; патент США № 5,208,020).

Конъюгаты антител по изобретению и гетерологичной молекулы можно готовить с помощью перекрестно-сшивающих реагентов, таких как BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC, сульфо- SMPB и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат), которые доступны в продаже (например, от компании Pierce Biotechnology, Inc., г. Рокфорд, штат Иллинойс, США).

В изобретении также предложен иммуноконъюгат, который содержит антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, по изобретению, сцепленное с терапевтическим агентом или визуализирующим агентом.

В изобретении также предложен иммуноконъюгат, который содержит антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, по изобретению, сцепленное с терапевтическим агентом или визуализирующим агентом.

В изобретении также предложен иммуноконъюгат, который содержит биспецифическое антитело PD-1/TIM-3 по изобретению, связанное с терапевтическим агентом или визуализирующим агентом.

Создание моноспецифических антител по изобретению.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению являются человеческими.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению являются гуманизированными.

Моноспецифические антитела по изобретению, описанные в настоящем документе (например, антитела, специфически связывающие PD-1 или TIM-3), можно создавать с применением разнообразных технологий. Например, для создания моноклональных антител можно применять способ гибридом по Kohler and Milstein, Nature 256:495, 1975. В способе гибридом мышь или другое животное-хозяина, например, хомяка, крысу или обезьяну, иммунизируют PD-1 или TIM-3 человека или яванского макака либо фрагментами PD-1 или TIM-3, такими как внеклеточные домены PD-1 или TIM-3, с последующим слиянием спленоцитов от иммунизированных животных с клетками миеломы с применением стандартных способов с образованием клеток гибридомы (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Колонии, возникающие из одиночных клеток иммортализованной гибридомы, подвергают скринингу на основании продукции антител с желательными свойствами, такими как специфичность связывания, перекрестная реактивность или ее отсутствие и аффинность к антигену.

Для получения антител по изобретению можно применять разнообразных животных-хозяев. Например, для создания мышиных антител к человеческому PD-1 или TIM-3 можно применять мышей Balb/c. Антитела, полученные от мышей линии Balb/c и от других животных, отличных от человека, могут быть гуманизированы с применением разнообразных технологий для создания последовательностей, имеющих большее сходство с человеческими последовательностями.

Примеры методик гуманизации, включающих в себя отбор человеческих акцепторных каркасов, известны и включают в себя прививание CDR (патент США № 5,225,539), прививание SDR (патент США № 6,818,749), изменение поверхности (Padlan, (1991) Mol Immunol 28:489-499), изменение поверхности определяющих специфичность остатков (патентная публикация США № 2010/0261620), адаптацию человеческого каркаса (патент США № 8,748,356) или супергуманизацию (патент США № 7,709, 226). В этих способах CDR исходных антител переносят на человеческие каркасы, которые можно выбирать на основании их общей гомологии с исходными каркасами, на основании сходства длины CDR или идентичности канонической структуры либо их комбинации.

Гуманизированные антитела могут быть дополнительно оптимизированы с улучшением их селективности или аффинности к желательному антигену посредством включения измененных остатков, поддерживающих каркас, с сохранением аффинности связывания (обратных мутаций) такими методиками, которые описаны в международных патентных публикациях № WO1090/007861 и WO1992/22653, или посредством встраивания вариации в любую из CDR, например, для улучшения аффинности антитела.

Для получения человеческих антител против белка-мишени можно применять трансгенных животных, несущих в своем геноме локусы иммуноглобулинов (Ig) человека, таких как мыши или крысы, которые описаны, например, в патенте США № 6,150,584, международной патентной публикации № WO99/45962, международных патентных публикациях № WO2002/066630, WO2002/43478, WO2002/043478 и WO1990/04036; Lonberg et al (1994) Nature 368:856-9; Green et al. (1994) Nature Genet. 7:13-21; Green & Jakobovits (1998) Exp. Med. 188:483-95; Lonberg and Huszar (1995) Int Rev Immunol 13:65-93; Bruggemann et al., (1991) Eur J Immunol 21:1323-1326; Fishwild et al., (1996) Nat Biotechnol 14:845-851; Mendez et al., (1997) Nat Genet 15:146-156; Green (1999) J Immunol Methods 231:11-23; Yang et al., (1999) Cancer Res 59:1236-1243; Büggemann and Taussig (1997) Curr Opin Biotechnol 8:455-458. Эндогенные локусы иммуноглобулинов у таких животных можно разорвать или удалить, и в геном животного можно встроить по меньшей мере один полный или частичный локус иммуноглобулина человека посредством гомологичной или негомологичной рекомбинации, с применением трансхромосом или с применением минигенов. Для получения человеческих антител, направленных против выбранного антигена, с применением описанной выше технологии можно привлекать такие компании, как Regeneron (http://_www_regeneron_com), Harbour Antibodies (http://_www_harbourantibodies_com), Open Monoclonal Technology, Inc. (OMT) (http://_www_omtinc_net), KyMab (http://_www_kymab_com), Trianni (http://_www.trianni_com) и Ablexis (http://_www_ablexis_com).

Человеческие антитела можно выбирать из библиотеки фагового дисплея, причем фаг сконструирован с возможностью экспрессии человеческих иммуноглобулинов или их участков, таких как Fab, одноцепочечные антитела (scFv) или неспаренные либо спаренные вариабельные области антител (Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57-86; Krebs et al., (2001) J Immunol Meth 254:67-84; Vaughan et al., (1996) Nature Biotechnology 14:309-314; Sheets et al., (1998) PITAS (USA) 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter (1991) J

Mol Biol 227:381; Marks et al., (1991) J Mol Biol 222:581). Антитела по изобретению могут быть выделены, например, из библиотеки фагового дисплея, экспрессирующей вариабельные области тяжелой и легкой цепей антитела в виде гибридных белков с белком оболочки бактериофага pIX, как описано в публикации Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385-96 и в международной патентной публикации № WO09/085462). В библиотеках можно проводить скрининг на связывание фагов с PD-1 или TIM-3 человека и/или яванского макака, и полученные положительные клоны могут быть дополнительно охарактеризованы; из лизатов клонов могут быть выделены Fab и экспрессированы в виде полноразмерных IgG. Такие способы использования фагового дисплея для выделения человеческих антител описаны, например, в патентах США № 5,223,409, 5,403,484, 5,571,698, 5,427,908, 5,580,717, 5,969,108, 6,172,197, 5,885,793; 6,521,404; 6,544,731; 6,555,313; 6,582,915 и 6,593,081.

Подготовка иммуногенных антигенов и продукция моноклональных антител могут быть выполнены с применением любой приемлемой методики, такой как продукция рекомбинантного белка. Иммуногенные антигены можно вводить животным в форме очищенного белка или белковых смесей, включающих в себя цельные клетки или клеточные либо тканевые экстракты, или антиген может быть образован de novo в организме животного из нуклеиновых кислот, кодирующих указанный антиген или его участок.

Создание биспецифических антител PD-1/TIM-3 по изобретению.

Биспецифические антитела PD-1/TIM-3 по изобретению (например, биспецифические антитела, которые содержат первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3) можно создавать посредством комбинирования связывающих PD-1 доменов VH/VL и связывающих TIM-3 доменов VH/VL, выделенных и охарактеризованных в настоящем документе. Альтернативно биспецифические антитела PD-1/TIM-3 можно конструировать с применением доменов VH/VL из доступных в открытых источниках моноспецифических антител к PD-1 и к TIM-3 и/или посредством соединения связывающих PD-1 или TIM-3 доменов VH/VL, указанных в настоящем документе, с доступными в открытых источниках связывающими PD-1 или TIM-3 доменами VH/VL.

Примерами антител к PD-1, которые можно применять для конструирования биспецифических молекул PD-1/TIM-3, являются, например, описанные в патентах США № 5,897,862 и 7,488,802, и международных патентных публикациях № WO2004/004771, WO2004/056875, WO2006/121168, WO2008/156712, WO2010/029435, WO2010/036959, WO2011/110604, WO2012/145493, WO2014/194302, WO2014/206107, WO2015/036394, WO2015/035606, WO2015/085847, WO2015/112900 и WO2015/112805. Например, можно применять домены VH/VL из KEYTRUDA® (пембролизумаб) и OPDIVO® (ниволумаб). Эти домены VH/VL PD-1 можно встраивать в биспецифические антитела, которые содержат связывающие TIM-3 домены VH/VL, описанные в настоящем документе и в табл. 3. Например, домены VH/VL антител TIM-3 TM3B103, TM3B105, TM3B107, TM3B108, TM3B109, TM3B113, TM3B189, TM3B190 и TM3B196, описанных в настоящем документе, можно применять для создания биспецифических антител PD-1/TIM-3.

Аналогичным образом, примерами антител к TIM-3, которые можно применять для конструирования биспецифических молекул PD-1/TIM-3, являются, например, описанные в международных патентных публикациях № WO2011/155607, WO2013/006490 и WO2015/117002. Эти домены VH/VL TIM-3 можно встраивать в биспецифические антитела, которые содержат связывающие PD-1 домены VH/VL, описанные в настоящем документе и в табл. 2. Например, домены VH/VL антител PD-1 PD1B114, PD1B149, PD1B160, PD1B162, PD1B164, PD1B11, PD1B183, PD1B184, PD1B185, PD1B187, PD1B192, PD1B71, PD1B177, PD1B70, PD1B175, PD1B194, PD1B195, PD1B196, PD1B197, PD1B198, PD1B199, PD1B200, PD1B201, PD1B131 и PD1B132, описанных в настоящем документе, можно применять для создания биспецифических антител PD-1/TIM-3.

Созданные биспецифические антитела PD-1/TIM-3 можно исследовать на их связывание с PD-1 и TIM-3, а также на их желательные функциональные характеристики, такие как усиление активации специфичных к антигену Т-клеток CD4+ и CD4+, с помощью способов, описанных в настоящем документе.

Биспецифические антитела по изобретению содержат антитела, имеющие полноразмерную структуру антитела.

Полноразмерные биспецифические антитела можно создавать, например, посредством обмена Fab-плечами (например, посредством обмена полумолекулами, обмена пары тяжелая цепь - легкая цепь) между двумя моноспецифическими двухвалентными антителами, встраивая в CH3-интерфейс тяжелой цепи в каждой полумолекуле мутации, способствующие образованию гетеродимера из двух полумолекул антител, имеющих разную специфичность, либо in vitro в бесклеточной среде, либо с применением коэкспрессии. Реакция обмена Fab-плечами является результатом реакции изомеризации дисульфидной связи и диссоциации-ассоциации CH3-доменов. Восстанавливаются дисульфидные связи тяжелых цепей в шарнирных областях исходных моноспецифических антител. Полученные свободные цистеины одного из исходных моноспецифических антител образуют дисульфидную связь тяжелых цепей с цистеиновыми остатками второй молекулы исходного моноспецифического антитела и одновременно CH3-домены исходных антител высвобождаются и происходит переформирование путем диссоциации-ассоциации. CH3-домены Fab-плеч можно сконструировать так, чтобы они способствовали гетеродимеризации, а не

гомодимеризации. Полученный продукт представляет собой биспецифическое антитело, имеющее два Fab-плеча или полумолекулы, каждое из которых связывается с отдельным эпитопом. В случае антител IgG1 можно применять мутации F405L в одной тяжелой цепи и K409R в другой тяжелой цепи. Для антител IgG2 можно применять IgG2 дикого типа и антитело IgG2 с заменами F405L и R409K. Для создания биспецифических антител конструируют первое моноспецифическое двухвалентное антитело и второе моноспецифическое двухвалентное антитело так, чтобы в области Fc они имели мутацию F405L или K409R; антитела инкубируют вместе в восстанавливающих условиях, достаточных для того, чтобы остатки цистеина в шарнирных областях могли подвергаться изомеризации дисульфидной связи; таким образом получают биспецифическое антитело в результате обмена Fab-плечами. Условия инкубации могут быть оптимально возвращены до невосстанавливающих. Примерами восстанавливающих агентов, которые могут применяться, являются 2-меркаптоэтиламин (2-MEA), дитиотреитол (DTT), дитиоэритритол (DTE), глутатион, трис(2-карбоксиэтил)фосфин (TCEP), L-цистеин и бета-меркаптоэтанол. Например, можно применять инкубацию в течение по меньшей мере 90 мин при температуре по меньшей мере 20°C в присутствии по меньшей мере 25 мМ 2-MEA или в присутствии по меньшей мере 0,5 мМ дитиотреитола при pH от 5 до 8, например, при pH 7,0 или при pH 7,4.

Биспецифические антитела можно также получать с таких применением конфигураций, как "выступ во впадину" (Genentech), CrossMAb (Roche) и электростатическое соответствие (Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed), LUZ-Y (Genentech), доменное антитело, сконструированное посредством обмена цепей (SEEDbody) (EMD Serono) и Biclonic (Merus).

Для получения полноразмерных биспецифических антител можно применять стратегию "выступ во впадину" (см., например, международную публикацию № WO 2006/028936). Вкратце, выбранные аминокислоты, образующие интерфейс между CH3-доменами в человеческом IgG, можно подвергать мутации в положениях, влияющих на взаимодействия CH3-доменов, стимулируя образование гетеродимера. Аминокислоту с короткой боковой цепью (впадина) встраивают в тяжелую цепь антитела, которое специфически связывается с первым антигеном, а аминокислоту с длинной боковой цепью (выступ) встраивают в тяжелую цепь антитела, которое специфически связывается со вторым антигеном. После коэкспрессии двух антител в результате предпочтительного взаимодействия тяжелой цепи с "впадиной" и тяжелой цепи с "выступом" образуется гетеродимер. Примерами пар замен в CH3, образующих выступ и впадину, являются следующие (указаны как модифицированное положение в первом CH3-домене первой тяжелой цепи/модифицированное положение во втором CH3-домене второй тяжелой цепи): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S и T36 6W/T36 6S_L368A_Y407V.

Для получения полноразмерных биспецифических антител по изобретению можно применять технологию CrossMAb. Антитела CrossMAb, дополнительно к использованию стратегии обмена Fab-плечами в промоторе по типу "выступ во впадину", имеют в одной из половин плеч обмен доменами CH1 и CL для обеспечения правильного объединения в пары легкой цепи полученного биспецифического антитела (см., например, патент США № 8,242,247).

Для получения полноразмерных биспецифических антител по изобретению могут применяться другие стратегии перенаправления посредством обмена вариабельного или константного или обоих доменов между тяжелой цепью и легкой цепью или внутри тяжелой цепи в биспецифических антителах (либо в одном, либо в обоих плечах). Такие обмены включают в себя, например, обмены VH-CH1 с VL-CL, VH с VL, CH3 с CL и CH3 с CH1, как описано в патентных публикациях № WO2009/080254, WO2009/080251, WO2009/018386 и WO2009/080252.

Можно применять другие стратегии, такие как стимулирование гетеродимеризации тяжелых цепей с применением электростатических взаимодействий посредством введения замен положительно заряженных остатков на одной поверхности CH3 и отрицательно заряженных остатков на другой поверхности CH3, как описано в патентной публикации США № US2010/0015133; патентной публикации США № US2009/0182127; патентной публикации США № US2010/028637 или патентной публикации США № US2011/0123532. В других стратегиях гетеродимеризацию можно стимулировать посредством следующих замен (указаны модифицированные положения в первом CH3-домене первой тяжелой цепи/модифицированное положение во втором CH3-домене второй тяжелой цепи): L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T36 6A_K409F, L351Y_Y407A/T36 6V_K409F, Y407A/T366A_K409F или T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W, как описано в патентной публикации США № US2012/0149876 или патентной публикации США № US2013/0195849.

Для получения биспецифических антител по изобретению можно использовать технологию LUZ-Y. В этой технологии к C-концам CH3-доменов присоединяют последовательность типа лейциновой застежки для управления сборкой гетеродимера из исходных mAb, которую удаляют после очистки, как описано Wranik et al., (2012) J Biol Chem 287(52): 42221-9.

Для получения биспецифических антител по изобретению можно использовать технологию SEEDbody. Для стимуляции гетеродимеризации антитела SEEDbody в своих константных доменах имеют замену выбранных остатков IgG остатками IgA, как описано в патенте США № US20070287170.

Как правило, мутации получают на уровне ДНК в молекуле, такой как константный домен антитела, с помощью стандартных способов.

Антитела по изобретению могут быть сконструированы в разнообразных известных форматах антител.

В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела включают в себя рекомбинантные IgG-подобные молекулы с двойным нацеливанием, причем каждая из двух сторон молекулы содержит Fab-фрагмент или участок Fab-фрагмента по меньшей мере двух разных антител; слитые молекулы IgG, в которых полноразмерные антитела IgG слиты с дополнительным Fab-фрагментом или участками Fab-фрагмента; слитые молекулы Fc, в которых одноцепочечные молекулы Fv или стабилизированные диатела слиты с константными доменами тяжелой цепи, областями Fc или их частями; слитые молекулы Fab, в которых разные Fab-фрагменты слиты друг с другом; антитела из тяжелых цепей на основе ScFv и диател (например, доменные антитела, нанотела), в которых разные одноцепочечные молекулы Fv, или разные диатела, или разные антитела из тяжелых цепей (например, доменные антитела, нанотела) слиты друг с другом, или с другим белком, или с молекулой-носителем.

Полинуклеотиды, векторы и клетки-хозяева.

В изобретении также предложено антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, TIM-3 или PD-1 и TIM-3, имеющее определенные последовательности VH и VL, причем VH антитела кодируется первым полинуклеотидом, а VL антитела кодируется вторым полинуклеотидом. Полинуклеотид может быть комплементарной дезоксирибонуклеиновой кислотой (кДНК) и может иметь оптимизированные кодоны для экспрессии в приемлемом хозяине. Известной технологией является оптимизация по кодонам.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH антитела по изобретению, VL антитела по изобретению, тяжелую цепь антитела по изобретению или легкую цепь антитела по изобретению.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, который кодирует VH, VL или VH и VL антитела-антагониста, специфически связывающего PD-1, по изобретению.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 63 или 64.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 или 65.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202 или 203.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, который кодирует VH, VL или VH и VL антитела-антагониста, специфически связывающего TIM-3, по изобретению.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VH с SEQ ID NO: 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154 или 172.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий VL с SEQ ID NO: 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163 или 173.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210 или 211.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, который кодирует HC1, LC1, HC2 или LC2 биспецифического антитела-антагониста PD-1/TIM-3 по изобретению.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий HC1 с SEQ ID NO: 186, 187, 241, 242 или 243.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий LC1 с SEQ ID NO: 188 или 189.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий HC2 с SEQ ID NO: 190, 191, 192, 244, 245, 246, 247 или 248.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий LC2 с SEQ ID NO: 193, 194 или 195.

В изобретении также предложен выделенный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность с SEQ ID NO: 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259 и 260.

SEQ ID NO: 196 (PD1H170)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGT
GAGCTGCAAAGCGAGCGGCGGCACCTTTAGCAGCTATGCGATTAGCTGGGTGCGCCAGGCGCCG
GGCCAGGGCCTGGAATGGATGGGCGGCATTATTCCGATTTTTGACACCGCGAACTATGCGCAGA
AATTTCAGGGCCGCGTGACCATTACCGCGGATGAAAGCACCAGCACCGCGTATATGGAACTGAG
CAGCCTGCGCAGCGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCCCTGGTCTCGCTGCGGCTTAT
GATACTGGTTCCTTGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

SEQ ID NO: 197 (PD1L148)

GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGAACGCGCGAC
CCTGAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCGTTCGCTCCTACCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCGGGC
CAGGCGCCGCGCCTGCTGATCTACGACGCGAGCAATCGTGCGACCGGCATTCCGGCGCGCTTTA
GCGGCTCCGGTAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCGGAAGATTTTGC
GGTGTATTATTGCCAGCAACGTAATTATTGGCCGCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGAA
ATTAAA

SEQ ID NO: 198 (PD1H129)

GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT
GAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCGCCTTCAGCAGATACGACATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCCT
GGCAAAGGACTGGAAAGCGTGGCCTACATCTCTGGCGGAGGCGCCAACACCTACTACCTGGACA
ACGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAA
CTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCTCCCCCTACCTGAGCTACTTCGAC
GTGTGGGGCCAGGGCACACTCGTGACCGTGTCATCT

SEQ ID NO: 199 (PD1L62)

GAGATCGTGATGACCCAGAGCCCTGCCACCCTGTCCGTGTCTCCAGGCGAAAGAGCCAC
CCTGAGCTGCAGAGCCAGCCAGAGCCTGAGCGACTACCTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC
CAGGCCCCCAGACTGCTGATCAAGTCTGCCAGCCAGTCCATCAGCGGCATCCCCGCCAGATTTT
CTGGCAGCGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGGACTTCGC
CGTGTACTACTGCCAGAACGGCCACAGCTTCCCTTACACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAA
ATCAAG

SEQ ID NO: 200 (PD1H163)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGT
GAGCTGCAAAGCGAGCGGCGGCACCTTCAAGTCCTATGTGATTCATTGGGTGCGCCAGGCGCCG
GGCCAGGGCCTGGAATGGATGGGCGGTATTATCCCAATTTTTGGCACCGCCAATTATGCGCAGA
AATTTCAGGGCCGCGTGACCATTACCGCTGATGAAAGCACCAGCACCGCGTATATGGAACTGAG
CAGCCTGCGCAGCGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCGGTTATGTGCGGGCTACGGGC
ATGTTGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

SEQ ID NO: 201 (PD1L185)

GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGAACGCGCGAC
CCTGAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCGTTAGCAATTATCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCGGGC
CAGGCGCCGCGCCTGCTGATCTACGACGCCAGCAATCGCGCGACCGGCATTCCGGCGCGCTTTA
GCGGCTCCGGTAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCGGAAGATTTTGC
GGTGTATTATTGCCAGCAACGTGCATATTGGCCGCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGAA
ATTAAA

SEQ ID NO: 202 (PD1H164)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGT

GAGCTGCAAAGCGAGCGGCGGCACCTTCAGCGATTATGTGATTTCCTGGGTGCGCCAGGCGCCG
GGCCAGGGCCTGGAATGGATGGGCGGTATTATCCCGATTTACGGGACCGCTAACTATGCGCAGA
AATTTCAGGGCCGCGTGACCATTACCGCTGATGAAAGCACCAGCACCGCGTATATGGAACTGAG
CAGCCTGCGCAGCGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCGGTACCCTCGACCGGACCGGG
CATTTGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

SEQ ID NO: 203 (PD1L86)

GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGAACGCGCGAC
CCTGAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCGTCTCCTCCTACCTTGCGTGGTATCAGCAGAAACCGGGC
CAGGCGCCGCGCCTGCTGATCCACGACGCCTCTACGCGTGCGACCGGCATTCCGGCGCGCTTTA
GCGGCTCCGGTAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCGGAAGATTTTGC
GGTGTATTATTGCCAGCAACGTAATTATTGGCCGCTCACCTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGAA
ATTAAA

SEQ ID NO: 204 (TM3H24)

GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCT
GAGCTGCGCGGCAAGCGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGCGCCAGGCGCCG
GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCGCGATTAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATA
GCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTAGCCGCGATAACAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAA
CAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGAAATCCCCGTACGCGCCCTTGGAC
TATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

SEQ ID NO: 205 (TM3L33)

GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGAACGCGCGAC
CCTTAGCTGCCGTGCAAGTCAGAGTGTGAACGACTACCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCGGGC
CAGGCGCCGCGCCTGCTGATTTATGATGCGAGCAACCGCGCGACCGGCATTCCGGCGCGCTTTA
GCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCGGAAGATTTTGC
GGTGTATTATTGCCAGCAGGGTGGTCACGCGCCGATCACCTTTGGCCAGGGCACCAAAGTGGAA
ATTAAA

SEQ ID NO: 206 (TM3H162)

GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCTGGCGAGAGCCTGAAGAT
CAGCTGCAAGGGCAGCGGCTACAGCTTCACCAGCTACTGGATGCAGTGGGTGCGCCAGATGCCT
GGCAAGGGCCTGGAATGGATGGGCGCCATCTATCCCGGCGACGGCGACATCAGATACACCCAGA
ACTTCAAGGGCCAAGTGACCATCAGCGCCGACAAGAGCATCAGCACCGCCTACCTGCAGTGGTC
CAGCCTGAAGGCCAGCGACACCGCCATGTACTACTGTGCCAGATGGGAGAAGTCCACCACCGTG
GTGCAGCGGAACTACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACCGTGTCTAGT

SEQ ID NO: 207 (TM3L85)

GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGAC
CATCACATGCAAGGCCAGCGAGAACGTGGGCACCTTCGTGTCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC

AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCAACAGATACACCGGCGTGCCCAGCAGATTCA
GCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGC
CACCTACTACTGCGGCCAGAGCTACAGCTACCCCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATC
AAG

SEQ ID NO: 208 (TM3H21)

GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCT
GAGCTGCGCGGCGAGCGGCTTTACCTTTAGCAACTATTGGATGAGCTGGGTGCGCCAGGCGCCG
GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCGCGATTAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTATTATGCGGATA
GCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTAGCCGCGATAACAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAA
CAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGAAAGATCATTGGGATCCCAATTTT
TTGGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

SEQ ID NO: 209 (PH9L1)

GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGGCACCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGAACGCGCGAC
CCTGAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCGTGAGCAGCAGCTATCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCG
GGCCAGGCGCCGCGCCTGCTGATTTATGGCGCGAGCAGCCGCGCGACCGGCATTCCGGATCGCT
TTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCCGCCTGGAACCGGAAGATTT
TGCGGTGTATTATTGCCAGCAGTATGGCAGCAGCCCGCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAAGTG
GAAATTAAA

SEQ ID NO: 210 (TM3H65)

GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCCGGGCGGCAGCCTGCGCCT
GAGCTGCGCGGCGAGCGGCTTTACCTTTAGCGACTATTGGATGAGCTGGGTGCGCCAGGCGCCG
GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCGTGATCAAGTATAGCGGTGGCTCCAAATATTATGCGGATA
GCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTAGCCGCGATAACAGCAAAAACACCCTGTATCTGCAGATGAA
CAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGAAAGAGCTGGAGGGGGTGTTCGAC
TATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGAGCAGC

SEQ ID NO: 211 (TM3L12)

GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGGCACCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGAACGCGCGAC
CCTGAGCTGCCGCGCGAGCCAGAGCGTTAGCAATAGCACTCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCG
GGCCAGGCGCCGCGCCTGCTGATTTATACTGCGAGCAGCCGCGCGACCGGCATTCCGGATCGCT
TTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCCGCCTGGAACCGGAAGATTT
TGCGGTGTATTATTGCCAGCAGTCTTACACATCTCCGTGGACTTTTGGCCAGGGCACCAAAGTG
GAAATTAAA

Полинуклеотидные последовательности, кодирующие VH или VL, или их антигенсвязывающий фрагмент антител по изобретению, или тяжелую цепь и легкую цепь антител по изобретению, могут быть функционально связаны с одним или более регуляторными элементами, такими как промотор или энхансер, которые позволяют экспрессировать нуклеотидную последовательность в предполагаемой клетке-хозяине. Полинуклеотид может представлять собой кДНК.

В изобретении также предложен вектор, содержащий полинуклеотид по изобретению. Такие векторы могут представлять собой плазмидные векторы, вирусные векторы, векторы для экспрессии бакуловирусов, векторы на основе транспозонов или любой другой вектор, приемлемый для встраивания синтетического полинуклеотида по изобретению в данный организм или в данное генетическое окружение любым образом. Например, полинуклеотиды, кодирующие вариабельные области легкой и/или тяжелой цепей антител по изобретению, необязательно соединенные с константными областями, встроены в экспрессионные векторы. Легкую и/или тяжелую цепи можно клонировать в одном или в разных экспрессионных векторах. Сегменты ДНК, кодирующие иммуноглобулиновые цепи, могут быть функционально связаны в экспрессионном(ых) векторе(ах) с управляющими последовательностями, обеспечивающими экспрессию иммуноглобулиновых полипептидов. К таким управляющим последовательностям относятся сигнальные последовательности, промоторы (например, естественно ассоциированные или гетерологичные промоторы), энхансерные элементы и последовательности терминации транскрипции, и их выбирают так, чтобы они были совместимы с клеткой-хозяином, выбранной для экспрессии антитела. После встраивания вектора в соответствующего хозяина выполняют инкубацию хозяина в условиях, приемлемых для высокоуровневой экспрессии белков, кодируемых встроенными полинуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 196 и 197.

В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 198 и 199.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 200 и 201.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 202 и 203.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 204 и 205.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 206 и 207.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 208 и 209.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 210 и 211.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 253 и 254.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 255 и 256.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 257 и 258.
В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид с SEQ ID NO: 259 и 260.

Как правило, приемлемые экспрессионные векторы могут реплицироваться в организмах-хозяевах либо в виде эписом, либо в виде неотъемлемой части хромосомной ДНК хозяина. Обычно экспрессионные векторы содержат маркеры селекции, такие как вызывающие резистентность к ампициллину, резистентность к гигромицину, резистентность к тетрациклину, резистентность к канамицину или резистентность к неомицину, чтобы обеспечивать обнаружение таких клеток, трансформированных желательными последовательностями ДНК.

Приемлемые промоторные и энхансерные элементы известны в данной области. Примеры промоторов для экспрессии в эукариотической клетке включают в себя промоторные и энхансерные элементы генов легкой и/или тяжелой иммуноглобулиновых цепей; немедленно-ранний промотор цитомегаловируса; промотор тимидинкиназы вируса простого герпеса; ранние и поздние промоторы SV40; промотор, присутствующий в длинных концевых повторах ретровируса; промотор мышиного металлотионеина-I и различные известные тканеспецифические промоторы. Выбор соответствующего вектора и промотора вполне соответствует уровню обычного специалиста в данной области.

Примерами векторов, которые могут применяться, являются бактериальные: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, Ла-Холья, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540 и pRIT5 (Pharmacia, г. Уппсала, Швеция). Эукариотические: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG и pSVL (Pharmacia), pEE6.4 (Lonza) и pEE12.4 (Lonza).

В изобретении также предложена клетка-хозяин, содержащая один или более векторов по изобретению. Термин "клетка-хозяин" относится к клетке, в которую был встроен вектор. Следует понимать, что термин "клетка-хозяин" служит для обозначения не только конкретной заявленной клетки, но и потомства такой клетки, а также стабильной клеточной линии, полученной из конкретной заявленной клетки. Так как в последующих поколениях могут возникать определенные модификации вследствие либо мутации, либо воздействий среды, такое потомство может не быть идентичным исходной клетке, но оно также может охватываться термином "клетка-хозяин", применяемым в настоящем документе. Такими клетками-хозяевами могут быть эукариотические, прокариотические, растительные клетки или клетки архей. Escherichia coli, бациллы, такие как Bacillus subtilis, и другие энтеробактерии, такие как Salmonella, Serratia, а также различные виды Pseudomonas являются примерами прокариотических клеток-хозяев. Для экспрессии также могут использоваться другие микроорганизмы, такие как дрожжи. Сахаромицеты (например, S. cerevisiae) и Pichia являются примерами приемлемых дрожжевых клеток-хозяев. Примерами эукариотических клеток могут быть клетки млекопитающих, насекомых, птиц или другие клетки животного происхождения. Эукариотические клетки млекопитающих включают в себя иммортализованные клеточные линии, такие как гибридомы или клеточные линии миеломы, например, мышиные клеточные линии SP2/0 (Американская коллекция типовых культур (ATCC), г. Манассас, штат Вирджиния, США, CRL-1581), NS0 (Европейская коллекция клеточных культур (ECACC), г. Солсбери, Уилтшир, Великобритания, ECACC № 85110503), FO (ATCC CRL-1646) и Ag653 (ATCC CRL-1580). Примером клеточной линии миеломы человека является U266 (ATTC CRL-TIB-196). Другие используемые клеточные линии включают в себя линии, полученные из клеток яичника китайского хомячка (CHO), например, CHOK1SV (Lonza Biologies, г. Уолкерсвилл, штат Мэриленд, США), Potelligent® CHOK2SV (Lonza), CHO-K1 (ATCC CRL-61) или DG44.

В изобретении также предложен способ продукции антитела по изобретению, включающий в себя культивирование клетки-хозяина по изобретению в условиях экспрессии антитела и выделение антитела, продуцированного клеткой-хозяином. Способы получения антител и их очистки известны в данной области. После синтеза (химического или рекомбинантного) цельные антитела, их димеры, отдельные легкие и/или тяжелые цепи или другие фрагменты антитела, такие как VH и/или VL, можно очищать в соответствии со стандартными процедурами, включающими в себя осаждение сульфатом аммония, применение аффинных колонок, колоночную хроматографию, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), электрофорез в геле и т. п. (см. по существу Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, N.Y., 1982)). Заявленное антитело может быть по существу чистым, например, чистым на по меньшей мере от около 80% до 85%, чистым на по меньшей мере от около 85% до 90%, чистым на по меньшей мере от около 90% до 95%, чистым на по меньшей мере от около 98% до 99% или более, например, не содержа-

щим загрязняющих веществ, таких как клеточный дебрис, макромолекулы и т. д., отличных от заявленного антитела.

Полинуклеотидные последовательности по изобретению могут быть включены в векторы с применением стандартных способов молекулярной биологии. Трансформацию клетки-хозяина, культивирование, экспрессию и очистку антитела выполняют с применением известных способов. Другой вариант осуществления изобретения представляет собой способ получения антитела-антагониста, специфически связывающего PD-1, по изобретению, который включает в себя:

встраивание в экспрессионный вектор первого полинуклеотида, кодирующего VH антитела, и второго полинуклеотида, кодирующего VL антитела;

трансформацию клетки-хозяина экспрессионным вектором;

культивирование клетки-хозяина в культуральной среде в условиях, в которых экспрессируются VL и VH и образуется антитело; и

выделение антитела из клетки-хозяина или культуральной среды.

Другой вариант осуществления изобретения, описанного в настоящем документе, представляет собой способ получения антитела-антагониста, специфически связывающего TIM-3, по изобретению, который включает в себя:

встраивание в экспрессионный вектор первого полинуклеотида, кодирующего VH антитела, и второго полинуклеотида, кодирующего VL антитела;

трансформацию клетки-хозяина экспрессионным вектором;

культивирование клетки-хозяина в культуральной среде в условиях, в которых экспрессируются VL и VH и образуется антитело; и

выделение антитела из клетки-хозяина или культуральной среды.

Полинуклеотиды, кодирующие определенные последовательности VH или VL по изобретению, описанные в настоящем документе и в некоторых вариантах осуществления, в любом и каждом из перечисленных ниже пронумерованных вариантов осуществления, можно встраивать в векторы с помощью стандартных способов молекулярной биологии. Трансформацию клетки-хозяина, культивирование, экспрессию и очистку антитела выполняют с применением известных способов.

Фармацевтические композиции/введение.

В изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие антитела по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Для терапевтического применения возможна подготовка антител по изобретению в виде фармацевтических композиций, содержащих эффективное количество антитела в качестве активного ингредиента в фармацевтически приемлемом носителе. Термин "носитель" относится к разбавителю, адъюванту, эксципиенту или несущей среде, с которыми вводят антитело по изобретению. Такие носители могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая масла, получаемые из нефти, масла животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. Например, можно применять 0,4% солевой раствор и 0,3% раствор глицина. Эти растворы стерильны и по существу не содержат твердых частиц. Их можно стерилизовать с применением традиционных известных стандартных методик стерилизации (например, фильтрации). Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как регулирующие pH и буферные агенты, стабилизирующие, загущающие, увлажняющие и окрашивающие агенты и т. д. Концентрация антител по изобретению в таком фармацевтическом составе может варьировать от менее около 0,5%, обычно по меньшей мере около 1% и до 15 или 20% вес., и может выбираться преимущественно на основании необходимой дозы, объемов текучей среды, значений вязкости и т. д. в соответствии с конкретным выбранным способом введения. Приемлемые несущие среды и составы, включающие другие человеческие белки, например, сывороточный альбумин человека, описаны, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092, см. в особенности с. 958-989.

Способом введения для терапевтического применения антител по изобретению может служить любой приемлемый путь доставки антитела в организм-хозяин, такой как парентеральное введение, например, внутрикожное, внутримышечное, внутрибрюшинное, внутривенное или подкожное, легочное, чресслизистое (пероральное, интраназальное, интравагинальное, ректальное), в виде состава в таблетке, капсуле, растворе, порошке, геле, частице; и содержащиеся в шприце, имплантированном устройстве, осмотическом насосе, картридже, микронасосе; или же с помощью других средств, очевидных квалифицированному специалисту, которые известны в данной области. Локализованное введение можно обеспечить, например, посредством доставки в сустав, бронхи, брюшную полость, капсулу, хрящ, полость, мозжечок, желудочек мозга, толстую кишку, шейку матки, желудок, печень, миокард, кость, таз, перикард, полость живота, плевру, предстательную железу, легкие, прямую кишку, почку, сетчатку, позвоночник, суставную сумку, грудную клетку, матку, сосуд, внутрь мочевого пузыря, поврежденную ткань, вагинально, ректально, буккально, сублингвально, интраназально или трансдермально.

Антитела по изобретению можно вводить субъекту любым приемлемым способом, например, па-

рентерально посредством внутривенной (в/в) инфузии или болюсной инъекции, внутримышечно, подкожно или внутрибрюшинно. В/в инфузию можно осуществлять, например, в течение 15, 30, 60, 90, 120, 180 или 240 минут либо от 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 часов.

Доза, вводимая субъекту, является достаточной для ослабления или по меньшей мере частичной задержки заболевания, лечение которого осуществляется ("терапевтически эффективное количество"), и может иногда составлять от 0,005 мг до около 100 мг/кг, например, от около 0,05 мг до около 30 мг/кг, или от около 5 мг до около 25 мг/кг, или около 4 мг/кг, около 8 мг/кг, около 16 мг/кг, или около 24 мг/кг, или, например, около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг, но может быть даже выше, например, около 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мг/кг.

Также можно вводить фиксированную стандартную дозу, например, 50, 100, 200, 500 или 1000 мг, или доза может быть основана на площади поверхности тела пациента, например, 500, 400, 300, 250, 200 или 100 мг/м2. Для лечения пациенту обычно можно вводить от 1 до 8 доз (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8), но можно вводить и 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более доз.

Введение антител по изобретению можно повторять через одни сутки, двое суток, трое суток, четверо суток, пять суток, шесть суток, одну неделю, две недели, три недели, один месяц, пять недель, шесть недель, семь недель, два месяца, три месяца, четыре месяца, пять месяцев, шесть месяцев или более. Также возможны повторные курсы лечения в виде длительного введения. Повторное введение можно проводить в той же дозе или в другой дозе. Например, антитела по изобретению можно вводить в дозе 8 мг/кг или 16 мг/кг с недельным интервалом в течение 8 недель с последующим введением в дозе 8 мг/кг или 16 мг/кг каждые две недели в течение дополнительных 16 недель, с последующим введением в дозе 8 мг/кг или 16 мг/кг каждые четыре недели посредством внутривенной инфузии.

Например, антитела по изобретению можно вводить в виде суточной дозы в количестве около 0,1-100 мг/кг, например, 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 мг/кг в сутки, по меньшей мере в одни из суток 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40, или альтернативно по меньшей мере в одну из недель 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 после начала лечения, или в любой их комбинации с применением одной или разделенных доз каждые 24, 12, 8, 6, 4 или 2 часа, или в любой их комбинации.

Антитела по изобретению можно также вводить профилактически, чтобы снизить риск развития рака, замедлить начало развития события при прогрессировании рака и/или снизить риск рецидива в случае ремиссии рака.

Антитела по изобретению могут быть лиофилизированы для хранения и восстановлены в приемлемом носителе перед применением. Было показано, что эта методика эффективна для стандартных белковых препаратов; можно использовать известные методики лиофилизации и восстановления.

Способы и варианты применения.

Антитела по изобретению применяют в диагностике in vitro и in vivo, а также в качестве средств лечения и профилактики. Например, антитела по изобретению можно вводить в клетки в культуре in vitro или ex vivo или субъекту для лечения, профилактики и/или диагностики разнообразных расстройств, таких как онкологические и инфекционные заболевания.

В изобретении предложен способ модификации иммунного ответа у субъекта, включающий в себя введение субъекту антитела по изобретению в течение времени, достаточного для модификации иммунного ответа.

В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ усиливается, стимулируется или повышается.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, субъект представляет собой человека-пациента.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, субъект представляет собой человека-пациента, который нуждается в усилении иммунного ответа.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет иммунодефицит.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет риск развития иммунодефицита. Субъект с иммунодефицитом может проходить или прошел химиотерапию или радиационную терапию.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет иммунодефицит или риск его развития в результате инфекции.

Антитела по изобретению приемлемы для лечения субъекта, имеющего заболевание, которое можно лечить посредством усиления иммунных ответов, опосредованных Т-клетками.

В некоторых вариантах осуществления антителом-антагонистом, специфически связывающим PD-1 и применяемым в способах по изобретению, описанных в настоящем документе, является PD1B114, PD1B149, PD1B160, PD1B162, PD1B164, PD1B11, PD1B183, PD1B184, PD1B185, PD1B187, PD1B71, PD1B177, PD1B70, PD1B175, PD1B194, PD1B195, PD1B196, PD1B197, PD1B198, PD1B199, PD1B200, PD1B201, PD1B243, PD1B244, PD1B131 или PD1B132. Аминокислотные последовательности VH и VL этих антител показаны в табл. 2.

В некоторых вариантах осуществления антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-

3 и применяемым в способах по изобретению, описанных в настоящем документе, является TM3B103, TM3B105, TM3B109, TM3B108, TM3B113, TM3B189, TM3B190, TM3B193, TM3B195, TM3B196 или TM3B291. Аминокислотные последовательности VH и VL этих антител показаны в табл. 3.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическим антителом PD-1/TIM-3, применяемым в способах по изобретению, является PTBB14, PTBB15, PTBB16, PTBB17, PTBB24, PTBB3O, PTBB27, PTBB2 8, PTBB18, PTBB20 или PTBB21. Аминокислотные последовательности HC1, LC1, HC2 и LC2 этих антител показаны в табл. 41 и табл. 42.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 51.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 54.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 50.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 55.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 57.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 46 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 49.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 53.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 52.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 61.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 62.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 148 и VL с SEQ ID NO: 157.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 147 и VL с SEQ ID NO: 155.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и

применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 149 и VL с SEQ ID NO: 158.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 150 и VL с SEQ ID NO: 159.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 151 и VL с SEQ ID NO: 160.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 152 и VL с SEQ ID NO: 161.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 154 и VL с SEQ ID NO: 163.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3 и применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 в первом домене, а также VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162 во втором домене.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 в первом домене, а также VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156 во втором домене.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65 в первом домене, а также VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162 во втором домене.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65 в первом домене, а также VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156 во втором домене.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, применяемое в способах по изобретению, содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 в первом домене, а также VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173 во втором домене.

Рак.

Блокада PD-1 может усиливать иммунный ответ на раковые клетки у субъекта. Лиганд к PD-1 - PD-L1 - обильно экспрессируется при разнообразных видах рака у человека (Dong et al., (2002) Nat Med 8:787-9). Взаимодействие между PD-1 и PD-L1 может приводить к снижению инфильтрации лимфоцитов в опухоли, снижению опосредованной Т-клеточным рецептором пролиферации и/или уклонению клеток рака от иммунитета (Dong et al., (2003) J Mol Med 81:281-7; Blank et al., (2005) Cancer Immunol Immunother 54:307-314; Konishi et al., (2004) Clin Cancer Res 10:5094-100). Иммунную супрессию можно обратить посредством ингибирования локального взаимодействия PD-1 с PD-L1; данный эффект аддитивен, если взаимодействие PD-1 с PD-L2, вторым лигандом PD-1, также заблокировано (Iwai et al., (2002) Proc Natl Acad Sci 99:12293-7; Brown et al., (2003) J Immunol 170:1257-66). Таким образом, ингибирование PD-1 может приводить к усилению иммунного ответа.

TIM-3 представляет собой коингибиторный белок, экспрессируемый на активированных Т-хелперных клетках 1 (Th1) CD4+ и цитотоксических Т-клетках CD8+, которые секретируют ИФН-γ. TIM-3 коэкспрессируется на истощенных Т-клетках PD-1+, как показано в доклинических моделях рака и вирусного истощения. Одновременная блокада этих путей может восстанавливать эффекторную функцию Т-клеток (например, секрецию ИФН-γ, пролиферацию) в некоторых моделях, а также в PBMC человека, полученных от пациентов с метастатическими меланомами и пациентами с ВИЧ или ВГС. TIM-3 также обогащается на регуляторных Т-клетках Foxp3+, и было показано, что Treg, коэкспрессирующие TIM-3, LAG3 и CTLA4, являются высокоэффективными супрессорами эффекторных Т-клеток (Teff) (Galuton et al., (2014) Eur J Immunol 44 (9): 2703-11). Экспрессия TIM-3 коррелировала с ухудшением прогноза при NSCLC (Zhuang et al., (2012) Am J Clin Pathol 137 (6): 978-85). Лимфоциты из опухолей тканей от пациентов с карциномой яичников, ободочной и прямой кишки, шейки матки и гепатоцитов показывают большую долю TIM-3+ Т-клеток CD4, и такие клетки имеют сниженную способность к продукции ILF-γ (Yan et al., (2013) PLoS One 8 (3): e58006).

В изобретении также предложен способ ингибирования роста опухолевых клеток у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, специфически связывающего PD-1, по изобретению в течение времени, достаточного для ингибирования роста опухолевых клеток.

В изобретении также предложен способ ингибирования роста опухолевых клеток у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, специфически связывающего TIM-3, по изобретению в течение времени, достаточного для ингибирования роста опухолевых клеток.

В изобретении также предложен способ ингибирования роста опухолевых клеток у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического антитела-антагониста PD-1/TIM-3 по изобретению в течение времени, достаточного для ингибирования роста опухолевых клеток.

В изобретении также предложен способ лечения рака посредством введения требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, специфически связывающего PD-1, по изобретению в течение времени, достаточного для лечения рака.

В изобретении также предложен способ лечения рака посредством введения требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, специфически связывающего TIM-3, по изобретению в течение времени, достаточного для лечения рака.

В изобретении также предложен способ лечения рака посредством введения требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического антитела PD-1/TIM-3 по изобретению в течение времени, достаточного для лечения рака.

Примерами антител, которые можно применять, являются антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, и биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3: PD1B114, PD1B149, PD1B160, PD1B162, PD1B164, PD1B11, PD1B183, PD1B184, PD1B185, PD1B187, PD1B71, PD1B177, PD1B70, PD1B175, PD1B194, PD1B195, PD1B196, PD1B197, PD1B198, PD1B199, PD1B200, PD1B201, TM3B103, TM3B105, TM3B109, TM3B108, TM3B113, TM3B189, TM3B190, TM3B193, TM3B195, TM3B196, TM3B291, PTBB14, PTBB15, PTBB16, PTBB17, PTBB24, PTBB30, PTBB27, PTBB28, PTBB18, PTBB20 и PTBB21, имеющие аминокислотную последовательность VH и VL и характеристики, описанные в настоящем документе.

Рак может представлять собой гиперпролиферативное состояние или расстройство, солидную опухоль, гематологическую злокачественную опухоль, опухоль мягкой ткани или метастатическое поражение.

Предполагается, что термин "рак" включает в себя все типы раковых разрастаний или онкогенных процессов, метастазирования в тканях или злокачественной трансформации клеток, тканей или органов независимо от типа гистопатологии или стадии инвазивности. Примеры рака включают в себя солидные опухоли, гематологические злокачественные опухоли, опухоли мягких тканей и метастатические поражения. Примеры солидных опухолей включают в себя злокачественные образования, например, саркомы, и карциномы (включая аденокарциномы и плоскоклеточные карциномы) в различных системах органов, такие как поражения печени, легкого, молочной железы, лимфатической системы, желудочно-кишечного (например, толстая кишка) и мочеполового трактов (например, почки, уротелиальные клетки), предстательной железы и глотки. Аденокарциномы включают в себя злокачественные образования, такие как многие виды рака толстой кишки, рак прямой кишки, почечно-клеточная карцинома, рак печени, немелкоклеточная карцинома легкого, рак тонкого кишечника и рак пищевода. Плоскоклеточные карциномы включают в себя злокачественные образования, например, в легком, пищеводе, коже, в области головы и шеи, ротовой полости, анусе и шейке матки.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому.

Метастатические поражения упомянутых выше видов рака можно также лечить или предотвращать с помощью способов и антител по изобретению, описанных в настоящем документе.

Примеры видов рака, рост которых можно ингибировать или уменьшать с помощью антител по изобретению, включают в себя виды рака, которые отвечают на иммунотерапию. Примеры такого рака включают в себя меланому, рак почки, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак толстой кишки, рак желудочно-кишечного тракта, рак желудка, рак пищевода, рак легкого, метастазирующую злокачественную меланому, светлоклеточную карциному, устойчивую к гормонам аденокарциному предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого или рак головы и шеи. Устойчивые или рецидивирующие злокачественные образования можно лечить с помощью антител по изобретению, описанных в настоящем документе.

Примерами других видов рака, которые можно лечить антителами по изобретению, являются рак ануса, базально-клеточная карцинома, рак желчевыводящих путей, рак мочевого пузыря, рак костей, рак мозга и ЦНС, карцинома фаллопиевых труб, карцинома влагалища, карцинома вульвы, злокачественная меланома кожи или глаза, астроклеточный рак пищевода, рак яичка, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, рак матки, первичная лимфома ЦНС; опухоль центральной нервной системы (ЦНС), рак шейки матки, хориокарцинома, рак прямой кишки, рак соединительной ткани, рак пищеварительной системы, рак эндометрия, рак глаза; внутриэпителиальное новообразование, рак почки, рак гортани, рак печени; мелкоклеточный рак легкого, нейробластома, рак ротовой полости (например, губы, языка, рта и глотки), рак носоглотки, ретинобластома, рабдомиосаркома, рак дыхательной системы, саркома, рак щитовидной железы, рак мочевой системы, гепатокарцинома, рак анальной области, карцинома

фаллопиевых труб, карцинома влагалища, карцинома вульвы, рак тонкого кишечника, рак эндокринной системы, рак паращитовидной железы, рак надпочечника, саркома мягкой ткани, рак уретры, рак пениса, солидные опухоли у детей, опухолевый ангиогенез, рак спинного мозга, глиома мозгового ствола, аденома гипофиза, саркома Капоши, рак меркелевых клеток, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, вида рака, индуцированного окружающей средой, включая рак, индуцированный асбестом, и другие карциномы и саркомы, а также комбинации указанных видов рака.

Примеры гематологических злокачественных опухолей, которые можно лечить антителами по изобретению, включают в себя лейкозы, лимфомы и миелому, такие как лимфобластный лейкоз/лимфома предшественников B-клеток и неходжкинская лимфома B-клеток, острый промиелоцитный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз B-клеток (ХЛЛ)/малая лимфоцитарная лимфома (МЛЛ), острый лимфоцитарный лейкоз B-клеток, пролимфоцитарный лейкоз B-клеток, лимфоплазмоцитарная лимфома, лимфома мантийных клеток (MCL), фолликулярная лимфома (FL), включая низкодифференцированную, среднедифференцированную и высокодифференцированную FL, кожную фолликулярную центральную лимфому, лимфому B-клеток краевой зоны (типов MALT, узелкового и селезеночного), лейкоз ворсистых клеток, диффузную лимфому крупных B-клеток (DLBCL), лимфому Беркитта (BL), плазмоцитому, множественную миелому (MM), плазмоцитарный лейкоз, посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство, макроглобулинемию Вальденстрема, нарушения функции плазмоцитов, анапластическая крупноклеточная лимфома (ALCL), острый лимфоцитарный лейкоз T-клеток, первичный системный амилоидоз (например, амилоидоз легких цепей), пролимфоцитарный/миелоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ), крупногранулярный лимфоцитарный лейкоз (LGL), лейкоз NK-клеток и ходжкинскую лимфому.

Термин "нарушение функции плазмоцитов" относится к расстройствам, которые характеризуются клональными плазмоцитами и включают в себя множественную миелому, амилоидоз легких цепей и макроглобулинемию Вальденстрема. Амилоидоз легких цепей и макроглобулинемия Вальденстрема могут возникать независимо от множественной миеломы. Они также могут проявляться одновременно со множественной миеломой и развиваться либо до, либо после развития множественной миеломы.

Примеры B-клеточных неходжкинских лимфом представляют собой лимфогранулематоз, первичную выпотную лимфому, внутрисосудистую B-крупноклеточную лимфому, средостенную B-крупноклеточную лимфому, заболевания тяжелых цепей (включая γ-, μ- и α-цепи), лимфомы, индуцированные терапией иммуносупрессорными агентами, такие как лимфома, вызванная циклоспорином, и лимфома, вызванная метотрексатом.

Пациентов, имеющих рак, включая метастатический рак, который экспрессирует PD-L1, можно лечить антителами по изобретению. Рак может представлять собой меланому, почечно-клеточную карциному, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легких (NSCLC), неплоскоклеточный NSCLC, колоректальный рак, устойчивый к кастрации рак предстательной железы, рак яичника, рак желудка, аденокарциному (ACA), плоскоклеточную карциному (SCC), гепатоцеллюлярную карциному (HCC), карциному поджелудочной железы, плоскоклеточную карциному головы и шеи, карциномы пищевода, желудочно-кишечного тракта и молочной железы.

Пациентов, имеющих рак, который экспрессирует TIM-3, можно лечить антителами по изобретению. Виды рака, экспрессирующие TIM-3, включают в себя рак шейки матки, рак легкого, NSCLC, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), диффузную B-крупноклеточную лимфому (DLBCL), меланому, рак почки, почечно-клеточную карциному (RCC), карциному светлых почечных клеток, карциному папиллярных почечных клеток, метастатическую почечно-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному, плоскоклеточную карциному пищевода, карциному носоглотки, колоректальный рак, рак молочной железы (например, рак молочной железы, который не экспрессирует один, два или все из рецептора эстрогена, рецептора прогестерона и Her2/neu, например, трижды отрицательный рак молочной железы), мезотелиому, гепатоцеллюлярную карциному и рак яичника. Рак, экспрессирующий TIM-3, может представлять собой метастатический рак.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет солидную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет гематологическую злокачественную опухоль.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой меланому.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак легкого.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC).

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой плоскоклеточный немелкоклеточный рак легких (NSCLC).

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой неплоскоклеточный NSCLC.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой аденокарциному легкого.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой почечно-клеточную

карциному (RCC).

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой мезотелиому.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой карциному носоглотки (NPC).

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой колоректальный рак.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой устойчивый к кастрации рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак желудка.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак яичника.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак желудка.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак печени.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак щитовидной железы.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой карциномы пищевода или желудочно-кишечного тракта.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак молочной железы.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак фаллопиевой трубы.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак головного мозга.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак уретры.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой урогенитальный рак.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой эндометриоз.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой рак шейки матки.

В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой метастатическое раковое поражение.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лимфому, миелому или лейкоз.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой В-клеточную лимфому.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лимфому Беркитта.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой ходжкинскую лимфому.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой неходжкинскую лимфому.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой миелодиспластический синдром.

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой острый миелоидный лейкоз (ОМЛ).

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ).

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML).

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой множественную миелому (ММ).

В некоторых вариантах осуществления гематологическая злокачественная опухоль представляет собой плазмоцитому.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет опухоль, которая экспрессирует PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет инфильтрированные в опухоль Т-лимфоциты (TIL) в опухолевой ткани.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет TIL PD-1+/TIM-3+ в опухолевой ткани.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет увеличение числа инфильтрированных в опухоль Т-лимфоцитов (TIL) PD-1+/TIM-3+ в опухолевой ткани.

Термин "увеличение числа" относится к статистически значимому увеличению у субъекта по сравнению с контролем. "Увеличение числа", например, относится к статистически значимому увеличению

числа TIL у субъекта (например, пациента) до и после лечения антителом PD-1 или другим терапевтическим средством.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет повышенную экспрессию или активность интерферона-гамма (ИФН-γ).

В некоторых вариантах осуществления субъект получал лечение антителом к PD-1.

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению антителом к PD-1.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом к PD-1.

В некоторых вариантах осуществления субъект получал лечение антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

В некоторых вариантах осуществления субъект получал лечение антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231 (например, KEYTRUDA® (пембролизумаб)).

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом к PD-1, содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233 (например, OPDIVO® (ниволумаб)).

SEQ ID NO: 230

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGG

INPSNGGTNFNEKFKNRVTLTTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDY

WGQGTTVTVSS

SEQ ID NO: 231

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLE

SGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 232

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKRY

YADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 233

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP

ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK

В некоторых вариантах осуществления субъект получал или получает лечение антителом к PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению антителом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению или у него произошел рецидив после лечения антителом PD-L1 - дурвалумабом (MEDI-4736). Дурвалумаб содержит VH с SEQ ID NO: 234 и VL с SEQ ID NO: 235.

SEQ ID NO: 234

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVAN

IKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG

GWFGELAFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 235

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY

DASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFG

QGTKVEIK

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению или у него произошел рецидив после лечения антителом PD-L1 - атезолизумабом.

Атезолизумаб содержит VH с SEQ ID NO: 236 и VL с SEQ ID NO: 237.

SEQ ID NO: 236

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAW

ISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRH

WPGGFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 237

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYS

ASFLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQ

GTKVEIK

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению или у него произошел рецидив после лечения антителом PD-L1 - авелумабом.

Авелумаб содержит VH с SEQ ID NO: 238 и VL с SEQ ID NO: 239.

SEQ ID NO: 238

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSS

IYPSGGITFYADTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIK

LGTVTTVDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 239

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMI

YDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRV

FGTGTKVTVL

В некоторых вариантах осуществления субъект устойчив к лечению или у него произошел рецидив после лечения антителом PD-L1 - MDX-1105.

В некоторых вариантах осуществления субъект получал или получает лечение антителом к PD-L2.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, субъект устойчив к лечению антителом PD-L2.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет рецидивирующую опухоль после лечения антителом PD-L2.

Различные качественные и/или количественные способы могут применяться для определения рецидивирующих или рефрактерных форм заболевания. Симптомами, которые могут быть связаны с рецидивом или устойчивостью заболевания, являются, например, ухудшение или отсутствие улучшения состояния пациента или возврат или ухудшение различных симптомов, связанных с солидными опухолями, и/или распространение раковых клеток в организме из одного места в другие органы, ткани или клетки.

В настоящем документе было обнаружено, что экспрессия TIM-3 повышена в Т-клетках CD8+, выделенных из опухолей после лечения антителом к PD-1. Таким образом, терапевтическое введение антител-антагонистов, специфически связывающих TIM-3, или биспецифических антител-антагонистов PD-1/TIM-3, описанных в настоящем документе, субъекту, который получал или получает терапию антителом к PD-1 и устойчив к лечению антителом к PD-1 либо у которого произошел рецидив после или во время лечения антителом к PD-1, может улучшать клинический результат для пациентов.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, специфически связывающего TIM-3, по изобретению, причем субъект проходит или проходил лечение антителом к PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает TIM-3, содержащего VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156, причем субъект проходит или проходил антителом к PD-1 KEYTRUDA® (пембролизумаб), содержащим VH с SEQ ID NO: 230 и VL с SEQ ID NO: 231.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает TIM-3, содержащего VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156, причем субъект проходит или проходил лечение антителом к PD-1 OPDIVO® (ниволумаб), содержащим VH с SEQ ID NO: 232 и VL с SEQ ID NO: 233.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, специфически связывающего TIM-3, по изобретению, причем субъект проходит или проходил лечение антителом к PD-L1.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, специфически связывающего

TIM-3, по изобретению, причем субъект проходит или проходил лечение антителом к PD-L2.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического антитела-антагониста PD-1/TIM-3 по изобретению, причем субъект проходит или проходил лечение антителом к PD-1.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического антитела-антагониста PD-1/TIM-3 по изобретению, причем субъект проходит или проходил лечение антителом к PD-L1.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества биспецифического антитела-антагониста PD-1/TIM-3 по изобретению, причем субъект проходит или проходил лечение антителом к PD-L2.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1, содержащего VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56 в течение времени, достаточного для лечения рака.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, который включает в себя введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1, содержащего VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65 в течение времени, достаточного для лечения рака.

Любое из антител PD-1, TIM-3 или биспецифических антител PD-1/TIM-3 по изобретению, описанных в настоящем документе, может применяться в способах по изобретению.

Термины "лечить" или "лечение" относятся к терапевтическому лечению, при котором целью является замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или заболевания, такого как развитие или распространение опухоли или опухолевых клеток, либо обеспечение благоприятного или желательного клинического результата во время лечения. Преимущественные или желательные клинические результаты включают в себя ослабление симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т.е. отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, отсутствие метастазов, облегчение или временное улучшение болезненного состояния и ремиссию (частичную или полную), как обнаруживаемые, так и не обнаруживаемые. Термин "лечение" может также означать продление времени жизни по сравнению с ожидаемым в отсутствие лечения субъекта. К субъектам, требующим лечения, относятся те, у которых уже отмечаются нежелательное физиологическое изменение или заболевания, а также субъекты, склонные к физиологическому изменению или заболеванию.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желательного терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество антитела по изобретению может изменяться в зависимости от факторов, таких как состояние заболевания, возраст, пол и вес индивида, а также способности антитела по изобретению вызывать желательный ответ у индивида. Примеры показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств включают в себя, например, улучшение самочувствия пациента, снижение опухолевой нагрузки, прекращение или замедление роста опухоли и/или отсутствие метастазирования раковых клеток в другие места организма.

Комбинированные виды терапии для лечения рака.

Антитела по изобретению можно вводить в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

Антитела по изобретению можно вводить в комбинации с одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью или шестью дополнительными терапевтическими агентами.

Любое из антител-антагонистов, специфически связывающих PD-1, антител-антагонистов, специфически связывающих TIM-3, или биспецифических антител-антагонистов PD-1/TIM-3 по изобретению можно применять в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

Любое из антител-антагонистов, специфически связывающих PD-1, антител-антагонистов, специфически связывающих TIM-3, или биспецифических антител-антагонистов PD-1/TIM-3 по изобретению можно применять в комбинации с одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью или шестью дополнительными терапевтическими агентами.

Термин "в комбинации с" относится к введению антител по изобретению и по меньшей мере одного второго терапевтического агента одновременно как отдельных агентов или последовательно как отдельных агентов в любом порядке. Как правило, каждый агент будут вводить в дозе и/или согласно временной схеме, определенной для этого агента.

В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент модулирует активность молекулы, участвующей в иммунном цикле против рака, например, молекулы, участвующей в стимуляторном или ингибиторном путях, которые функционируют при высвобождении антигенов раковых клеток, презентации раковых клеток, затравке и активации Т-клеток, направлении Т-клеток к опухолям, инфильтрации Т-клеток в опухоли, распознавании раковых клеток Т-клетками и уничтожении раковых клеток. Иммунный цикл против рака описан в Chen and Mellman (2013) Immunity 39:1-10. В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент модулирует активность молекулы, участвующей в регуля-

ции активности регуляторных Т-клеток (Treg), костимуляторных или коингибиторных лигандов, экспрессированных на опухолях, активаторных или ингибиторных рецепторов на клетках-естественных киллерах (NK) или иммуносупрессивных факторов в микросреде опухоли. Комбинированные виды иммунотерапии рака описаны в Manoney et al., (2015) Nature Reviews 14:561-584.

Второй терапевтический агент, как правило, усиливает активность стимуляторных молекул и подавляет активность ингибиторных молекул, как известно. Таким образом, термин "модулировать" относится к усилению иммунного ответа вторым терапевтическим агентом независимо от того, является ли агент сам по себе агонистом или антагонистом конкретной молекулы.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором ингибиторной молекулы Т-клетки.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором ингибиторной молекулы Т-клетки PD-1, PD-L1, PD-L2, VISTA, BTNL2, B7-H3, B7-H4, HVEM, HHLA2, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA, CD160, CEACAM-1, LAIR1, TGFβ, IL-10, белком семейства Siglec, KIR, CD96, TIGIT, NKG2A, CD112, CD47, SIRPA или CD244.

В некоторых вариантах осуществления KIR является KIR2DL1, KIR2DL2 или KIR2DL3.

Ингибирование ингибиторных молекул может осуществляться путем ингибирования на уровне ДНК, РНК или белка. В некоторых вариантах осуществления ингибиторную нуклеиновую кислоту (например, дцРНК, миРНК или шпилечная РНК) применяют для ингибирования экспрессии ингибиторной молекулы.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ингибиторной молекулы представляет собой растворимый лиганд ингибиторной молекулы.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ингибиторной молекулы представляет собой антитело-антагонист, специфически связывающее ингибиторную молекулу.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ингибиторной молекулы представляет собой гибридный белок CTLA-4-Fc или TIM-3-Fc.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ингибиторной молекулы представляет собой антитело или фрагмент антитела, который связывает PD-1, PD-L1, PD-L2, VISTA, BTNL2, B7-H3, B7-H4, HVEM, HHLA2, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA, CD160, CEACAM-1, LAIR1, TGFβ, IL-10, белок семейства Siglec, KIR, CD96, TIGIT, NKG2A, CD112, CD47, SIRPA или CD244.

Примерами антител к PD-1, которые можно применять в способах по изобретению, являются те, которые описаны в настоящем документе и в патентах США № 5,897,862 и 7,488,802, а также в международных патентных публикациях № WO2004/004771, WO2004/056875, WO2006/121168, WO2008/156712, WO2010/029435, WO2010/036959, WO2011/110604, WO2012/145493, WO2014/194302, WO2014/206107, WO2015/036394, WO2015/035606, WO2015/085847, WO2015/112900 и WO2015/112805. Примеры антител к PD-1 включают в себя KEYTRUDA® (пембролизумаб) и OPDIVO® (ниволумаб).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с растворимым лигандом PD-1.

В некоторых вариантах осуществления растворимым лигандом PD-1 является растворимый PD-L1 или растворимый PD-L2, слитый с Fc.

В некоторых вариантах осуществления растворимым лигандом PD-1 является AMP-224.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с антителом к PD-L1 или его антигенсвязывающими фрагментами.

Примерами антител PD-L1, которые можно применять в способах по изобретению, являются антитела MDPL3280A (компания Genentech/Roche) и другие моноклональные антитела человека, раскрытые в патенте США № 7,943,743 и патентной публикации США № 20120039906. Другие связывающие агенты к PD-L1 включают в себя YW243.55.S70 (вариабельные области тяжелой и легкой цепи показаны в последовательностях SEQ ID NO 20 и 21 в WO2010/077634) и MDX-1105 (также называемый BMS-936559 и, например, связывающие агенты к PD-L1, раскрытые в WO2007/005874). Последовательности VH и VL антител к PD-1 дурвалумаба, атезолимумаба и авелумаба, - которые можно применять, раскрыты в настоящем документе.

Примерами антител PD-L2, которые можно применять в способах по изобретению, являются те, которые описаны в патентах США № 8,080,636, 8,188,238, патентной публикации США № 20110271358 и международной патентной публикации № WO2012145493.

Примерами антител B7-H4, которые можно применять в способах по изобретению, являются те, которые описаны в патентах США № 7,888,477, 8,609,816, 7,931,896, европейском патенте № 1817055, патентных публикациях США № US20140037551 и US2014029486, а также международных патентных публикациях № WO2014/100483 и WO2014/159835.

Примерами антител к CTLA-4, которые можно применять в способах по изобретению, являются ипилимумаб (MDX-010, CAS № 477202-00-9) и тремелимумаб (моноклональное антитело IgG2, поставляемое компанией Pfizer, ранее известное как тицилимумаб, CP-675,206).

Примерами антител к LAG-3, которые можно применять в способах по изобретению, являются те,

которые описаны, например, в международных патентных публикациях № WO2008/132601 и WO2010/019570.

Примерами антител к CEACAM-1, которые можно применять в способах по изобретению, являются те, которые описаны в патенте США № 8,598,322 и в патентных публикациях США № US2004/0047858, US20140271618 и US20120100158. Без стремления к ограничению какой-либо конкретной теорией, CEACAM-1 был описан как лиганд и партнер TIM-3 (см., например, международную патентную публикацию № WO2014/022332). Синергетический эффект in vivo комбинации антител к TIM-3 и к CEACAM-1 был обнаружен в моделях рака ксенотрансплантата (см., например, международную патентную публикацию № WO2014/022332). Опухоли могут применять CEACAM-1 для ингибирования иммунной системы. Таким образом, антитела к CEACAM-1 можно применять в комбинации с антителами по изобретению, описанными в настоящем документе.

Примерами антител к LAIR-1, которые можно применять в способах по изобретению, являются те, которые описаны в патенте США № 6,479,638 и международной патентной публикации № WO2010/078580.

Примеры антител к CD96, которые можно применять в способах изобретения, включают те, которые описаны в международной патентной публикации № WO2015/024060.

Примерами антител к TIM-3, которые можно применять в способах по изобретению, являются те, которые описаны в настоящем документе и в международных патентных публикациях № WO2011/155607, WO2013/006490 и WO2015/117002.

Примерами антител к TIGIT, которые можно применять в способах изобретения, являются те, которые описаны в международных патентных публикациях № US20140056890 и US20150216970. Примером антитела к TIGIT является RG-6058 (MTIG-7192A).

В настоящем документе было обнаружено, что экспрессия TIGIT повышена в Т-клетках CD8+, выделенных из опухолей после лечения антителом к TIM-3 в животных моделях рака. Таким образом, терапевтическое введение антител-антагонистов, специфически связывающих TIGIT, субъекту, который уже получал или получает терапию антителом к TIM-3 и устойчив к лечению антителом к TIM-3 либо у которого произошел рецидив после или во время лечения антителом к TIM-3, может улучшить клинический результат для пациентов.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий в себя введение требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает TIM-3, и антитела-антагониста, которое специфически связывает TIGIT, в течение времени, достаточного для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, которое специфически связывает TIGIT, вводят после введения антитела-антагониста, которое специфически связывает TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления антитело-антагонист, которое специфически связывает TIGIT, и антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, вводят одновременно как отдельные агенты или последовательно как отдельные агенты в любом порядке.

Примерами антител к BTLA, которые можно применять в способах изобретения, являются те, которые описаны в патентах США № 8,546,541, 7,479,544, 8,188,232, 8,247,537, 8,563,694 и в международной патентной публикации № WO2014184360.

Примерами антител к TIGIT, которые можно применять в способах изобретения, являются те, которые описаны в международной патентной публикации № US20110280866.

Примерами антител CD47, которые можно применять в способах по изобретению, являются те, которые описаны в патенте США № 8,101,719.

Примеры антител CD244, которые можно применять в способах по изобретению, включают те, которые описаны в патенте США № 5,688,690.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к TIM-3 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к PD-L1 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к PD-L2 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к VISTA или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к BTNL2 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к B7-H3 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к B7-H4 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к HVEM или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к HLA2 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CTLA-4 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к LAG-3 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к TIM-3 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к BTLA или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD160 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CEACAM-1 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к LAIR1 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к TGFβ или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к IL-10 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к TIG-IT или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспе-

цифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к KIR или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к NKG2A или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD112 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD47 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к SIRPA или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты к PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD244 или его антигенсвязывающим фрагментом.

Молекулы иммунных ингибиторов могут регулировать или синергетически регулировать функции Т-клеток, способствуя уклонению опухоли от иммунитета. Таким образом, комбинированные виды терапии с двумя или более ингибиторами ингибиторных молекул могут обеспечивать улучшенную терапию для пациента по сравнению только с монотерапией.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с активатором активирующей молекулы.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с активатором активирующей молекулы CD86, CD80, CD28, ICOS, лиганда ICOS, TMIGD2, CD40, лиганда GITR, лиганда 4-1BB, лиганда OX40, CD70, CD40L, TNFRSF25, LIGHT, GITR, OX-40, CD27, CD137, NKG2D, CD48, CD226 или MICA.

Активацию активирующих молекул можно выполнять с применением, например, растворимых лигандов или производных лигандов активирующих молекул, пептидов или антител-агонистов.

В некоторых вариантах осуществления активатор активирующей молекулы представляет собой растворимый лиганд активирующей Т-клетки молекулы.

В некоторых вариантах осуществления активатор активирующей молекулы представляет собой антитело-агонист, специфически связывающее активирующую молекулу.

Примеры антител к CD40, которые можно применять в способах по изобретению, включают в себя CP-870,893 и гуманизированные S2C6, описанные в патенте США № 7,288,251 (антитело 21.4.1) и патенте США № 8,303,955 соответственно, а также антитела к CD40, описанные в международных патентных публикациях № WO2001/056603, WO2001/083755, WO2013/034904 и WO2014/070934.

Примеры агонистов GITR включают в себя, например, гибридные белки GITR и антитела к GITR (например, двухвалентные антитела к GITR), такие как гибридный белок GITR, описанный в патенте США № 6,111,090, европейском патенте № 090505B1, патенте США № 8,586,023, международных патентных публикациях № WO2010/003118 и WO2011/090754, или антитело к GITR, описанное в патентах США № 7,025,962, 7,812,135, 8,388,967, 8,591,886 и 7,618,632, европейских патентах № 1947183 и 1866339 или международных патентных публикациях № WO2011/028683, WO2013/039954, WO2005/007190, WO2007/133822, WO2005/055808, WO1999/40196, WO2001/03720, WO1999/20758, WO2006/083289, WO2005/115451 и WO2011/051726.

В настоящем документе было обнаружено, что экспрессия GITR повышена в Т-клетках CD8+, выделенных из опухолей после лечения антителом к PD-1 в животных моделях рака. Восстановление экспрессии GITR на TIL посредством лечения антителом к PD-1 подтверждает, что комбинированная терапия антителами к GITR и PD-1 может улучшать клинический результат для пациентов.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий в себя введение требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1, и антитела-агониста, которое специфически связывает GITR, в течение времени, достаточного для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления антитело-агонист, которое специфически связывает GITR, вводят после введения антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело-агонист, которое специфически связывает GITR, и антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, вводят одновременно как отдельные агенты

или последовательно как отдельные агенты в любом порядке.

Примеры антител к OX40, которые можно применять в способах по изобретению, включают в себя те, которые описаны в патентах США № 8,133,983, 7,960,515, патентной публикации США № 20130280275 и международных патентных публикациях № WO2013028231 и WO2014148895.

Примером антитела к OX40, которое можно применять в способах по изобретению, является антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 309 и VL с SEQ ID NO: 310.

Другим примером антитела к OX40, которое можно применять в способах по изобретению, является антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 311 и VL с SEQ ID NO: 312.

В настоящем изобретении было обнаружено, что экспрессия OX40 повышена в Т-клетках CD8+ , выделенных из опухолей после лечения антителом к PD-1 в животных моделях рака. Восстановление экспрессии OX40 на TIL посредством лечения антителом к PD-1 подтверждает, что комбинированная терапия антителами к OX40 и PD-1 может улучшать клинический результат для пациентов.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий в себя введение требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1, и антитела-агониста, которое специфически связывает OX40, в течение времени, достаточного для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления антитело-агонист, которое специфически связывает OX40, вводят после введения антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело-агонист, которое специфически связывает OX40, и антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, вводят одновременно как отдельные агенты или последовательно как отдельные агенты в любом порядке.

Примеры антител CD70, которые можно применять в способах по изобретению, включают в себя те, которые описаны в патентной публикации США № US20130336976.

Примеры антител TNFRSF25, которые можно применять в способах по изобретению, включают в себя те, которые описаны в патенте США № 7,708,996.

Примеры антител CD27, которые можно применять в способах по изобретению, включают в себя те, которые описаны в патентной публикации США № US20130336976.

Примеры антител к CD137, которые можно применять в способах по изобретению, включают в себя те, которые описаны в патентах США № 6,974,863, 6,303,121, 7,138,500, 7,288,638, 8,716,452, 8,821,867 и в патентной публикации США № US20130149301.

В настоящем изобретении было обнаружено, что экспрессия CD137 повышена в Т-клетках CD8+, выделенных из опухолей после лечения антителом к PD-1 в животных моделях рака. Восстановление экспрессии CD137 на TIL посредством лечения антителом к PD-1 подтверждает, что комбинированная терапия антителами к CD137 и PD-1 может улучшать клинический результат для пациентов.

В изобретении также предложен способ лечения рака у субъекта, включающий в себя введение требующему этого субъекту терапевтически эффективного количества антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1, и антитела-агониста, которое специфически связывает CD137, в течение времени, достаточного для лечения рака.

В некоторых вариантах осуществления антитело-агонист, которое специфически связывает CD137, вводят после введения антитела-антагониста, которое специфически связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело-агонист, которое специфически связывает CD137, и антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, вводят одновременно как отдельные агенты или последовательно как отдельные агенты в любом порядке.

Примеры антител NKG2D, которые можно применять в способах по изобретению, включают в себя те, которые описаны в патентной публикации США № US20110150870.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD86 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD80 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD28 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к ICOS или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1,

по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты к PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к лиганду ICOS или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к TMIGD2 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD40 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты к PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к лиганду GITR или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты к PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к лиганду 4-1BB или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты к PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к лиганду OX40 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD70 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD40L или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к TNFRSF25 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к LIGHT или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к GITR или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к OX40 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD27 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD137 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к NKG2D или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к

CD48 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD226 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с антителом к MICA или его антигенсвязывающим фрагментом.

Комбинацию антител, приведенную в настоящем документе, можно вводить по отдельности, например, как отдельные антитела, или в соединении, например, как биспецифическую или триспецифическую молекулу антитела.

Эффективность комбинаций, описанных в настоящем документе, можно исследовать на животных моделях, известных в данной области.

Антитела по изобретению, описанные в настоящем документе, можно вводить в комбинации с вакциной.

Примерами вакцин являются иммуногенные агенты, такие как раковые клетки, очищенные опухолевые антигены (включая рекомбинантные белки, эпитопы антигена, пептиды и молекулы углеводов), опухолевые антигены, доставляемые пациенту посредством генной терапии, клеток и трансфицированные генами клетки, кодирующие стимулирующие иммунитет цитокины. Примеры вакцин, которые можно применять, включают в себя пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигены MAGE, Trp-2, MART1 и/или тирозиназа, или опухолевые клетки, трансфицированные для экспрессии цитокина GM-CSF, вакцины на основе ДНК, вакцины на основе РНК и вакцины на основе вирусной трансдукции, пептиды, или антигены предстательной железы, или пептиды антигенов рака легкого. Вакцина против рака может быть профилактической или терапевтической.

Были разработаны многие экспериментальные стратегии вакцинации против опухолей (см. Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C., 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; см. также Restifo, N. and Sznol, M., Cancer Vaccines, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita, V. et al. (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology. Fifth Edition). В одной из этих стратегий вакцину готовят с применением аутологичных или аллогенных опухолевых клеток. Как показано, эти клеточные вакцины наиболее эффективны, когда опухолевые клетки трансдуцированы для экспрессии GM-CSF. Было показано, что GM-CSF является мощным активатором презентации антигена для вакцинации к опухоли (Dranoff et al., (1993) Proc Natl Acad Sci U.S.A. 90: 3539-43).

Антитела по изобретению, описанные в настоящем документе, можно вводить в комбинации с одним или набором рекомбинантных белков и/или пептидов, экспрессированных в опухоли или на ней, чтобы вызвать иммунный ответ на эти белки. Иммунная система обычно принимает эти белки как аутоантигены и поэтому толерантна к ним. Опухолевый антиген может также включать в себя белок теломеразы, который требуется для синтеза теломер хромосом и который экспрессирован при более чем 85% видов рака у человека, но лишь в ограниченном числе соматических тканей (Kim et al.,

(1994) Science 266: 2011-2013). Опухолевые антигены могут также представлять собой "неоантигены", экспрессированные в раковых клетках или на них в результате соматических мутаций, которые изменяют последовательность белка или создают гибридные белки из двух неродственных последовательностей (например, bcr-abl в хромосоме Philadelphia) или идиотипы из В-клеточных опухолей. Опухолевые антигены могут представлять собой антигенные эпитопы простат-специфического антигена (PSA), мезотелина, простат-специфического мембранного антигена (PSMA), синовиальной саркомы X2 (SSX2), NKX3.1, кислой фосфатазы простаты (PAP) или рецепторов фактора роста эпидермиса либо пептиды, специфические для вариантов EGFR, такие как известный EGFRvIII, сверхэкспрессированный на опухолевых клетках.

Другие вакцины против опухолей могут включать в себя белки из вирусов, участвующих в раковых заболеваниях у человека, такие как вирусы папилломы человека (ВПЧ), вирусы гепатита (ВГВ и ВГС), герпес-вирус саркомы Капоши (KHSV) и вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ). Другую форму специфических опухолевых антигенов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению, описанными в настоящем документе, представляют собой очищенные белки теплового шока (HSP), выделенные из самой опухолевой ткани. HSP содержат фрагменты белков из опухолевых клеток и проявляют высокую эффективность при доставке в антигенпрезентирующие клетки для возбуждения иммунитета против опухоли (Suot and Srivastava (1995) Science 269:1585-1588; Tamura et al., (1997) Science 278:117-120).

Дендритные клетки (DC) являются мощными антигенпрезентирующими клетками, которые можно применять для затравки специфических ответов на антиген. DC можно получить ex vivo и нагрузить различными белковыми и пептидными антигенами, а также экстрактами опухолевых клеток (Nestle et al., (1998) Nature Medicine 4: 328-332). DC можно также трансформировать генетическими средствами для экспрессии этих опухолевых антигенов. DC также сливали непосредственно с опухолевыми клетками в

целях иммунизации (Kugler et al., (2000) Nature Medicine 6:332-336). В качестве способа вакцинации иммунизацию DC можно эффективно комбинировать с антителами по изобретению, описанными в настоящем документе, для активации более мощных ответов против опухолей.

В некоторых вариантах осуществления вакцина представляет собой полипептид или его фрагмент либо ДНК или РНК, кодирующую полипептид или его фрагмент, экспрессированный на опухолевых клетках.

В некоторых вариантах осуществления полипептид или его фрагмент, экспрессированный на опухолевых клетках, представляет собой PSMA.

В некоторых вариантах осуществления полипептид или его фрагмент, экспрессированный на опухолевых клетках, представляет собой мезотелин.

В некоторых вариантах осуществления полипептид или его фрагмент, экспрессированный на опухолевых клетках, представляет собой вариант EGFR или EGFR, такой как EGFRvIII.

В некоторых вариантах осуществления полипептид или его фрагмент, экспрессированный на опухолевых клетках, представляет собой PAP.

В некоторых вариантах осуществления полипептид или его фрагмент, экспрессированный на опухолевых клетках, представляет собой синовиальную саркому X2 (SSX2).

В некоторых вариантах осуществления полипептид или его фрагмент, экспрессированный на опухолевых клетках, представляет собой NKX3.1.

В некоторых вариантах осуществления опухолевые клетки представляют собой клетки меланомы, рака легкого, плоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), неплоскоклеточного NSCLC, колоректального рака, рака предстательной железы, устойчивого к кастрации рака предстательной железы, рака яичника, рака желудка, рака печени, рака поджелудочной железы, рака щитовидной железы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, карцином пищевода или желудочно-кишечного тракта или рака молочной железы.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с вакциной против почечно-клеточной карциномы (RCC).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с вакциной против рака легкого.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с вакциной против рака предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с вакциной против рака легкого.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с вакциной против опухоли, которая содержит фрагмент пептида EGFR или EGFRvIII либо вектор, кодирующий фрагмент пептида EGFR или EGFRvIII.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с вакциной против опухоли, которая содержит фрагмент пептида мезотелина либо вектор, кодирующий фрагмент пептида мезотелина.

В некоторых вариантах осуществления антитела-антагонисты, специфически связывающие PD-1, по изобретению, антитела-антагонисты, специфически связывающие TIM-3, по изобретению или биспецифические антитела-антагонисты PD-1/TIM-3 по изобретению вводят в комбинации с вакциной против опухоли, которая содержит фрагмент пептида простат-специфического антигена либо вектор, кодирующий фрагмент пептида простат-специфического антигена.

Приемлемые векторы, которые можно применять в способах по изобретению, известны и включают в себя лентивирусные векторы, аденовирусные векторы, минимальный вектор нуклеиновых кислот (MNAV), вирус коровьей оспы, вирус ветряной оспы, VRP-производное альфа-вируса, Saccharomyces cerevisiae, MVA, Listeria monocytogenes, плазмиду на основе pVAX; например, см. Pol et al., (2014) Oncoimmunology 1 (3): e28185.

Антитела по изобретению можно вводить в комбинации со стандартным лечением рака.

Антитела по изобретению, описанные в настоящем документе, можно вводить в комбинации со стандартными курсами химиотерапевтического лечения рака. В этих случаях возможно уменьшение дозы вводимого химиотерапевтического агента (Mokyr et al., (1998) Cancer Research 58: 5301-5304).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению можно вводить в комбинации с одной или более из других молекул антител, химиотерапии, другой противораковой терапии (например, таргетной противораковой терапии или онколитических лекарственных средств), цитотоксических агентов, цитокинов, хирургических и/или радиационных процедур.

Примеры цитотоксических агентов, которые можно вводить в комбинации с антителами по изобретению, включают в себя антимикротубулиновые агенты, ингибиторы топоизомеразы, антиметаболиты,

ингибиторы митоза, алкилирующие агенты, антрациклины, алкалоиды барвинка, агенты интеркаляции, агенты, способные помешать на сигнальном пути трансдукции, агенты, способствующие апоптозу, ингибиторы протеосом и облучение (например, местное или общее облучение организма).

Стандартные терапевтические агенты включают в себя анастрозол (Arimidex®), бикалутамид (Casodex®), блеомицина сульфат (Blenoxane®), бусульфан (Myleran®), бусульфан для инъекций (Busulfex®), капецитабин (Xeloda®), N-4-пентоксикарбонил-5-дезокси-5-фторцитидин, карбоплатин (Paraplatin®), кармустин (BiCNU®), хлорамбуцил (Leukeran®), цисплатин (Platinol®), кладрибин (Leustatin®), циклофосфамид (Cytoxan® или Neosar®), цитарабин, цитозина арабинозид (Cytosar-U®), липосомы цитарабина для инъекций (DepoCyt®), дакарбазин (DTIC-Dome®), дактиномицин (Actinomycin D, Cosmegan), даунорубицина гидрохлорид (Cerubidine®), липосомы даунорубицина цитрата для инъекций (DaunoXome®), дексаметазон, доцетаксел (Taxotere®), доксорубицина гидрохлорид (Adriamycin®, Rubex®), этопозид (Vepesid®), флударабина фосфат (Fludara®), 5-фторурацил (Adrucil®, Efudex®), флутамид (Eulexin®), тезацитибин, гемцитабин (дифтордезоксицитидин), гидроксимочевина (Hydrea®), идарубицин (Idamycin®), ифосфамид (IFEX®), иринотекан (Camptosar®), L-аспарагиназа (ELSPAR®), лейковорин кальция, мелфалан (Alkeran®), 6-меркаптопурин (Purinethol®), метотрексат (Folex®), митоксантрон (Novantrone®), паклитаксел (Taxol®), феникс (иттрий-90/MX-DTPA), пентостатин, имплантат полифепросан-20 с кармустином (Gliadel®), тамоксифена цитрат (Nolvadex®), тенипозид (Vumon®), 6-тиогуанин, тиотепа, тирапазамин (Tirazone®), топотекана гидрохлорид для инъекций (Hycamptin®), винбластин (Velban®), винкристин (Oncovin®), винорелбин (Navelbine®), ибрутиниб, идеалисиб и брентуксимаб ведотин.

Примеры алкилирующих агентов включают в себя производные горчичного газа, производные этиленимина, алкилсульфонаты, нитрозомочевины и триазены: горчичный урацил (Aminouracil Mustard®, Chlorethaminacil®, Demethyldopan®, Desmethyldopan®, Haemanthamine®, Nordopan®, Uracil Nitrogen Mustard®, Uracillost®, Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®), хлорметин (Mustargen®), циклофосфамид (Cytoxan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune™), ифосфамид (Mitoxana®), мелфалан (Alkeran®), хлорамбуцил (Leukeran®), пипоброман (Amedel®, Vercyte®), триэтиленмеламин (Hemel®, Hexalen®, Hexastat®), триэтилентиофосфорамин, темозоломид (Temodar®), тиотепа (Thioplex®), бусульфан (Busilvex®, Myleran®), кармустин (BiCNU®), ломустин (CeeNU®) и стрептозоцин (Zanosar®). Дополнительные примеры алкилирующих агентов включают в себя оксалиплатин (Eloxatin®), темозоломид (Temodar® и Temodal®), дактиномицин (известный также как актиномицин-D, Cosmegen®), алтретамин (известный также как гексаметилмеламин (HMM), Hexalen®), бендамустин (Treanda®), карбоплатин (Paraplatin®), ломустин (известный также как CCNU, CeeNU®), цисплатин (известный также как CDDP, Platinol® и Platinol®-AQ), хлорамбуцил (Leukeran®), преднумустин, прокарбазин (Matulane®) и тиотепа (известный также как тиофосфоамид, TESPA и TSPA, Thioplex®).

Примеры антрациклинов включают в себя, например, доксорубицин (Adriamycin® и Rubex®); блеомицин (Lenoxane®), даунорубицин (даунорубицина гидрохлорид, дауномицина и рубидомицина гидрохлорид, Cerubidine®), липосомы даунорубицина (липосомы даунорубицина цитрата, DaunoXome®), митоксантрон (DHAD, Novantrone®), эпирубицин (Ellence™), идарубицин (Idamycin®, Idamycin PFS®), митомицин C (Mutamycin®), гелданамицин, гербимицин, равидомицин и дезацетилравидомицин.

Примеры алкалоидов барвинка, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению, включают в себя винорелбина тартрат (Navelbine®), винкристин (Oncovin®) и виндезин (Eldisine®), винбластин (известный также как винбластина сульфат, винкалейкобластин и VLB, Alkaban-AQ® и Velban®) и винорелбин (Navelbine®).

Примерами ингибиторов протеосом, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению, являются бортезомиб (Velcade®); карфилзомиб (Kyprolis®), иксазомиб (Ninlaro®), маризомиб (NPI-0052) и деланзомиб (CEP-18770).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором тирозинкиназы (например, ингибитором рецептора тирозинкиназы (RTK)). Примеры ингибиторов тирозинкиназы включают в себя ингибитор пути фактора роста эпидермиса (EGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста эпидермиса (EGFR)), ингибитор пути фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR) (например, ингибитор VEGFR-1, ингибитор VEGFR-2, ингибитор VEGFR-3)), ингибитор пути фактора роста из тромбоцитов (PDGF) (например, ингибитор рецептора фактора роста из тромбоцитов (PDGFR) (например, ингибитор PDGFR-β)), ингибитор RAF-1, ингибитор KIT и ингибитор RET. В некоторых вариантах осуществления вторым терапевтическим агентом является акситиниб (AG013736), бозутиниб (SKI-606), цедираниб (RECENTIN™, AZD2171), дасатиниб (SPRYCEL®, BMS-354825), эрлотиниб (TARCEVA®), гефитиниб (IRESSA®), иматиниб (Gleevec®, CGP57148B, STI-571), лапатиниб (TYKERB®, TYVERB®), лестауртиниб (CEP-701), нератиниб (HKI-272), нилотиниб (TASIGNA®), семаксаниб (семаксиниб, SU5416), сунитиниб (SUTENT®, SU11248), тоцераниб (PALLADIA®), вадетаниб (ZACTIMA®, ZD6474), ваталаниб (PTK787,

PTK/ZK), трастузумаб (HERCEPTIN®), бевацизумаб (AVASTIN®), ритуксимаб (RITUXAN®), цетуксимаб (ERBITUX®), панитумумаб (VECTIBIX®), ранибизумаб (Lucentis®), нилотиниб (TASIGNA®), сорафениб (NEXAVAR®), алемтузумаб (CAMPATH®), гемтузумаб озогамицин (MYLOTARG®), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, довитиниба лактат (TKI258, CHIR-258), BIBW 2992 (TOVOK™), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, ABT-869, MP470, BIBF 1120 (VARGATEF®), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS-690154, CEP-11981, тивозаниб (AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647, XL228, AEE788, AG-490, AST-6, BMS-599626, CUDC-101, PD153035, пелитиниб (EKB-569), вадетаниб (зактима), WZ3146, WZ4002, WZ8040, ABT-869 (линифаниб), AEE788, AP24534 (понатиниб), AV-951 (тивозаниб), акситиниб, BAY 73-4506 (регорафениб), бриваниба аланинат (BMS-582664), бриваниб (BMS-540215), цедираниб (AZD2171), CHIR-258 (довитиниб), CP 673451, CYC116, E7080, Ki8751, мазитиниб (AB1010), MGCD-265, мотезаниба дифосфат (AMG-706), MP-470, OSI-930, пазопаниба гидрохлорид, PD173074, сорафениба тозилат (Bay 43-9006), SU 5402, TSU-68 (SU6668), ваниб, XL880 (GSK1363089, EXEL-2880). Выбранные ингибиторы тирозинкиназы выбирают из сунитиниба, эрлотиниба, гефитиниба или сорафениба. В некоторых вариантах осуществления ингибитором EGFR является биспецифическое антитело EGFRc-Met (EM-1 mAb), содержащее тяжелую и легкую цепи с SEQ ID NO: 249, 250, 251 и 252 (US2014/0141000).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибиторами рецептора фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), которые включают в себя бевацизумаб (Avastin®), акситиниб (Inlyta®), бриваниба аланинат (BMS-582664, (S)-((R)-1-(4-(4-фтор-2-метил-1H-индол-5-илокси)-5-метилпирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-6-илокси)пропан-2-ил)2-аминопропаноат), сорафениб (Nexavar®); пазопаниб (Votrient®), сунитиниба малат (Sutent®), цедираниб (AZD2171, CAS 288383-20-1), варгатеф (BIBF1120, CAS 928326-83-4), форетиниб (GSK1363089), телатиниб (BAY57-9352, CAS 332012-40-5), апатиниб (YN968D1, CAS 811803-05-1), иматиниб (Gleevec®), понатиниб (AP24534, CAS 943319-70-8), тивозаниб (AV951, CAS 475108-18-0), регорафениб (BAY73-4506, CAS 755037-03-7), ваталаниба дигидрохлорид (PTK787, CAS 212141-51-0), бриваниб (BMS-540215, CAS 649735-46-6), вандетаниб (Caprelsa® или AZD6474), мотезаниба дифосфат (AMG706, CAS 857876-30-3, N-(2,3-дигидро-3,3-диметил-1H-индол-6-ил)-2-[(4-пиридинилметил)амино]-3-пиридинкарбоксамид, описанный в публикации PCT № WO 02/066470), довитиниб-димолочная кислота (TKI258, CAS 852433-84-2), линфаниб (ABT869, CAS 796967-16-3); кабозантиниб (XL184, CAS 849217-68-1), лестауртиниб (CAS 111358-88-4); N-[5-к5-(1,1-диметилэтил)-2-оксазолил]метил]тио]-2-тиазолил]-4-пиперидинкарбоксамид (BMS38703, CAS 345627-80-7); (3R,4R)-4-амино-1-((4-((3-метоксифенил)амино)пирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-5-ил)метил)пиперидин-3-ол (BMS690514); N-(3,4-дихлор-2-фторфенил)-6-метокси-7-[[(3aα,5β,6aα)октагидро-2-метилциклопента[c]пиррол-5-ил]метокси]-4-хиназолинамин (XL647, CAS 781613-23-8); 4-метил-3-[[1-метил-6-(3-пиридинил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4-ил]амино]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид (BHG712, CAS 940310-85-0) и афлиберцепт (Eylea®).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором PI3K. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой ингибитор дельта- и гамма-изоформ PI3K. Примеры ингибиторов PI3K, которые можно применять, описаны, например, в WO 2010/036380, WO 2010/006086, WO 09/114870, WO 05/113556, GSK 2126458, GDC-0980, GDC-0941, Sanofi XL147, XL756, XL147, PF-46915032, BKM 120, CAL-101, CAL 263, SF1126, PX-886, и ингибитор двойного PI3K (например, Novartis BEZ235).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором mTOR, например, одним или более ингибиторами mTOR, которые выбирают из одного или более из рапамицина, темсиролимуса (TORISEL®), AZD8055, BEZ235, BGT226, XL765, PF-4691502, GDC0980, SF1126, OSI-027, GSK1059615, KU-0063794, WYE-354, Palomid 529 (P529), PF-04691502, или PKI-587, ридафоролимуса (ранее известного как деферолимус, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-дигидрокси-19,30-диметокси-15,17,21,23,29,35-гексаметил-2,3,10,14,20-пентаоксо-11,36-диокса-4-азатрицикло[30.3.1.04,9]гексатриаконта-16,24,26,28-тетраен-12-ил]пропил]-2-метоксициклогексила диметилфосфинат, также известного как AP23573 и MK8669 и описанного в публикации PCT № WO 03/064383); эверолимуса (Afinitor® или RAD001); рапамицина (AY22989, Sirolimus®); симапимода (CAS 164301-51-3); эмсиролимуса, (5-{2,4-бис-[(3S)-3-метилморфолин-4-ил]пиридо[2,3-d]пиримидин-7-ил}-2-метоксифенил)метанола (AZD8055); 2-амино-8-[транс-4-(2-гидроксиэтокси)циклогексил]-6-(6-метокси-3-пиридинил)-4-метилпиридо[2,3-d]пиримидин-7(8H)-она (PF04691502, CAS 1013101-36-4) и N2-[1,4-диоксо-4-[[4-(4-оксо-8-фенил-4H-1-бензопиран-2-ил)морфолиний-4-ил]метокси]бутил]-L-аргинилглицил-L-α-аспартил-L-серина (SEQ ID NO: 237), внутренней соли (SF1126, CAS 936487-67-1) и XL765.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором BRAF, например, GSK2118436, RG7204, PLX4032, GDC-0879, PLX4720 и сорафениба тозилат (Bay 43-9006).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибито-

ром MEK.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором JAK2, например, CEP-701, INCB18424, CP-690550 (тасоцитиниб).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с паклитакселом или агентом паклитаксела, например, с TAXOL®, со связанным с белком паклитакселом (например, ABRAXANE®). Примеры агентов паклитаксела включают в себя наночастицы связанного с альбумином паклитаксела (ABRAXANE, продается компанией Abraxis Bioscience), связанный с докозагексаеновой кислотой паклитаксел (ДГК-паклитаксел, Taxoprexin, продается компанией Protarga), связанный с полиглутаматом паклитаксел (PG-паклитаксел, паклитаксел полиглумекс, CT-2103, XYOTAX, продается компанией Cell Therapeutic), активируемое опухолью пролекарство (TAP), ANG105 (Angiopep-2, связанный с тремя молекулами паклитаксела, продается компанией ImmunoGen), паклитаксел-EC-1 (паклитаксел, связанный с erbB2-распознающим пептидом EC-1; см. Li et al., Biopolymers (2007) 87:225-230) и конъюгированный с глюкозой паклитаксел (например, 2'-паклитаксел метил-2-глюкопиранозилсукцинат, см. Liu et al., (2007) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 17:617-620).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с клеточной иммунотерапией (например, Provenge (например, Sipuleucel)) и необязательно в комбинации с циклофосфамидом.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения рака поджелудочной железы, включают себя химиотерапевтический агент, например, паклитаксел или агент паклитаксела (например, композицию паклитаксела, такую как TAXOL, стабилизированную альбумином композицию наночастиц паклитаксела (например, ABRAXANE) или липосомную композицию паклитаксела); гемцитабин (например, гемцитабин отдельно или в комбинации с AXP107-11); другие химиотерапевтические агенты, такие как оксалиплатин, 5-фторурацил, капецитабин, рубитекан, эпирубицин-гидрохлорид, NC-6004, цисплатин, доцетаксел (например, TAXOTERE), митомицин C, ифосфамид; интерферон; ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб, панитумумаб, цетуксимаб, нимотузумаб)); ингибитор рецептора HER2/neu (например, трастузумаб); ингибитор двойной киназы (например, бозутиниб, саракатиниб, лапатиниб, вандетаниб); ингибитор множественной киназы (например, сорафениб, сунитиниб, XL184, пазопаниб); ингибитор VEGF (например, бевацизумаб, AV-951, бриваниб); радиоиммунотерапию (например, XR303); вакцину против рака (например, GVAX, пептид сурвивин); ингибитор COX-2 (например, целекоксиб); ингибитор рецептора IGF-1 (например, AMG 479, MK-0646); ингибитор mTOR (например, эверолимус, темсиролимус), ингибитор IL-6 (например, CNTO 328); ингибитор циклин-зависимой киназы (например, P276-00, UCN-01); соединение, направленное на изменение энергетического метаболизма (AEMD) (например, CPI-613); ингибитор HDAC (например, вориностат); агонист рецептора-2 к TRAIL (TR-2) (например, конатумумаб); ингибитор MEK (например, AS703026, селуметиниб, GSK1120212); ингибитор двойной киназы Raf/MEK (например, RO5126766), ингибитор сигнализации Notch (например, MK0752), гибридный белок моноклонального антитела с антителом (например, L19IL2), куркумин; ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090), rIL-2; денилейкин дифтитокс; ингибитор топоизомеразы 1 (например, ринотекан, PEP02); статин (например, симвастатин), ингибитор фактора VIIa (например, PCI-27483), ингибитор AKT (например, RX-0201), активируемое гипоксией пролекарство (например, TH-302), метформина гидрохлорид, ингибитор гамма-секретазы (например, R04929097), ингибитор рибонуклеотид-редуктазы (например, 3-AP), иммунотоксин (например, HuC242-DM4), ингибитор PARP (например, KU-0059436, велипариб), ингибитор CTLA-4 (например, CP-675,206, ипилимумаб), терапию AdV-tk, ингибитор протеосом (например, бортезомиб (Velcade), NPI-0052), тиазолидиндион (например, пиоглитазон), NPC-1C; ингибитор киназы Aurora (например, R763/AS703569), ингибитор CTGF (например, FG-3019), siG12D LODER, и радиационную терапию (например, томотерапию, стереотаксическое облучение, протонную терапию), хирургию и их комбинацию. В определенных вариантах осуществления с антителами по изобретению можно применять комбинацию паклитаксела или агента паклитаксела с гемцитабином.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения мелкоклеточного рака легкого (SCLC), включают в себя такие одобренные лекарственные средства для лечения SCLC, как метотрексат (Folex®, Mexate®), эверолимус (Afinitor®), доксорубицина гидрохлорид, этопозида фосфат (Etopophos®), топотекана гидрохлорид (Hycamtin®), мехлоретамина гидрохлорид (Mustargen®), топотекана гидрохлорид. Другими терапевтическими агентами, которые можно применять, являются карбоплатин, цисплатин, оксалиплатин, иринотекан, гемцитабин, липосомный SN-38, бендамустин, темозоломид, белотекан, NK012, FR901228, флавопиридол), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб, гефитиниб, цетуксимаб, панитумумаб), ингибитор множественной киназы (например, сорафениб, сунитиниб), ингибитор VEGF (например, бевацизумаб, вандетаниб), вакцина против рака (например, GVAX); ингибитор Bcl-2 (например, облимерсен натрий, ABT-263), ингибитор протеосом (например, бортезомиб (Velcade), NPI-0052), паклитаксел или агент паклитаксела; доцетаксел, ингибитор рецептора IGF-1 (например, AMG 479), ингибитор HGF/SF (например, AMG 102, MK-0646), хлорохин, ингибитор киназы Aurora (например, MLN8237), радиоиммунотерапия (например, TF2), ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090), ингибитор mTOR (например, эверолимус), биспецифическое антитело к Ep-CAM/CD3 (например, MT110), ингибитор CK-2 (например, CX-4945), ингибитор HDAC (например, белиностат), антагонист SMO (например, BMS 833923), пептидная вакцина против рака и радиационная терапия (например, радиационная терапия с модуляцией интенсивности (IMRT), гипофракционированная радиационная терапия, радиационная терапия по местам гипоксии), хирургия и их комбинации.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения немелкоклеточного рака легкого, включают в себя одобренные лекарственные средства для лечения NSCLC, в том числе метотрексат (Folex®, Mexate®), паклитаксел (Abraxane®), афатиниб (Gilotrif®), эверолимус (Afinitor®), алектиниб (Alecensa®), пеметрексед динатрий (Alimta®), бевацизумаб (Avastin®), карбоплатин, церитиниб (Zykadia®), кризотиниб (Xalkori®), рамуцирумаб (Cyramza®), доцетаксел, эверолимус (Afinitor®), гефитиниб (Iressa®), афатиниба дималеат (Gilotrif®), гемцитабина гидрохлорид (Gmezar®), пембролизумаб (Keytruda®), мехлоретамина гидрохлорид (Mustargen®), винорелбина тартрат (Navelbine®), нецитумумаб (Portrazza®), ниволумаб (Opdivo®), осимертиниб, паклитаксел (Taxol®), карбоплатин, пеметрексед динатрий, рамуцирумаб (Cyramza®), осимертиниб (Tagrisso®). Другими терапевтическими агентами, которые можно применять, являются винорелбин, цисплатин, доцетаксел, пеметрексед динатрий, этопозид, гемцитабин, карбоплатин, липосомный SN-38, TLK286, темозоломид, топотекан, пеметрексед динатрий, азацитидин, иринотекан, тегафур-гимерацил-отерацил-калий, сапацитабин, ингибитор тироизинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб, гефитиниб, цетуксимаб, панитумумаб, нецитумумаб, PF-00299804, нимотузумаб, RO5083945)), ингибитор MET (например, PF-02341066, ARQ 197), ингибитор киназы PI3K (например, XL147, GDC-0941), ингибитор двойной киназы Raf/MEK (например, RO5126766), ингибитор двойной киназы PI3K/mTOR (например, XL765), ингибитор SRC (например, дасатиниб), двойной ингибитор (например, BIBW 2992, GSK1363089, ZD6474, AZD0530, AG-013736, лапатиниб, MEHD7945A, линифаниб), ингибитор множественной киназы (например, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, AMG 706, XL184, MGCD265, BMS-690514, R935788), ингибитор VEGF (например, эндостар, эндостатин, бевацизумаб, цедираниб, BIBF 1120, акситиниб, тивозаниб, AZD2171), вакцина против рака (например, вакцина липосом BLP25, GVAX, рекомбинантная ДНК и аденовирус, экспрессирующий белок L523S), ингибитор Bcl-2 (например, облимерсен натрий), ингибитор протеосом (например, бортезомиб, карфилзомиб, NPI-0052, MLN9708), паклитаксел или агент паклитаксела, доцетаксел, ингибитор рецептора IGF-1 (например, циксутумумаб, MK-0646, OSI 906, CP-751,871, BIIB022), гидроксихлорохин, ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090, AUY922, XL888), ингибитор mTOR (например, эверолимус, темсиролимус, ридафоролимус), биспецифическое антитело Ep-CAM/CD3 (например, MT110), ингибитор CK-2 (например, CX-4945), ингибитор HDAC (например, MS 275, LBH589, вориностат, вальпроевая кислота, FR901228), ингибитор DHFR (например, пралатрексат), ретиноид (например, бексаротен, третиноин), конъюгат антитела с лекарственным средством (например, SGN-15), бисфосфонат (например, золедроновая кислота), вакцина против рака (например, белагенпуматуцел-L), низкомолекулярный гепарин (LMWH) (например, тинзапарин, эноксапарин), GSK1572932A, мелатонин, талактоферрин, димесна, ингибитор топоизомеразы (например, амрубицин, этопозид, каренитецин), нелфинавир, циленгитид, ингибитор ErbB3 (например, MM-121, U3-1287), ингибитор сурвивина (например, YM155, LY2181308), эрибулина мезилат, ингибитор COX-2 (например, целекоксиб), пегфилграстим, ингибитор Polo-образной киназы 1 (например, BI 6727), агонист рецептора 2 к TRAIL (TR-2) (например, CS-1008), конъюгат пептида CNGRC (SEQ ID NO: 225) и ФНО-альфа, дихлорацетат (DCA), ингибитор HGF (например, SCH 900105), SAR240550, агонист PPAR-гамма (например, CS-7017), ингибитор гамма-секретазы (например, RO4929097), эпигенетическая терапия (например, 5-азацитидин), нитроглицерин, ингибитор MEK (например, AZD6244), ингибитор зависимой от циклина киназы (например, UCN-01), холестерин-Fus1, агент антитубулина (например, E7389), ингибитор фарнезил-OH-трансферазы (например, лонафарниб), иммунотоксин (например, BB-10901, SS1 (dsFv) PE38), фондапаринукс, разрушающий сосуды агент (например, AVE8062), ингиби-

тор PD-L1 (например, MDX-1105, MDX-1106), бета-глюкан, NGR-hTNF, EMD 521873, ингибитор MEK (например, GSK1120212), аналог эпотилона (например, иксабепилон), ингибитор кинезина веретена (например, 4SC-205), нацеленный на теломеры агент (например, KML-001), ингибитор пути P70 (например, LY2584702), ингибитор AKT (например, MK-2206), ингибитор ангиогенеза (например, леналидомид), ингибитор сигнализации Notch (например, OMP-21M18), биспецифическое антитело EM-1 к EGFR/c-Met, как описано в US2014/0141000A1, радиационная терапия, хирургия и их комбинации.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения рака яичника, включают в себя одобренные лекарственные средства для лечения рака яичника, такие как мелфалан (Alkeran®), бевацизумаб (Avastin®), карбоплатин, циклофосфамид (Clafen®, Cytoxan®), клисплатин, доксорубицина гидрохлорид, гемцитабина гидрохлорид (Gemzar®), топотекана гидрохлорид (Hycamtin®), Olaparib (Lynparza®), карбоплатин, цисплатин, паклитаксел (Taxol®), тиотепа и топотекана гидрохлорид. Другими терапевтическими агентами, которые можно применять, являются ифосфамид, олапариб, оксалиплатин, пеметрексед динатрий, SJG-136, этопозид, децитабин; иммунотерапия (например, APC8024, ореговомаб, OPT-821), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб), ингибитор двойной киназы (например, E7080), ингибитор множественной киназы (например, AZD0530, JI-101, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб), ингибитор VEGF (например, бевацизумаб, BIBF 1120, цедираниб, AZD2171), ингибитор PDGFR (например, IMC-3G3), паклитаксел, ингибитор топоизомеразы (например, каренитецин, иринотекан), ингибитор HDAC (например, вальпроат, вориностат), ингибитор рецептора фолата (например, фарлетузумаб), ингибитор ангиопоэтина (например, AMG 386), аналог эпотилона (например, иксабепилон), ингибитор протеосом (например, карфилзомиб), ингибитор рецептора IGF-1 (например, OSI 906, AMG 479), ингибитор PARP (например, велипариб, AG014699, инипариб, MK-4827), ингибитор киназы Aurora (например, MLN8237, ENMD-2076), ингибитор ангиогенеза (например, леналидомид), ингибитор DHFR (например, пралатрексат), радиоиммунотерапевтический агент (например, Hu3S193), статин (например, ловастатин), ингибитор топоизомеразы-1 (например, NKTR-102), вакцина против рака (например, вакцина p53 из синтетических длинных пептидов, вакцина из аутологичного OC-DC), ингибитор mTOR (например, темсиролимус, эверолимус), ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб), антагонист рецептора ET-A (например, ZD4054), агонист рецептора-2 к TRAIL (TR-2) (например, CS-1008), ингибитор HGF/SF (например, AMG 102), EGEN-001, ингибитор Polo-образной киназы 1 (например, BI 6727), ингибитор гамма-секретазы (например, RO4929097), ингибитор Wee-1 (например, MK-1775), антитубулиновый агент (например, винорелбин, E7389), иммунотоксин (например, денилейкин дифтитокс), SB-485232, разрушающий сосуды агент (например, AVE8062), ингибитор интегрина (например, EMD 525797), ингибитор кинезина веретена (например, 4SC-205), ревлимид, ингибитор HER2 (например, MGAH22), ингибитор ErrB3 (например, MM-121), радиационная терапия и их комбинации.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения миеломы, включают в себя одно или более из химиотерапии или других агентов против рака (например, аналогов талидомида, например, леналидомид), HSCT (Cook, (2008) J Manag Care Pharm 14 (7 Suppl): 19-25) и антитело к TIM-3 (Hallett et al., (2011) J of American Society for Blood and Marrow Transplantation 17 (8): 1133-145), дендритные клетки после контакта с антигеном опухоли, слияния (например, электрослияния) опухолевых клеток и дендритных клеток или вакцинация идиотипом иммуноглобулина, продуцируемого злокачественными плазмоцитами (обзор в Yi (2009) Cancer J 15 (6): 502-10).

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения рака почки, например, почечно-клеточной карциномы (RCC) или метастазов RCC, включают в себя лекарственные средства, одобренные для лечения RCC, в том числе эверолимус (Afinitor®), алдеслейкин, бевацизумаб (Avastin®), акситиниб (Inlyta®), кабозантиниб-S-малат (Cabometyx®), алдеслейкин (Proleukin®), ленватиниба мезилат (Lenvima®), сорафениба тозилат (Nexavar®), ниволумаб (Opdivo®), пазопаниба гидрохлорид, сорафениба тозилат, сунитиниб (Sutent®), темсиролимус (Torisel®) и пазопаниба гидрохлорид (Votrient®). Другими терапевтическими средствами, которые можно применять, являются нацеленный агент (например, ингибитор VEGF, такой как моноклональное антитело к VEGF (например, бевацизумаб)), ингибитор тирозинкиназы, такой как сорафениб, акситиниб и пазопаниб.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), включают в себя химиотерапевтический агент (например, цитарабин, гидроксимочевину, клофарабин, мелфалан, тиотепу, флударабин, бусульфан, этопозид, кордицепин, пентостатин, капецитабин, азацитидин, циклофосфамид, кладрибин, топотекан), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб, нилотиниб)), ингибитор двойной киназы (например, дасатиниб, бозутиниб), ингибитор множественной киназы (например, DCC-2036, понатиниб, сорафениб, сунитиниб, RGB-286638), интерферон-альфа, стероиды, агент апоптоза (например, омацетаксина мепесукцинат), иммунотерапию (например, аллогенные Th1-подобные Т-клетки памяти CD4+/связанные на микрочастицах анти-CD3/анти-CD2 8, аутологичные ин-

дуцированные цитокином клетки-киллеры (CIK), AHN-12), нацеливающий агент CD52 (например, алемтузумаб), ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090, AUY922, XL888), ингибитор mTOR (например, эверолимус), антагонист SMO (например, BMS 833923), ингибитор рибонуклеотид-редуктазы (например, 3-AP), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), гидроксихлорохин, ретиноид (например, фенретинид), ингибитор зависимой от циклина киназы (например, UCN-01), ингибитор HDAC (например, белиностат, вориностат, JNJ-26481585), ингибитор PARP (например, велипариб), антагонист MDM2 (например, RO5045337), ингибитор киназы Aurora B (например, TAK-901), радиоиммунотерапию (например, меченное актинием-225 антитело HuM 195 к CD33), ингибитор Hedgehog (например, PF-04449913), ингибитор STAT3 (например, OPB-31121), KB004, вакцину против рака (например, AG858), пересадку костного мозга, пересадку стволовых клеток, радиационную терапию и их комбинации.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), включают в себя химиотерапевтический агент (например, флударабин, циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, хлорамбуцил, бендамустин, хлорамбуцил, бусульфан, гемцитабин, мелфалан, пентостатин, митоксантрон, 5-азацитидин, пеметрексед динатрий), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб), ингибитор BTK (например, PCI-32765 (ибрутиниб), ингибитор множественной киназы (например, MGCD265, RGB-286638), нацеливающий агент CD-20 (например, ритуксимаб, офатумумаб, RO5072759, LFB-R603), нацеливающий агент CD52 (например, алемтузумаб), преднизолон, дарбепоэтин-альфа, леналидомид, ингибитор Bcl-2 (например, ABT-263), иммунотерапию (например, аллогенные Th1-подобные Т-клетки памяти CD4+/связанные на микрочастицах анти-CD3/анти-CD28, аутологичные индуцированные цитокином клетки-киллеры (CIK)), ингибитор HDAC (например, вориностат, вальпроевая кислота, LBH589, JNJ-26481585, AR-42), ингибитор XIAP (например, AEG35156), нацеливающий агент CD-74 (например, милатузумаб), ингибитор mTOR (например, эверолимус), AT-101, иммунотоксин (например, CAT-8015, анти-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2)), нацеливающий агент CD37 (например, TRU-016), радиоиммунотерапию (например, 131-тоситумомаб), гидроксихлорохин, перифосин, ингибитор SRC (например, дасатиниб), талидомид, ингибитор PI3K-дельта (например, CAL-101), ретиноид (например, фенретинид), антагонист MDM2 (например, RO5045337), плериксафор, ингибитор киназы Aurora (например, MLN8237, TAK-901), ингибитор протеосом (например, бортезомиб), нацеливающий агент CD-19 (например, MEDI-551, MOR208), ингибитор MEK (например, ABT-348), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), активируемое гипоксией пролекарство (например, TH-302), паклитаксел или агент паклитаксела, ингибитор HSP90, ингибитор AKT (например, MK2206), ингибитор HMG-CoA (например, симвастатин), GNKG186, радиационную терапию, пересадку костного мозга, пересадку стволовых клеток и их комбинацию.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения острого лимфоцитарного лейкоза (ОЛЛ), включают в себя химиотерапевтический агент (например, преднизолон, дексаметазон, винкристин, аспарагиназу, даунорубицин, циклофосфамид, цитарабин, этопозид, тиогуанин, меркаптопурин, клофарабин, липосомный аннамицин, бусульфан, этопозид, капецитабин, децитабин, азацитидин, топотекан, темозоломид), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб, нилотиниб)), ON 01910.Na, ингибитор множественной киназы (например, сорафениб), нацеливающий агент CD-20 (например, ритуксимаб), нацеливающий агент CD52 (например, алемтузумаб), ингибитор HSP90 (например, STA-9090), ингибитор mTOR (например, эверолимус, рапамицин), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), ингибитор рецептора HER2/neu (например, трастузумаб), ингибитор протеосом (например, бортезомиб), метотрексат, аспарагиназу, нацеливающий агент CD-22 (например, эпратузумаб, инотузумаб), иммунотерапию (например, аутологичные индуцированные цитокином клетки-киллеры (CIK), AHN-12), блинатумомаб, ингибитор зависимой от циклина киназы (например, UCN-01), нацеливающий агент CD45 (например, BC8), антагонист MDM2 (например, RO5045337), иммунотоксин (например, CAT-8015, DT2219ARL), ингибитор HDAC (например, JNJ-26481585), JVRS-100, паклитаксел или агент паклитаксела, ингибитор STAT3 (например, OPB-31121), ингибитор PARP (например, велипариб), EZN-2285, радиационную терапию, стероиды, пересадку костного мозга, пересадку стволовых клеток или их комбинацию.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), включают в себя химиотерапевтический агент (например, цитарабин, даунорубицин, идарубицин, клофарабин, децитабин, восароксин, азацитидин, клофарабин, рибавирин, CPX-351, треосульфан, элацитарабин, азацитидин), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб, нилотиниб)), ON 01910.Na, ингибитор множественной киназы (например, мидостаурин, SU 11248, квизартиниб, сорафиниб), иммунотоксин (например, гемтузумаб озогамицин), гибридный белок DT388IL3, ингибитор HDAC (например, вориностат, LBH589), плериксафор, ингибитор mTOR (например, эверолимус), ингибитор SRC (например, дасатиниб), ингибитор HSP90 (например, STA-9090), ретиноид (например, бексаротен), ингибитор киназы Aurora (например, BI 811283), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), ингибитор Polo-образной киназы (например, BI 6727), ценерсен, нацеливающий агент CD45 (например, BC8), ингибитор зависимой от циклина киназы (например, UCN-01), антагонист MDM2 (например, RO5045337), ингибитор mTOR

(например, эверолимус), LY573636-натрий, ZRx-101, MLN4924, леналидомид, иммунотерапию (например, AHN-12), гистамина дигидрохлорид, радиационную терапию, пересадку костного мозга, пересадку стволовых клеток и их комбинацию.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения множественной миеломы (MM), включают в себя химиотерапевтический агент (например, мелфалан, амифостин, циклофосфамид, доксорубицин, клофарабин, бендамустин, флударабин, адриамицин, SyB L-0501), талидомид, леналидомид, дексаметазон, преднизон, помалидомид, ингибитор протеосом (например, бортезомиб, карфилзомиб, MLN9708), вакцину против рака (например, GVAX), нацеливающий агент CD-40 (например, SGN-40, CHIR-12.12), перифосин, золедроновую кислоту, иммунотерапию (например, MAGE-A3, NY-ESO-1, HuMax-CD38), ингибитор HDAC (например, вориностат, LBH589, AR-42), аплидин, ингибитор зависимой от циклина киназы (например, PD-0332991, динациклиб), триоксид мышьяка, CB3304, ингибитор HSP90 (например, KW-2478), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, цетуксимаб)), ингибитор множественной киназы (например, AT9283), ингибитор VEGF (например, бевацизумаб), плериксафор, ингибитор MEK (например, AZD6244), IPH2101, аторвастатин, иммунотоксин (например, BB-10901), NPI-0052, радиоиммунотерапию (например, иттрий Y-90 ибритумомаб тиуксетан), ингибитор STAT3 (например, OPB-31121), MLN4924, ингибитор киназы Aurora (например, ENMD-2076), IMGN901, ACE-041, ингибитор CK-2 (например, CX-4945), антитело к CD38 (например, DARZALEX® (даратумумаб)), радиационную терапию, пересадку костного мозга, пересадку стволовых клеток и их комбинацию.

Примерами терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения рака предстательной железы, являются одобренные лекарственные средства для лечения рака предстательной железы, такие как абиратерона ацетат (Zytiga®), бикалутамид (Casodex®), кабазитаксел (Jevtana®), конъюгированные эстрогены (Premarin®), страдиол (Estrace®), эстрадиола валерат (Delestrogen®), этерифицированные эстрогены (Menest®), дегареликс (Firmagon®), доцетаксел (Taxotere®), энзалутамид (Xtandi®), флутамид, госерелина ацетат (Zoladex®), кабазитаксел (Jevtana®), лейпролида ацетат (Lupron®), митоксантрона гидрохлорид, нилутамид (Nilandron®) сипулейцел-Т (Provenge®) и радия-223 дихлорид (Xofigo®). Другие лекарственные средства, которые можно применять, включают в себя химиотерапевтический агент (например, карбоплатин, флударабин), гормональную терапию (например, ципротерона ацетат, кетоконазол, аминоглутетимид, абареликс, дегареликс, лейпролид, трипторелин, бусерелин), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор двойной киназы (например, лапатаниб)), ингибитор множественной киназы (например, сорафениб, сунитиниб), ингибитор VEGF (например, бевацизумаб), TAK-700, вакцину против рака (например, BPX-101, PEP223), леналидомид, TOK-001, ингибитор рецептора IGF-1 (например, циксутумумаб), TRC105, ингибитор киназы Aurora A (например, MLN8237), ингибитор протеосом (например, бортезомиб), OGX-011, радиоиммунотерапию (например, HuJ591-GS), ингибитор HDAC (например, вальпроевая кислота, SB939, LBH589), гидроксихлорохин, ингибитор mTOR (например, эверолимус), довитиниба лактат, дииндолилметан, эфавиренз, OGX-427, генистеин, IMC-3G3, бафетиниб,CP-675,206, радиационную терапию, хирургию или их комбинацию.

Примеры терапевтических агентов, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для лечения плоскоклеточной карциномы головы и шеи (HNSCC), включают в себя метотрексат (Folex®, Mexate®), блеомицин (Blenoxane®), доцетаксел (Taxotere®), эрбитукс (Cetuximab®), гидроксимочевину (Hydrea®) или пембролизумаб (Keytruda®).

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с агонистом TLR.

В некоторых вариантах осуществления агонист TLR3 представляет собой агонист TLR4.

В некоторых вариантах осуществления агонист TLR3 представляет собой агонист TLR7/8.

Примерами агонистов TLR являются Pam3Cys, агонист TLR-1/2; CFA, агонист TLR-2; MALP2, агонист TLR-2; Pam2Cys, агонист TLR-2; FSL-1, агонист TLR-2; Hib-OMPC, агонист TLR-2; полирибоинозиновая-полирибоцитидиновая кислота (Poly I:C), агонист TLR-3; полиаденозин-полиуридиловая кислота (поли-AU), агонист TLR-3; полиинозиновая-полицитидиловая кислота, стабилизированная поли-L-лизином и карбоксиметилцеллюлозой (Hiltonol®), агонист TLR-3; монофосфорил-липид A (MPL), агонист TLR-4; LPS, агонист TLR-4; бактериальный флагеллин, агонист TLR-5; сиалил-Tn (STn), углевод, связанный с муцином MUCI на ряде раковых человеческих клеток, и агонист TLR-4; имиквимод, агонист TLR-7; ресиквимод, агонист TLR-7/8; локсорибин, агонист TLR-7/8; и неметилированный динуклеотид CpG (CpG-ODN), агонист TLR-9.

Примерами агонистов TLR4 являются антитела-агонисты, специфически связывающие TLR4.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с антителом, которое предлагает цену CSF-1R.

Примерами антител, которые связывают CSF-1R, являются те, которые описаны в международной патентной публикации № WO2013132044.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобрете-

нию вводят в комбинации с агонистом LXRβ.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с агонистом DR4.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с агонистом DR5.

Приемлемые агонисты DR4 и DR5 описаны, например, в международной патентной публикации № WO2014159562.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с антителом к галектину-1.

Примерами антител к галектину-1, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению, являются те, которые описаны в международной патентной публикации № WO2015013389.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с ингибитором BTK.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор BTK представляет собой IMBRUVICA® (ибрутиниб).

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с антителом к HER2.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с антителом к CD20.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят совместно с (например, до, одновременно или после) трансплантацией костного мозга, абляционной Т-клеточной терапией с помощью химиотерапевтических агентов, таких как флударабин, дистанционной радиационной терапией (XRT), циклофосфамидом и/или антителами, такими как OKT3 или CAMPATH. В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению можно вводить после абляционной В-клеточной терапии, такой как с агентами, которые реагируют с CD20, например, ритуксаном. Например, в одном варианте осуществления субъекты могут проходить стандартное лечение высокодозной химиотерапией с последующей трансплантацией стволовых клеток периферической крови. В определенных вариантах осуществления после трансплантации субъекты получают антитела по изобретению.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят до или после хирургической операции.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем документе, антитела по изобретению вводят в комбинации с радиационной терапией.

Радиационную терапию можно проводить с помощью различных способов, включая дистанционную радиационную терапию, внутреннюю радиационную терапию, облучение с имплантатом, стереотаксическую радиохирургию, системную радиационную терапию, радиотерапию и постоянную или временную интерстициальную брахитерапию. К дистанционной радиационной терапии относятся трехмерная, конформная радиационная терапия, в которой формируется поле облучения, местное облучение (например, облучение, направленное на выбранную мишень или орган) или сфокусированное облучение. Сфокусированное облучение можно выбирать из стереотаксической радиохирургии, фракционированной стереотаксической радиохирургии или радиационной терапии с модуляцией интенсивности. В качестве источника радиации при сфокусированном облучении может использоваться пучок частиц (протоны), кобальт-60 (фотоны), линейный ускоритель (рентгеновские лучи) (например, см. WO 2012/177624). Термин "брахитерапия" относится к радиационной терапии с источником в пространственно-ограниченном радиоактивном материале, введенном в организм в или рядом с опухолью или другим местом пролиферативного заболевания ткани, и включает в себя воздействие радиоактивных изотопов (например, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32 и радиоактивных изотопов Lu). Приемлемые источники излучения для применения при кондиционировании клеток включают в себя как твердые вещества, так и жидкости. Источник излучения может представлять собой радионуклид, такой как твердые источники I-125, I-131, Yb-169, Ir-192, твердый источник I-125 или другие радионуклиды, которые испускают фотоны, бета-частицы, гамма-излучение или другие терапевтические лучи. Радиоактивный материал также может представлять собой жидкость из любого раствора радионуклида (-ов), например, раствора I-125 или I-131, или радиоактивную жидкость, которую можно получить из взвеси малых частиц приемлемых твердых радионуклидов, таких как Au-198, Y-90, в жидкости. Радионуклид(ы) можно заключать в гель или в радиоактивные микросферы.

В некоторых вариантах осуществления антитела по изобретению вводят в комбинации с декарбазином для лечения меланомы. Без стремления к ограничению конкретной теорией считается, что комбинированному применению блокады PD-1 и/или TIM-3 и химиотерапии способствует гибель клеток вследствие цитотоксической активности большинства химиотерапевтических соединений, что может приводить к повышению уровней опухолевого антигена на пути презентации антигена. Другими видами комбинированной терапии, которые могут приводить к синергии с блокадой PD-1 и/или TIM-3 посредством гибели клеток, являются облучение, хирургия и выключение эндокринной функции. Каждый из этих прото-

колов создает источник опухолевого антигена в организме-хозяине. С блокадой PD-1 и/или TIM-3 можно также комбинировать ингибиторы ангиогенеза. Ингибирование ангиогенеза приводит к гибели опухолевых клеток, которые могут выделять опухолевый антиген на пути презентации антигена в организме-хозяине.

Моноспецифические антитела PD-1 и/или TIM-3 по изобретению можно также применять в комбинации с биспецифическими антителами. Биспецифические антитела можно применять для нацеливания на два отдельных антигена. Например, для нацеливания макрофагов на очаги опухолей применяли биспецифические антитела к рецептору Fc/опухолевому антигену (например, Her-2/neu). Биспецифическое нацеливание может более эффективно активировать конкретные реакции на опухоль. Применение блокады PD-1 и/или TIM-3 усилило бы Т-клеточный компонент этих реакций. Альтернативно антиген можно доставлять непосредственно в DC с помощью биспецифических антител, которые связывают опухолевый антиген и специфический маркер на поверхности дендритных клеток.

Антитела по изобретению можно применять в неконъюгированных формах или в конъюгированных со вторым агентом, например, цитотоксическим лекарственным средством, радиоизотопом или белком, например, белковым токсином или вирусным белком. Молекулы антитела можно применять для доставки разнообразных терапевтических агентов, например, цитотоксического вещества, например, терапевтического лекарственного средства, радиоизотопа, молекул растительного, грибкового или бактериального происхождения, или биологических белков (например, белковых токсинов), или частиц (например, рекомбинантных вирусных частиц, например, через белок вирусной оболочки), или их смесей.

Инфекционные заболевания.

В изобретении также предложен способ лечения субъекта, который подвергся воздействию конкретных токсинов или патогена, антителами по изобретению в течение времени, достаточного для лечения субъекта.

В изобретении также предложен способ лечения субъекта, имеющего инфекционное заболевание, который включает в себя введение терапевтически эффективного количества антитела по изобретению требующему этого субъекту в течение времени, достаточного для лечения инфекционного заболевания.

В изобретении также предложен способ лечения субъекта, имеющего вирусную инфекцию, который включает в себя введение терапевтически эффективного количества антитела по изобретению требующему этого субъекту в течение времени, достаточного для лечения вирусной инфекции.

В изобретении также предложен способ лечения субъекта, имеющего бактериальную инфекцию, который включает в себя введение терапевтически эффективного количества антитела по изобретению требующему этого субъекту в течение времени, достаточного для лечения бактериальной инфекции.

В изобретении также предложен способ лечения субъекта, имеющего грибковую инфекцию, который включает в себя введение терапевтически эффективного количества антитела по изобретению требующему этого субъекту в течение времени, достаточного для лечения грибковой инфекции.

При лечении инфекции (например, острой и/или хронической) введение антител по изобретению можно комбинировать с традиционными вариантами лечения в дополнение к стимуляции естественной иммунной защиты организма-хозяина против инфекции или вместо нее. Естественная иммунная защита организма-хозяина против инфекции включает в себя воспаление, повышение температуры, защиту организма посредством антител, защиту организма посредством Т-лимфоцитов, включая секрецию лимфокинов и цитотоксических Т-клеток (в особенности при вирусной инфекции), лизис и опсонизацию (облегченный фагоцитоз), опосредованные комплементом, и фагоцитоз. Способность антител по изобретению реактивировать дисфункциональные Т-клетки была бы полезна для лечения хронических инфекций, в особенности тех, при которых для полного выздоровления важен клеточный иммунитет.

Аналогично применению к опухолям, как описано выше, антитела по изобретению можно применять отдельно или в качестве адъюванта, в комбинации с вакцинами, для стимуляции иммунного ответа на патогены, токсины и аутоантигены. Примеры патогенов, для которых этот терапевтический подход может быть полезным, включают в себя патогены, для которых в настоящее время не имеется эффективной вакцины, или патогены, для которых традиционные вакцины эффективны не полностью. Они включают в себя ВИЧ, гепатиты (A, B, C), грипп, герпес, лямблии, малярию, лейшманию, Staphylococcus aureus и Pseudomonas aeruginosa. Блокада PD-1 и/или TIM-3 может быть полезна в отношении установленных инфекций такими агентами, как ВИЧ, которые во время течения инфекции презентируют измененные антигены. Эти новые эпитопы распознаются как чужеродные во время введения антител по изобретению, таким образом вызывая мощный Т-клеточный ответ, который не ослаблен негативными сигналами через PD-1 или TIM-3.

Вирусы.

При инфекциях, вызванных заражением вирусами, антитела по изобретению можно комбинировать со стандартными видами терапии для лечения вирусных инфекций. Такие стандартные виды терапии варьируют в зависимости от типа вируса, хотя практически во всех случаях введение сыворотки человека, которая содержит специфичные к вирусу антитела (например, IgA, IgG), оказывается эффективным.

Примеры патогенных вирусов, вызывающих инфекции, которые можно лечить антителами по изобретению, включают в себя ВИЧ, гепатит (A, B, C), вирус герпеса (например, ВЗВ, ВПГ-1, ВГА-6, ВПГ-

II, ЦМВ, вирус Эпштейна-Барр), аденовирус, вирус гриппа, флавивирусы, эховирус, риновирус, вирус коксаки, коронавирус, респираторно-синцитиальный вирус, вирус паротита, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус коровьей оспы, вирус HTLV, вирус денге, вирус папилломы, вирус моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус JC, вирус арбовирусного энцефалита.

В некоторых вариантах осуществления вирусной инфекцией является инфекция, вызванная вирусом гриппа. Инфекция вирусом гриппа приводит к повышению температуры, кашлю, миалгии, головной боли и слабости и часто происходит при сезонных эпидемиях. Грипп также вызывает ряд постинфекционных расстройств, таких как энцефалит, миоперикардит, синдром Гудпасчера, синдром Рейе. Инфекция гриппа также подавляет нормальную антибактериальную защиту в легких, так что выздоравливающие от гриппа пациенты имеют повышенный риск развития бактериальной пневмонии. Поверхностные белки вируса гриппа проявляют выраженную вариацию антигенов вследствие мутаций и рекомбинации. Таким образом, цитолизирующие Т-лимфоциты являются первичным средством устранения вируса после инфекции в организме-хозяине. Вирус гриппа имеет три основных типа: A, B и C. Вирус гриппа A уникален тем, что заражает и человека, и многих других животных (например, свиней, лошадей, птиц и тюленей), и является главной причиной пандемии гриппа. Клетка может быть инфицирована двумя разными штаммами гриппа A, сегментированные геномы РНК двух типов исходных вирусов смешиваются во время репликации с образованием гибридного репликанта, что приводит к появлению новых эпидемических штаммов. Вирус гриппа B не размножается у животных и, таким образом, имеет меньше генетических вариаций, а вирус гриппа C имеет только один серотип.

Большинство традиционных видов терапии являются паллиативными в отношении симптомов, возникающих при инфекции, тогда как иммунный ответ организма-хозяина действительно устраняет заболевание. Однако определенные штаммы (например, вирус гриппа A) могут вызывать более тяжелую болезнь и летальный исход. Вирус гриппа A можно лечить как клинически, так и профилактически посредством введения ингибиторов - циклических аминов амантадина и римантадина, которые ингибируют репликацию вируса. Однако клиническая польза этих лекарственных средств ограничена вследствие относительно частого развития нежелательных реакций, узкого противовирусного спектра (только грипп A) и способности вируса к развитию резистентности. Введение сывороточного антитела IgG к основным белкам поверхности вируса гриппа - гемагглютинину и нейраминидазе может предотвращать легочную инфекцию, тогда как для предотвращения инфекции верхних дыхательных путей и трахеи необходим мукозный IgA. Самым эффективным современным лечением гриппа является вакцинация с введением вируса, инактивированного формалином или β-пропиолактоном.

В некоторых вариантах осуществления инфекцией является инфекция гепатита, например, инфекция гепатита B или C.

Вирус гепатита B (ВГВ) представляет собой самый инфекционный из известных гемоконтактных патогенов. Он является основной причиной острого и хронического гепатита, печеночной карциномы, а также хронической инфекции в течение всей жизни. После инфицирования вирус размножается в гепатоцитах, которые также затем рассеивают поверхностный антиген HBsAg. Обнаружение избыточных уровней HBsAg в сыворотке применяется в качестве стандартного способа диагностики инфекции гепатита B. Острая инфекция может излечиваться или развиваться в стойкую хроническую инфекцию. Современные варианты лечения хронического ВГВ включают в себя α-интерферон, который повышает экспрессию антигена лейкоцита человека (HLA) класса I на поверхности гепатоцитов, таким образом способствуя их распознаванию цитотоксическими Т-лимфоцитами. Кроме того, аналоги нуклеозидов ганцикловир, фамцикловир и ламивудин в клинических испытаниях также показали некоторую эффективность в лечении инфекции ВГВ. Дополнительные варианты лечения ВГВ включают в себя пегилированный α-интерферон, аденфовир, энтекавир и телбивудин. Тогда как пассивный иммунитет можно привить посредством исходного введения сывороточных антител к HBsAg, резистентность к инфекции также достигается вакцинацией инактивированным или рекомбинантным HBsAg. Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению можно комбинировать с традиционными вариантами лечения инфекций гепатита B.

Инфекция вируса гепатита C (ВГС) может приводить к развитию хронической формы гепатита, в результате чего развивается цирроз. Хотя его симптомы аналогичны инфекциям, вызываемым гепатитом B, существенное отличие от ВГВ заключается в том, что у инфицированных хозяев симптомы могут не проявляться в течение 10-20 лет. Антитела по изобретению можно вводить как монотерапию или в комбинации со стандартным лечением инфекции гепатита C. Например, антитела по изобретению можно вводить с одним или более из Sovaldi (софосбувир), Olysio (симпервир) плюс рибавирин или пегилированный интерферон. Хотя курсы лечения, которые включают в себя Incivek (телапревир) или Victrelis (боцепревир) плюс рибавирин и пегилированный интерферон, также одобрены, они связаны с существенными побочными эффектами и большей длительностью лечения.

Традиционное лечение инфекции ВГС включает в себя введение комбинации α-интерферона и рибавирина. Многообещающий потенциал в терапии инфекции ВГС имеет ингибитор протеазы телапревир (VX-960). Дополнительные варианты лечения включают в себя бавитуксимаб (антитело, которое связы-

вает анионный фосфолипид фосфатидилсерин в зависимости от B2-гликопротеина I, компания Peregrine Pharmaceuticals), антитело(а) к белку E2 оболочки вируса ВГС (например, ATL 6865-Ab68+Ab65, компания XTL Pharmaceuticals) и Civacir® (поликлональный иммуноглобулин человека против ВГС). Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению можно комбинировать с одним или более из этих вариантов лечения инфекций гепатита С. Ингибиторы протеазы, полимеразы и NS5A, которые можно применять в комбинации с антителами по изобретению для специфического лечения инфекции гепатита С, включают в себя те, которые описаны в US 2013/0045202.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой вирус кори. После инкубации в течение 9-11 дней в организмах-хозяевах, инфицированных вирусом кори, развивается повышенная температура, кашель, ринит и конъюнктивит. В течение 1-2 дней развивается эритематозная макулопапулезная сыпь, которая быстро распространяется по всему телу. Поскольку инфекция также подавляет клеточный иммунитет, у хозяина повышается риск развития бактериальных суперинфекций, включая воспаление среднего уха, пневмонию и постинфекционный энцефаломиелит. Острая инфекция связана со значительной заболеваемостью и смертностью, в особенности у подростков с неполноценным питанием.

Лечение кори включает в себя пассивное введение пулированного IgG человека, который может предотвращать инфекцию у неиммунных субъектов, даже если вводить его в течение срока до одной недели после воздействия. Однако предварительная иммунизация живым ослабленным вирусом является наиболее эффективным лечением и предотвращает заболевание у более 95% иммунизированных индивидов. Поскольку существует один серотип такого вируса, одна иммунизация или инфекция, как правило, приводит к пожизненной защите от последующей инфекции.

У малой доли инфицированных хозяев корь может развиваться в подострый склерозирующий панэнцефалит (SSPE), который представляет собой хроническое прогрессирующее неврологическое расстройство в результате персистирующей инфекции центральной нервной системы. SSPE вызывается клональными вариантами вируса кори с дефектами, которые препятствуют сборке и почкованию вирионов. Для этих пациентов было бы желательно реактивировать Т-клетки с антителами по изобретению для облегчения устранения вируса.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). ВИЧ поражает клетки CD4+, включая Т-лимфоциты, моноциты-макрофаги, фолликулярные дендритные клетки и клетки Лангерганса; хелперные/индукторные клетки CD4+ истощаются. В результате этого в организме-хозяине развивается тяжелая недостаточность опосредованного клетками иммунитета. ВИЧ-инфекция приводит к развитию СПИДа по меньшей мере у 50% индивидов. Она передается половым путем, при введении инфицированной крови или препаратов крови, искусственном оплодотворении инфицированной спермой, контакте с загрязненными кровью иглами или шприцами и передается от инфицированной матери младенцу во время родов.

ВИЧ-инфекция в организме-хозяине может быть бессимптомной или может развиваться в острое заболевание, напоминающее мононуклеоз, с повышением температуры, головной болью, фарингитом, слабостью и сыпью. Симптомы могут развиваться в прогрессирующую иммунную дисфункцию, включая устойчивый жар, ночное потение, потерю веса, беспричинную диарею, экзему, псориаз, себорейный дерматит, опоясывающий герпес, кандидоз ротовой полости и ворсистую лейкоплакию ротовой полости. У пациентов, инфекция которых развивается в СПИД, обычны оппортунистические инфекции, вызываемые множеством паразитов.

Варианты лечения ВИЧ включают в себя виды противовирусной терапии, в том числе аналоги нуклеозидов, зидовудин (AST) отдельно или в комбинации с диданозином или залцитабином, дидезоксиинозин, дидезоксицитидин, ламивудин, ставудин; ингибиторы обратной транскрипции, такие как делавирдин, невирапин, ловирид, и ингибиторы протеазы, такие как саквинавир, ритонавир, индинавир и нелфинавир. Варианты лечения ВИЧ включают в себя EDURANT® (рилпивирин). Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению можно комбинировать с традиционными вариантами лечения ВИЧ-инфекций.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию цитомегаловируса (ЦМВ). ЦМВ-инфекция часто связана с постоянной латентной и рецидивирующей инфекцией. ЦМВ инфицирует и остается латентным в моноцитах и клетках-предшественниках гранулоцитов-моноцитов. Клинические симптомы ЦМВ включают в себя симптомы, подобные мононуклеозу (т.е. повышение температуры, набухание гланд, слабость), и склонность к аллергическим кожным высыпаниям от антибиотиков. Вирус распространяется при прямом контакте: вирус распространяется с мочой, слюной, спермой и в меньшей степени с другими физиологическими текучими средами. Передача может также происходить от инфицированной матери к ее плоду или новорожденному, а также при переливании крови и трансплантации органов. ЦМВ-инфекция приводит к общему нарушению клеточного иммунитета, которое характеризуется нарушением бластогенных реакций на неспецифические митогены и специфические антигены ЦМВ и снижением цитотоксической способности.

Варианты лечения ЦМВ-инфекции включают в себя противовирусные препараты ганцикловир, фоскарнет и цидовир, но эти лекарственные средства, как правило, прописываются только пациентам с

нарушением иммунитета. Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению, описанные в настоящем документе, можно комбинировать с традиционными вариантами лечения инфекций цитомегаловируса.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ). ВЭБ может вызывать постоянные и латентные инфекции и в первую очередь атакует В-клетки. ВЭБ-инфекция приводит к клиническому состоянию инфекционного мононуклеоза, которое проявляется повышением температуры, воспалением горла, зачастую с экссудатом, общей лимфоаденопатией и спленомегалией. Также встречается гепатит, в результате которого может развиваться желтуха.

Хотя типичные варианты лечения ВЭБ-инфекций являются симптоматическими, ВЭБ связан с развитием определенных видов рака, таких как лимфома Беркитта и рак носоглотки. Таким образом, устранение вирусной инфекции до возникновения осложнений принесло бы большую пользу. Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению можно комбинировать с традиционными вариантами лечения инфекций вируса Эпштейна-Барр.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию вируса простого герпеса (ВПГ). ВПГ передается при прямом контакте с инфицированным хозяином. Прямая инфекция может быть бессимптомной, но обычно приводит к образованию пузырей, содержащих инфекционные частицы. Заболевание проявляется как циклы активных периодов заболевания, при которых поражения появляются и исчезают по мере того, как вирус латентно инфицирует нервный узел для последующих высыпаний. Поражения могут быть на лице, половых органах, глазах и/или руках. В некоторых случаях инфекция может также вызывать энцефалит.

Варианты лечения герпетических инфекций направлены, прежде всего, на излечение симптоматических высыпаний и включают в себя системные противовирусные лекарственные средства, такие как: ацикловир (например, Zovirax®), валацикловир, фамцикловир, пенцикловир, и местные лекарственные средства, такие как доконазол (Abreva®), тромантадин и зилактин. Устранение латентных герпетических инфекций принесло бы большую клиническую пользу. Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению можно комбинировать с традиционными вариантами лечения инфекций вируса герпеса.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой Т-лимфотропный вирус человека (HTLV-1, HTLV-2). HTLV передается половым путем, при грудном вскармливании или при контакте с зараженной кровью. Вирус активирует Th1-клетки, что приводит к их чрезмерной пролиферации и избыточной продукции связанных с Th1 цитокинов (например, ИФН-γ и ФНО-α). Это, в свою очередь, приводит к супрессии Th2-лимфоцитов и уменьшению продукции связанных с Th2 цитокинов (например, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13), вызывая снижение способности инфицированного хозяина к развитию соответствующего иммунного ответа на вторгающиеся организмы, для устранения которых требуется зависимый от Th2 ответ (например, заражение паразитами, продукция мукозных и гуморальных антител).

HTLV-инфекции приводят к оппортунистическим инфекциям, вызывающим бронхоэктаз, дерматит и суперинфекции Staphylococcus spp. и Strongyloides spp., которые вызывают летальный исход от полимикробного сепсиса. HTLV-инфекция может также непосредственно приводить к лейкозу/Т-клеточной лимфоме у взрослых, а также к болезни прогрессивной демиелинизации верхних моторных нейронов, известной как HAM/TSP. Устранение латентной HTLV-инфекции принесло бы большую клиническую пользу. Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению можно комбинировать с традиционными вариантами лечения HTLV-инфекций.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой вирус папилломы человека (ВПЧ). ВПЧ преимущественно поражает кератиноциты и встречается в двух формах: кожной и генитальной. Предполагается, что передача происходит при прямом контакте и/или половом акте. Как кожная, так и генитальная ВПЧ-инфекция может вызывать бородавки и латентные инфекции, а иногда рецидивирующие инфекции, с которыми борется иммунитет хозяина, который борется с симптомами и блокирует появление бородавок, но при этом хозяин остается способным передавать инфекцию другим.

ВПЧ-инфекция может также приводить к определенным видам рака, таким как рак шейки матки, ануса, вульвы, пениса и ротоглотки. Излечение от ВПЧ-инфекции неизвестно, но современное лечение включает в себя местное нанесение имиквимода, который стимулирует иммунную систему для атаки в пораженной области. Устранение латентных ВПЧ-инфекций принесло бы большую клиническую пользу. Для обеспечения терапевтического преимущества антитела по изобретению можно комбинировать с традиционными вариантами лечения ВПЧ-инфекций.

Бактериальные инфекции.

Некоторые примеры патогенных бактерий, вызывающих инфекции, которые можно лечить антителами по изобретению, включают в себя сифилис, хламидии, риккетсии, микобактерии, стафилококки, стрептококки, пневмококки, менингококки и гонококки, клебсиеллу, протей, серратию, псевдомонаду, легионеллу, дифтерию, сальмонеллу, бациллы, бактерии холеры, столбняка, ботулизма, сибирской язвы, чумы, лептоспироза, болезни Лайма. Антитела по изобретению можно применять в комбинации с существующими видами лечения вышеуказанных инфекций. Например, варианты лечения сифилиса включа-

ют в себя пенициллин (например, пенициллин G.), тетрациклин, доксициклин, цефтриаксон и азитромицин.

Болезнь Лайма, которую вызывает Borrelia burgdorferi, передается человеку при укусах клещей. Заболевание первоначально проявляется как местная сыпь с последующими гриппоподобными симптомами, такими как слабость, повышение температуры, головная боль, ригидность шеи и артралгия. Последующие проявления могут включать в себя мигрирующий и полиартикулярный артрит, неврологические и кардиологические симптомы с параличами черепно-мозговых нервов и радикулопатией, миокардитом и аритмиями. Некоторые случаи болезни Лайма становятся постоянными, приводя к необратимым повреждениям, аналогичным третичному сифилису. Современная терапия болезни Лайма включает в себя в основном введение антибиотиков. Резистентные к антибиотику штаммы можно лечить гидроксихлорохином или метотрексатом. Пациентов с нейропатическими болями, устойчивых к лечению антибиотиками, можно лечить габапентином. Миноциклин может помогать при запущенной/хронической болезни Лайма с неврологическими или другими воспалительными проявлениями.

Другие формы боррелиозов, такие как вызванные B. recurentis, B. hermsii, B. turicatae, B. parikeri, B. hispanica, B. duttonii и B. persica, а также лептоспироз (например, от L. interrogans), обычно излечиваются самопроизвольно, если титры в крови не достигают концентраций, вызывающих внутрипеченочную обструкцию.

Грибы и паразиты.

Некоторые примеры патогенных грибов, вызывающих инфекции, которые можно лечить антителами по изобретению, включают в себя Candida (albicans, krusei, glabrata, tropicalis и др.), Cryptococcus neoformans, Aspergillus (fumigatus, niger и др.), род Mucorales (mucor, absidia, rhizophus), Sporothrix schenkii, Blastomyces dermatitidis, Paracoccidioides brasiliensis, Coccidioides immitis и Histoplasma capsulatum.

Некоторые примеры патогенных паразитов, вызывающих инфекции, которые можно лечить антителами по изобретению, описанному в настоящем документе, включают в себя Entamoeba histolytica, Balantidium coli, Naegleria fowleri, Acanthamoeba sp., Giardia lambia, Cryptosporidium sp., Pneumocystis carinii, Plasmodium vivax, Babesia microti, Trypanosoma brucei, Trypanosoma cruzi, Leishmania donovani, Toxoplasma gondi и Nippostrongylus brasiliensis.

Диагностические применения и наборы.

Наборы.

В изобретении также предложен набор, содержащий антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, по изобретению.

В изобретении также предложен набор, содержащий антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, по изобретению.

В изобретении также предложен набор, содержащий биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, по изобретению.

Набор можно применять для терапевтических применений и в виде диагностических наборов.

Набор можно применять для обнаружения наличия PD-1, TIM-3 или PD-1 и TIM-3 в биологической пробе.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело по изобретению, описанное в настоящем документе, и реактивы для обнаружения антитела. Набор может включать в себя один или более других элементов, включающих в себя: инструкции по применению; другие реагенты, например, метку, терапевтический агент или агент, используемый для хелатирования или иного сочетания, антитело для мечения, или терапевтический агент, или радиозащитную композицию; устройства или другие материалы для подготовки антитела к введению; фармацевтически приемлемые носители; а также устройства или другие материалы для введения субъекту.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело по изобретению, находящееся в контейнере, и инструкции по применению набора.

В некоторых вариантах осуществления антитело в наборе является меченым.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, которое содержит

VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 50;
VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 51;
VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 52;
VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 53;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 54;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 50;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 55;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 56;
VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 57;

VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 46 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 49;
VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 53;
VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 52;
VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56;
VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58;
VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 59;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 61;
VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 62;
VH с SEQ ID NO: 63 и VL с SEQ ID NO: 65; или
VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, которое содержит VH с SEQ ID N0: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, которое содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, которое содержит

VH с SEQ ID NO: 145 и VL с SEQ ID NO: 155;
VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156;
VH с SEQ ID NO: 148 и VL с SEQ ID NO: 157;
VH с SEQ ID NO: 147 и VL с SEQ ID NO: 155;
VH с SEQ ID NO: 149 и VL с SEQ ID NO: 158;
VH с SEQ ID NO: 150 и VL с SEQ ID NO: 159;
VH с SEQ ID NO: 151 и VL с SEQ ID NO: 160;
VH с SEQ ID NO: 152 и VL с SEQ ID NO: 161;
VH с SEQ ID NO: 153 и VL с SEQ ID NO: 162;
VH с SEQ ID NO: 154 и VL с SEQ ID NO: 163; или
VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, которое содержит VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, которое содержит VH с SEQ ID NO: 172 и VL с SEQ ID NO: 173.

В некоторых вариантах осуществления набор содержит биспецифическое антитело-антагонист PD-1/TIM-3, содержащее HC1, LC1, HC2 и LC2 с

SEQ ID NO: 186, 188, 190 и 193 соответственно;
SEQ ID NO: 186, 188, 191 и 194 соответственно;
SEQ ID NO: 187, 189, 190 и 193 соответственно;
SEQ ID NO: 187, 189, 191, 194 соответственно;
SEQ ID NO: 186, 188, 192 и 195 соответственно;
SEQ ID NO: 186, 188, 248 и 194 соответственно;
SEQ ID NO: 241, 188, 244, 195 соответственно;
SEQ ID NO: 241, 188, 245, 194 соответственно;
SEQ ID NO: 242, 189, 246, 194 соответственно;
SEQ ID NO: 243, 188, 246, 194 соответственно; или
SEQ ID NO: 243, 188, 247, 195 соответственно.

Способы обнаружения PD-1, TIM-3 или PD-1 и TIM-3.

В изобретении также предложен способ обнаружения PD-1 в пробе, включающий в себя получение пробы, приведение пробы в контакт с антителом-антагонистом, специфически связывающим PD-1, по изобретению и обнаружение в пробе антитела, связанного с PD-1.

В изобретении также предложен способ обнаружения TIM-3 в пробе, включающий в себя получение пробы, приведение пробы в контакт с антителом-антагонистом, специфически связывающим TIM-3, по изобретению и обнаружение в пробе антитела, связанного с TIM-3.

В изобретении также предложен способ обнаружения PD-1 и TIM-3 в пробе, включающий в себя получение пробы, приведение пробы в контакт с биспецифическим антителом-антагонистом PD-1/TIM-3, которое содержит первый домен, специфически связывающий PD-1, и второй домен, специфически связывающий TIM-3, по изобретению и обнаружение антитела, связанного с PD-1 и TIM-3, в пробе.

В некоторых вариантах осуществления пробу можно получать из мочи, крови, сыворотки крови, плазмы крови, слюны, асцитной жидкости, циркулирующих клеток, циркулирующих опухолевых клеток, клеток, не связанных с тканями (т.е. свободных клеток), тканей (например, резецированной хирургиче-

ским путем опухолевой ткани, материалов биопсии, включая полученные с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии), гистологических препаратов и т. п.

Антитела по изобретению, связанные с PD-1, TIM-3 или PD-1 и TIM-3, можно обнаруживать с помощью известных способов. Примеры способов включают в себя прямое мечение антител с помощью флуоресцентных или хемилюминесцентных меток либо радиоактивных меток или присоединение к антителам по изобретению легко обнаруживаемой функциональной группы, такой как биотин, ферментов или эпитопных меток. Примерами меток и функциональных групп являются рутений, 111In-DOTA, 111In-диэтилентриаминпентауксусная кислота (DTPA), пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза и бета-галактозидаза, полигистидин (HIS-метка), акридиновые красители, цианиновые красители, флуороновые красители, оксазиновые красители, фенантридиновые красители, родаминовые красители и красители Alexafluor®.

Антитела по изобретению можно применять в разнообразных анализах для обнаружения PD-1, TIM-3 или PD-1 и TIM-3 в пробе. Примерами анализов являются анализ методом вестерн-блоттинга, радиоиммунологический анализ, поверхностный плазмонный резонанс, иммунопреципитация, равновесный диализ, иммунодиффузия, электрохемилюминесцентный (ECL) иммуноанализ, иммуногистохимический анализ, сортировка флуоресцентно-активированных клеток (FACS) или твердофазный ИФА.

Дополнительные варианты осуществления изобретения: антитела, специфически связывающие PD-1.

Ниже представлены определенные дополнительные варианты осуществления изобретения в соответствии с раскрытиями, представленными в других разделах настоящего документа. Элементы из вариантов осуществления изобретения, изложенных выше, описанные как связанные с изобретением, раскрытым в настоящем документе, также относятся ко всем и каждому из этих дополнительно пронумерованных вариантов осуществления.

1) Выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1 и содержащее определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) и 3 (HCDR3) с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 82, 83 и 84 соответственно или с SEQ ID NO: 82, 83 и 85 соответственно.

2) Антитело по варианту осуществления 1, которое содержит определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) и 3 (LCDR3) с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 86, 87 и 88 соответственно.

3) Антитело по варианту осуществления 1 или 2, которое имеет одно, два, три, четыре или пять из следующих свойств:

a) усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток CD4 + или CD8+ дозозависимым образом, причем активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ), как описано в примере 1;

b) связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (KD) менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

c) связывает PD-1 человека с KD менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

d) связывает PD-1 яванского макака с KD менее около 100 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C; или

e) связывает PD-1 яванского макака с KD менее около 1 нМ, причем KD измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C.

4) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-3, которое содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3, содержащиеся в пределах вариабельной области тяжелой цепи (VH) и имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 или 48, причем HCDR определяются по Chothia, Kabat или IMGT.

5) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-4, которое содержит LCDR1, LCDR2 и LCDR3, содержащиеся в пределах вариабельной области легкой цепи (VL) и имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61 или 62, причем LCDR определяются по Chothia, Kabat или IMGT.

6) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-5, содержащее

a) HCDR1 с SEQ ID NO: 10, 11 или 12;

b) HCDR2 с SEQ ID NO: 13, 14 или 15; и

c) HCDR3 с SEQ ID NO: 16, 17, 18 или 19.

7) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-6, содержащее

a) LCDR1 с SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24 или 25;

b) LCDR2 с SEQ ID NO: 26, 27, 28, 29 или 30; и

c) LCDR3 с SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40.

8) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-7, причем антитело содержит каркас тяжелой цепи, полученный из VH1-69 (SEQ ID NO: 170) и каркас легкой цепи, полученный из IGKV3-11 (SEQ ID NO: 171).

9) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-8, содержащее HCDR1, HCDR2 и

HCDR3 с

a) SEQ ID NO: 10, 13 и 16 соответственно;

b) SEQ ID NO: 10, 14 и 16 соответственно;

c) SEQ ID NO: 10, 13 и 17 соответственно;

d) SEQ ID NO: 10, 13 и 18 соответственно;

e) SEQ ID NO: 11, 15 и 18 соответственно;

f) SEQ ID NO: 10, 13 и 19 соответственно;

g) SEQ ID NO: 12, 13 и 19 соответственно;

h) SEQ ID NO: 10, 13 и 16 соответственно; или i) SEQ ID NO: 10, 14 и 17 соответственно.

10) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-9, содержащее LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с

a) SEQ ID NO: 20, 26 и 31 соответственно;

b) SEQ ID NO: 21, 26 и 32 соответственно;

c) SEQ ID NO: 22, 27 и 33 соответственно;

d) SEQ ID NO: 22, 26 и 34 соответственно;

e) SEQ ID NO: 23, 28 и 35 соответственно;

f) SEQ ID NO: 20, 26 и 36 соответственно;

g) SEQ ID NO: 21, 27 и 37 соответственно;

h) SEQ ID NO: 23, 26 и 32 соответственно;

i) SEQ ID NO: 22, 26 и 32 соответственно;

j) SEQ ID NO: 24, 26 и 38 соответственно;

k) SEQ ID NO: 20, 29 и 39 соответственно;

l) SEQ ID NO: 20, 30 и 32 соответственно;

m) SEQ ID NO: 25, 26 и 40 соответственно;

n) SEQ ID NO: 24, 26 и 32 соответственно; или

o) SEQ ID NO: 69, 70 и 71 соответственно.

11) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 16, 20, 26 и 31 соответственно.

12) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 16, 21, 26 и 32 соответственно.

13) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 27 и 33 соответственно.

14) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 16, 22, 26 и 34 соответственно.

15) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 16, 23, 28 и 35 соответственно.

16) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 31 соответственно.

17) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 20, 26 и 36 соответственно.

18) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 26 и 32 соответственно.

19) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 21, 27 и 37 соответственно.

20) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 23, 26 и 32 соответственно.

21) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 17, 22, 26 и 32 соответственно.

22) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 18, 20, 26 и 31 соответственно.

23) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 26 и 31 соответственно.

24) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно.

25) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 26 и 31 соответственно.

26) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 28 и 35 соответственно.

27) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 22, 26 и 34 соответственно.

28) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно.

29) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12, 13, 19, 24, 26 и 38 соответственно.

30) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 12, 13, 19, 20, 29 и 39 соответственно.

31) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 20, 30 и 32 соответственно.

32) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 25, 26 и 40 соответственно.

33) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-10, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 11, 15, 18, 24, 26 и 32 соответственно.

34) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-33, содержащее вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 или 48, причем необязательно VH содержит одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать консервативных аминокислотных замен.

35) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-34, содержащее вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61 или 62, причем необязательно VL содержит одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

36) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

37) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 50, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

38) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 51, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

39) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 52, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

40) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 42 и VL с SEQ ID NO: 53, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

41) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 49, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

42) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 54, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

43) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 50, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

44) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 55, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

45) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 56, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

46) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 43 и VL с SEQ ID NO: 57, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

47) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 44 и VL с SEQ ID NO: 49, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

48) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 49, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

49) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 46 и VL с SEQ ID NO: 49, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

50) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 49, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

51) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 53, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

52) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 52, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

53) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

54) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 58, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

55) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 47 и VL с SEQ ID NO: 59, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

56) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 60, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

57) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 61, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

58) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-35, содержащее VH с SEQ ID NO: 45 и VL с SEQ ID NO: 62, причем VH, VL или как VH, так и VL необязательно содержат одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать или пятнадцать аминокислотных замен.

59) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с аминокислотными последовательностями SEQ ID NO: 66, 67, 68, 69, 70 и 71 соответственно.

60) Антитело по варианту осуществления 59, причем антитело содержит VH с SEQ ID NO: 63 и VL с SEQ ID NO: 65 или VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

61) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-60, которое является человеческим или гуманизированным.

62) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-61, в котором антитело относится к изотипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

63) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-62, содержащее одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в Fc антитела.

64) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-63, причем одна, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен приводят к увеличению периода полужизни антитела.

65) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-64, содержащее замены M252Y,

S254T и T256E, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

66) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-65, причем одна, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен приводят к уменьшению связывания антитела с активирующим рецептором Fcγ (FcγR).

67) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-66, причем активирующим FcγR является FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa или FcγRIIIb.

68) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-67, содержащее

a) замены L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S и P331S;

b) замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S;

c) замены F234A, L235A, G237A, P238S и Q268A;

d) замены L234A, L235A или L234A и L235A;

e) замены F234A, L235A или F234A и L235A; или

f) замена V234A, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

69) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-68, содержащее замены S228P, причем нумерация остатков соответствует каталогу EU.

70) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-69, которое является биспецифическим.

71) Антитело по варианту осуществления 70, причем антитело специфически связывает PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, CEACAM-1, CEACAM-5, OX-40, GITR, CD27, VISTA или CTLA-4.

72) Иммуноконъюгат, содержащий антитело или его антигенсвязывающий участок по любому одному из вариантов осуществления 1-71, связанный с терапевтическим агентом или визуализирующим агентом.

73) Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 или иммуноконъюгат по варианту осуществления 72 и фармацевтически приемлемый носитель.

74) Полинуклеотид, кодирующий VH антитела по варианту осуществления 34, VL антитела по варианту осуществления 35 или VH антитела и VL антитела по варианту осуществления 34 или 35.

75) Полинуклеотид, кодирующий VH антитела, VL антитела или VH и VL антитела по варианту осуществления 60.

76) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 74 или 75.

77) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту осуществления 76.

78) Способ продукции антитела по любому одному из вариантов осуществления 1-71, включающий в себя культивирование клетки-хозяина по варианту осуществления 77 в условиях экспрессии антитела и выделение антитела, продуцируемого клеткой-хозяином.

79) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71, иммуноконъюгат по варианту осуществления 72 или фармацевтическая композиция по варианту осуществления 73 для применения в лечении рака.

80) Антитело, иммуноконъюгат или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 79, причем рак представляет собой солидную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль.

81) Антитело, иммуноконъюгат или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 80, причем солидная опухоль представляет собой меланому, рак легкого, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), неплоскоклеточный NSCLC, колоректальный рак, рак предстательной железы, устойчивый к кастрации рак предстательной железы, рак желудка, рак яичника, рак желудка, рак печени, рак поджелудочной железы, рак щитовидной железы, плоскоклеточную карциному головы и шеи, карциному пищевода или желудочно-кишечного тракта, рак молочной железы, рак фаллопиевой трубы, рак головного мозга, рак уретры, урогенитальный рак, эндометриоз, рак шейки матки или метастатическое раковое поражение.

82) Антитело, иммуноконъюгат или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 80, причем гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лимфому, миелому или лейкоз.

83) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71, иммуноконъюгат по варианту осуществления 72 или фармацевтическая композиция по варианту осуществления 73 для применения в усилении иммунного ответа у субъекта.

84) Антитело, иммуноконъюгат или фармацевтическая композиция для применения по варианту осуществления 83, причем субъект имеет рак или вирусную инфекцию.

85) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71, иммуноконъюгат по варианту осуществления 72 или фармацевтическая композиция по варианту осуществления 73 для применения по любому одному из вариантов осуществления 70-84 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

86) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по варианту осуществления 85, причем второй терапевтический агент представляет собой стандартное лекарственное

средство для лечения солидной опухоли или гематологической злокачественной опухоли.

87) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по варианту осуществления 85 или 86, причем второй терапевтический агент представляет собой агонист молекулы, активирующей Т-клетки.

88) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85-87, причем активирующая Т-клетки молекула представляет собой CD86, CD80, CD28, ICOS, лиганд ICOS, TMIGD2, CD40, TL1A, лиганд GITR, лиганд 4-1BB, лиганд OX40, CD70, CD40L, TNFRSF25, LIGHT, GITR, OX-40, CD27, CD137, NKG2D, CD48, CD226 или MICA.

89) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85-88, причем агонист представляет собой антитело, которое специфически связывает молекулу, активирующую Т-клетки.

90) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85 или 86, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор молекулы, ингибирующей Т-клетки.

91) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85, 86 или 90, причем ингибирующая Т-клетки молекула представляет собой PD-1, PD-L1, PD-L2, VISTA, BTNL2, B7-H3, B7-H4, HVEM, HHLA2, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA, CD160, CEACAM-1, LAIR1, TGF-P, IL-10, семейство Siglec, KIR, CD96, TIGIT, NKG2A, CD112, CD47, SIRPA или CD244.

92) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85, 86, 90 или 91, причем ингибитор или ингибирующая Т-клетки молекула представляет собой антитело, которое специфически связывает молекулу, ингибирующую Т-клетки.

93) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85, 86 или 90-92, причем антитело специфически связывает TIM-3 и блокирует связывание TIM-3 с галектином-9.

94) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85, 86 или 90-93, причем антитело, которое специфически связывает молекулу, ингибирующую Т-клетки, содержит VH и VL с

a) SEQ ID NO: 145 и 155 соответственно;
b) SEQ ID NO: 146 и 156 соответственно;
c) SEQ ID NO: 148 и 157 соответственно;
d) SEQ ID NO: 147 и 155 соответственно;
e) SEQ ID NO: 149 и 158 соответственно;
f) SEQ ID NO: 150 и 159 соответственно;
g) SEQ ID NO: 151 и 160 соответственно;
h) SEQ ID NO: 152 и 161 соответственно;
i) SEQ ID NO: 153 и 162 соответственно; или
j) SEQ ID NO: 154 и 163 соответственно.

95) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по варианту осуществления 85, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

96) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по варианту осуществления 85, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

97) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по варианту осуществления 85 или 96, причем вакцина представляет собой полипептид или его фрагмент либо ДНК или РНК, кодирующую полипептид или его фрагмент, экспрессируемый на опухолевых клетках.

98) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85, 96 или 97, причем опухолевые клетки представляют собой клетки меланомы, рака легкого, плоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), неплоскоклеточного NSCLC, колоректального рака, рака предстательной железы, устойчивого к кастрации рака предстательной железы, рака яичника, рака желудка, рака печени, рака поджелудочной железы, рака щитовидной железы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, карциномы пищевода или желудочно-кишечного тракта или рака молочной железы.

99) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85 или 96-98, причем полипептид представляет собой PSMA, мезотелин, EGFR или EGFRvIII.

100) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 85-99, причем второй терапевтический агент вводят одновременно, последовательно или отдельно.

101) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 79-100, причем субъект получал или получает лечение радиационной

терапией.

102) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 79-101, причем пациенту была или будет проведена операция.

103) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 79-102, причем выделенное антитело содержит VH с SEQ ID NO: 41 и VL с SEQ ID NO: 49.

104) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 79-102, причем выделенное антитело содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно.

105) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 79-102, причем выделенное антитело содержит HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 66, 67, 68, 69, 70 и 71 соответственно.

106) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 79-102, причем выделенное антитело содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

107) Антитело по любому одному из вариантов осуществления 1-71 для применения по любому одному из вариантов осуществления 79-102, причем выделенное антитело содержит VH с SEQ ID NO: 64 и VL с SEQ ID NO: 65.

108) Полинуклеотид, кодирующий VH, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14 и 17 соответственно.

109) Полинуклеотид, кодирующий VL, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 23, 26 и 32 соответственно.

110) Полинуклеотид, кодирующий VH, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14 и 17 соответственно, и VL, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 23, 26 и 32 соответственно.

111) Полинуклеотид, кодирующий VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48.

112) Полинуклеотид, кодирующий VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56.

113) Полинуклеотид, кодирующий VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56.

114) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 108.

115) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 109.

116) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 110.

117) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 111.

118) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 112.

119) Вектор, содержащий полинуклеотид по варианту осуществления 113.

120) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту вектор по варианту осуществления 114.

121) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту вектор по варианту осуществления 115.

122) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту вектор по варианту осуществления 116.

123) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту вектор по варианту осуществления 117.

124) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту вектор по варианту осуществления 118.

125) Клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту вектор по варианту осуществления 119.

126) Способ получения антитела, содержащего VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, включающий в себя культивирование клетки-хозяина по варианту осуществления 125 в условиях экспрессии антитела и выделение антитела, продуцируемого клеткой-хозяином.

127) Иммуноконъюгат, содержащий антитело или

антигенсвязывающий участок антитела, который содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, сшитое с терапевтическим агентом или визуализирующим агентом.

128) Фармацевтическая композиция, которая содержит антитело, содержащее VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56, а также фармацевтически приемлемый носитель.

129) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, содержащее HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14, 17, 23, 26 и 32 соответственно, для применения в лечении рака.

130) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129, причем антитело содержит VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

131) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем рак представляет собой солидную опухоль.

132) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой меланому.

133) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак легкого.

134) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (NSCLC).

135) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой неплоскоклеточный NSCLC.

136) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой колоректальный рак.

137) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак предстательной железы.

138) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой устойчивый к кастрации рак предстательной железы.

139) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак желудка.

140) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак яичника.

141) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак желудка.

142) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак печени.

143) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы.

144) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак щитовидной железы.

145) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой плоскоклеточную карциному головы и шеи.

146) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой карциному пищевода или желудочно-кишечного тракта.

147) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак молочной железы.

148) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак фаллопиевой трубы.

149) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак головного мозга.

150) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак уретры.

151) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой урогенитальный рак.

152) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой эндометриоз.

153) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой рак шейки матки.

154) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 129 или 130, причем солидная опухоль представляет собой метастатическое раковое поражение.

155) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 131 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

156) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 132 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

157) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 133 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

158) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 134 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

159) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по

варианту осуществления 135 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

160) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 135 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

161) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 137 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

162) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 138 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

163) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 139 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

164) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 140 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

165) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 141 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

166) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 142 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

167) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 143 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

168) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 144 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

169) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 145 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

170) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 146 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

171) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 147 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

172) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 148 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

173) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 149 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

174) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 150 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

175) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 151 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

176) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 152 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

177) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 153 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

178) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 154 в комбинации со вторым терапевтическим агентом.

179) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 155, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

180) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 156, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

181) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 157, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

182) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 158, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

183) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 159, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

184) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 160, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID

NO: 156.

185) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 161, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

186) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 162, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

187) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 163, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

188) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 164, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

189) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 165, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

190) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 166, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

191) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 167, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

192) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 168, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

193) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 169, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

194) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 170, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

195) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 171, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

196) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 172, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

197) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 173, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

198) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 174, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

199) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 175, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

200) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по

варианту осуществления 176, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

201) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 177, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

202) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 178, причем второй терапевтический агент представляет собой антитело-антагонист, которое специфически связывает TIM-3, содержащее VH с SEQ ID NO: 146 и VL с SEQ ID NO: 156.

203) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 155, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

204) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 156, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

205) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 157, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

206) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 158, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

207) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 159, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

208) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 160, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

209) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 161, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

210) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 162, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

211) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 163, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

212) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 164, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

213) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 165, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

214) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 166, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

215) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 167, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

216) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 168, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

217) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 169, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

218) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 170, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

219) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 171, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

220) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 172, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

221) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 173, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

222) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 174, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

223) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 175, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

224) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 176, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

225) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 177, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

226) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 178, причем второй терапевтический агент представляет собой вакцину.

227) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 155, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

228) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 156, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

229) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 157, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

230) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 158, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

231) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 159, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

232) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 160, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

233) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 161, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

234) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 162, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

235) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 163, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

236) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 164, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

237) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 165, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

238) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 166, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

239) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 167, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

240) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 168, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

241) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 169, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

242) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 170, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

243) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 171, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

244) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 172, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

245) Выделенное антитело-антагонист, которое специфически связывает PD-1, для применения по варианту осуществления 173, причем второй терапевтический агент представляет собой ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR).

Далее настоящее изобретение будет описано со ссылкой на приведенные ниже конкретные примеры, не имеющие ограничительного характера.

Пример 1. Общие способы.

Реакция смешанной культуры очищенных лимфоцитов человека (MLR).

Реакцию смешанной культуры очищенных лимфоцитов человека (анализ MLR) применяли для измерения изменений в продукции цитокинов, индуцированные добавлением исследуемых антител в совместные культуры Т-клеток CD4+ Т и дендритных клеток.

Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли из лейкопака (компания Biologi-

cal Specialty Corporation) с помощью градиента фиколла. Затем Т-клетки CD4+ вновь выделяли посредством негативного отбора из PBMC с помощью Miltenyi AutoMACS и гранул для выделения Т-клеток CD4+ согласно инструкциям изготовителя либо приобретали готовые в виде замороженных Т-клеток CD4+ (компания Hemacare Corporation). Применяли дендритные клетки от одного донора (компания Hemacare Corporation). После выделения или размораживания Т-клетки CD4+ и дендритные клетки промывали и ресуспендировали в среде анализа (среда RMPI1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 1% пенициллина/стрептомицина, 1X заменимых аминокислот и 1X пирувата натрия компании Invitrogen). Очищенные Т-клетки CD4+ человека разбавляли до 1×106 клеток/мл и засевали по 100000 клеток/100 мкл/лунка. Дендритные клетки разбавляли до 0,1×106 клеток/мл и засевали по 5000 клеток/50 мкл/лунка в планшетах с U-образным дном. Исследуемые антитела или контрольные антитела готовили в концентрации 4X в среде анализа, получив 1X, когда 50 мкл антитела добавляли к 150 мкл клеток.

В лунки добавляли 10-точечные последовательные разведения исследуемых или контрольных антител с конечной концентрацией: 30, 10, 3,33, 1,11, 0,37, 0,12, 0,04, 0,01, 0,0046 и 00015 нМ. Т-клетки CD4+ с дендритными клетками и дендритные клетки отдельно включали в качестве контролей для измерения базальной секреции цитокинов. Клетки поддерживали при 37°C в 5% CO_2 в течение 5 суток. На день 5 из планшет с культурой отбирали 100 мкл супернатанта клеточной культуры и переносили на планшеты с V-образным дном. Супернатант замораживали при -80°C по меньшей мере в течение ночи. Совокупную продукцию цитокинов измеряли в супернатанте тканевой культуры с применением 10-местных планшет для Th1/Th2 цитокина человека Meso Scale Discovery (MSD) по протоколу изготовителя. Вкратце, планшеты MSD блокировали 1% блокатором B в течение ночи при 4°C. На следующий день удаляли блокатор и планшеты промывали на моющем устройстве для планшет Biotek 406. Готовили 8-точечную кривую стандарта и добавляли в планшеты в двух повторностях. Размороженный супернатант тканевой культуры добавляли по 25 мкл/лунка, планшеты плотно закрывали и энергично встряхивали в течение 1,5 часа. Не убирая стандарты или супернатант, добавляли по 25 мкл антитела для обнаружения в каждую лунку. Планшеты плотно закрывали и энергично встряхивали в течение 1,5 часа. Планшеты промывали, добавляли буферный раствор для считывания и считывали планшеты на устройстве для считывания планшет Meso Scale Discovery.

Концентрации цитокинов вычисляли с помощью программного обеспечения MSD. Концентрацию цитокина в неизвестных пробах вычисляли путем сравнения выходного сигнала неизвестной пробы с выходным сигналом и известными концентрациями цитокина по стандартной кривой. Вычисленные концентрации загружали в программное обеспечение Spotfire TIBCO для визуализации. После визуальной проверки данных применяли процедуру MAD-медианных выбросов с пороговым значением 3,5 для выявления и исключения выбросов на логарифмированных данных. С каждым цитокином для каждого антитела проводили устойчивый анализ полумаксимальной эффективной концентрации (Robust EC50).

Анализ ЦМВ.

Анализ с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ) применяли для измерения изменений в продукции цитокинов, которые вызваны добавлением исследуемых антител к культурам мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) с цельным антигеном ЦМВ (для антител PD-1) или с пулом из 138 15-членных пептидов, перекрывающих фосфопротеин 65 кДа (pp65) (для mAb TIM-3 и биспецифических mAb PD-1/TIM-3).

PBMC (компании Astarte Biologies и Hemcare Corporation) после размораживания промывали и ресуспендировали в среде анализа (среда RMPI1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 1% пенициллина/стрептомицина, 1X заменимых аминокислот и 1X пирувата натрия компании Invitrogen). PBMC разбавляли до 1,5×106 клеток/мл и засевали по 150000 клеток/100 мкл/лунка. Антиген ЦМВ (компания Astarte Biologies) готовили в концентрации 4X 0,4 мкг/мл в среде анализа, получив 0,1 мкг/мл, когда 50 мкл антитела добавили к 100 мкл клеток и 50 мкл антитела. Антитела готовили в концентрации 4X в среде анализа, получив 1X, когда 50 мкл антитела добавили к клеткам и пептиду.

Последовательные разведения исследуемых антител добавляли в лунки в конечной концентрации от 150 до 0,001 нМ. Клетки с антигеном ЦМВ или пулом pp65, отдельные клетки и изотипический контроль, приготовленный в конечной концентрации 50 или 30 нМ, были включены в качестве контролей при измерении базальной секреции цитокина. Клетки поддерживали при 37°C в 5% CO_2 в течение 6 дней. Для анализа MSD в день 6 100 мкл супернатанта тканевой культуры отбирали из планшет с культурой и переносили на планшеты с V-образным дном. Супернатант замораживали при -80°C по меньшей мере в течение ночи. Совокупную продукцию цитокинов измеряли в супернатанте тканевой культуры с применением 10-местных планшет для Th1/Th2 цитокина человека Meso Scale Discovery (MSD) по протоколу изготовителя. Вкратце, планшеты MSD блокировали 1% блокатором B в течение ночи при 4°C. На следующий день удаляли блокатор и планшеты промывали на моющем устройстве для планшет Biotek 406. Готовили 8-точечную кривую стандарта и добавляли в планшеты в двух повторностях. Размороженный супернатант тканевой культуры добавляли по 25 мкл/лунка, планшеты плотно закрывали и энергично встряхивали в течение 1,5 часа. Не убирая стандарты или супернатант, добавляли по 25 мкл анти-

тела для обнаружения в каждую лунку. Планшеты плотно закрывали и энергично встряхивали в течение 1,5 часа. Планшеты промывали, добавляли буферный раствор для считывания и считывали планшеты на устройстве для считывания планшет Meso Scale Discovery.

Концентрации цитокинов вычисляли с помощью программного обеспечения MSD. Концентрацию цитокина в неизвестных пробах вычисляли путем сравнения выходного сигнала неизвестной пробы с выходным сигналом и известными концентрациями цитокина по стандартной кривой. Вычисленные концентрации загружали в программное обеспечение Spotfire TIBCO для визуализации. После визуальной проверки данных применяли процедуру MAD-медианных выбросов с пороговым значением 3,5 для выявления и исключения выбросов на логарифмированных данных. С каждым цитокином для каждого антитела проводили устойчивый анализ полумаксимальной эффективной концентрации (Robust EC50).

Что касается антител TIM-3 и биспецифических антител PD-1/TIM-3, то в день 6 после отбора супернатанта на анализ MSD клетки однократно промывали PBS, а впоследствии окрашивали для различения между живыми/мертвыми, а также представленных ниже маркеров клеточной поверхности: CD3, CD4, CD8, CD137, PD-1 и TIM-3. Выполняли проточную цитометрию на LSR Fortessa (BD). Данные анализировали с помощью программного обеспечения Flow Jo. Клетки CD137+ определяли на основании способа Fluorescence Minus One (FMO) на живых клетках CD8+ и CD4+, обработанных ЦМВ.

В экспериментах с последовательной обработкой анализы ЦМВ проводили так, как описано выше, со стимуляцией пулом пептидов pp65 в течение шести дней. На шестой день супернатант отбирали и клетки повторно стимулировали пулом pp65 в присутствии антител к TIM-3. Через двадцать четыре часа отбирали супернатант и измеряли уровни ИФН-γ с помощью MSD, как описано выше.

Анализ на ингибирование лиганда PD-1.

План анализа на ингибирование лиганда был основан на MSD (Mescoscale Discovery). Планшету для MSD непосредственно покрывали лигандом (PDL1-ECD яванского макака, PDL1-ECD человека или PDL2-ECD человека) и инкубировали в течение ночи при 4°C. На следующий день удаляли покрывающий раствор и блокировали планшету. Фиксированную концентрацию биотинилированного PD-1 (PD1-ECD человека) преинкубировали с антителами или антителом изотипического контроля в качестве отрицательного контроля. В зависимости от панели антител, подлежащих исследованию, антитела исследовали в виде титрантов или при фиксированной концентрации. Планшету MSD промывали и добавляли смесь биотинилированного PD-1/антитела к лиганду, покрывающему планшету MSD. Планшету промывали и с помощью рутенилированного стрептавидина определяли биотинилированный PD-1, связанный с лигандом. Ингибирование связывания PD-1 антителом приводило к уменьшению сигнала в анализе MSD. Определяли максимальное связывание биотинилированного PD-1 в отсутствие ингибитора и иногда применяли его для нормализации данных к процентной доле от максимального сигнала биотинилированного PD-1. mAb, которые были положительными на ингибирование связывания лиганда при одной концентрации, также исследовали на дозозависимые эффекты при ингибировании различных лигандов PD-1.

Связывание с клетками Jurkat.

Клетки Jurkat стимулировали 20 нг/мл PHA в течение ночи, собирали, промывали и проверяли на жизнеспособность. Затем клетки инкубировали при 6-10°C в течение 45-60 минут с различными концентрациями исследуемых антител, промывали и инкубировали при 6-10°C в течение 45-60 минут с IgG козы против человека, меченным FITC. Клетки промывали и фиксировали в BD Cytofix, охлаждали в течение ночи и анализировали на проточном цитометре MACSQuant. Процентную долю положительных на PD-1 клеток при каждой концентрации антитела наносили на график в зависимости от логарифмической концентрации антитела и выводили значения EC50 в Prism.

Измерения аффинности.

mAb PD-1.

mAb к PD-1 исследовали на аффинность связывания с PD1-ECD человека и PD-1-ECD яванского макака. Измерения аффинности с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR) выполняли с применением системы ProteOn XPR36. Готовили биосенсорную поверхность, связывая смесь Fc к IgG с поверхностью слоя модифицированного полимерного альгината на пластине GLC согласно инструкции изготовителя по реакциям аминного связывания. Исследуемые mAb захватывались, и их взаимодействия с аналитами (huPD1-ECD или cynoPD1-ECD) отслеживали в буферном растворе на основе PBS при 25°C. Собранные данные обрабатывали и приспосабливали к модели связывания Ленгмюра 1: 1. Результат для каждого mAb регистрировали в формате kon (скорость ассоциации), koff (скорость диссоциации) и KD (равновесная константа диссоциации).

Анализ ингибирования лиганда TIM-3.

Твердофазный конкурентный ИФА TIM-3/галектина-9 выполняли посредством связывания 1 мкг/мл рекомбинантной химеры Fc-TIM-3 человека (№ по каталогу R&D Systems: 2365-TM-05) в PBS на одну лунку в 96-луночной планшете White Maxisorp (компания Nunc). Планшеты промывали и блокировали StartingBlock T20 (компания Pierce), а затем в лунки добавляли ингибитор в концентрации 10 мкг/мл. Без промывания в лунки добавляли 7,5 мкг/мл галектина-9 и инкубировали в течение 30 мин. Затем добавляли 0,5 мкг/мл поликлонального антитела к галектину-9-биотину (компания R&D Systems)

и инкубировали в течение 30 минут. Планшеты промывали и добавляли конъюгат нейтравидина-HRP (компания Pierce); планшеты дополнительно инкубировали в течение 45 минут. Планшеты промывали и добавляли субстрат хемилюминесценции POD (компания Roche) непосредственно перед считыванием планшет; люминесценцию считывали на люминометре.

Создание антигенов, применяемых в исследовании.

Клонирование, экспрессию и очистку антигенов выполняли с помощью стандартных способов. Различные фрагменты белка экспрессировали в виде гексагистидинового тега или гибридных белков Fc. Аминокислотные последовательности применяемых белков без последовательностей тегов показаны в SEQ ID NO: 1-9, 138 и 89.

Полноразмерный человеческий PD1 (huPD1); SEQ ID NO: 1

pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdkl aafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelr vterraevptahpspsprpagqfqtlvvgvvggllgslvllvwvlavicsraargtigarrtgq plkedpsavpvfsvdygeldfqwrektpeppvpcvpeqteyativfpsgmgtssparrgsadgp rsaqplrpedghcswpl

Внеклеточный домен PD-1 человека (PD1-ECD человека); SEQ ID NO: 2

PGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWYRMSPSNQTDKL AAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELR VTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTL

PD1 Macaca fascicularis (яванский макак, в настоящем документе обозначенный "cyno") (cPD1); SEQ ID NO: 3).

PGWFLESPDRPWNAPTFSPALLLVTEGDNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKL AAFPEDRSQPGQDCRFRVTRLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELR VTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQALVVGVVGGLLGSLVLLVWVLAVICSRAAQGTIEARRTGQ PLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPAPCVPEQTEYATIVFPSGLGTSSPARRGSADGP RSPRPLRPEDGHCSWPL

Внеклеточный домен PD-1 яванского макака (cPD1-ECD); SEQ ID NO: 4

PGWFLESPDRPWNAPTFSPALLLVTEGDNATFTCSFSNASESFVLNWYRMSPSNQTDKL AAFPEDRSQPGQDCRFRVTRLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAISLAPKAQIKESLRAELR VTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQAL

Полноразмерный PD-L1 человека (huPD-L1); SEQ ID NO: 5

FTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQ HSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRI LVVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNE IFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNER

Внеклеточный домен PD-L1 человека (huPDL1-ECD); SEQ ID NO: 6

FTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLAALIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKVQ HSSYRQRARLLKDQLSLGNAALQITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQRI LVVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLFNVTSTLRINTTTNE IFYCTFRRLDPEENHTAELVIPELPLAHPPNERT

Внеклеточный домен PD-L1 яванского макака (cynoPDL1-ECD); SEQ ID NO: 7

AFTVTVPKDLYVVEYGSNMTIECKFPVEKQLDLTSLIVYWEMEDKNIIQFVHGEEDLKV QHSNYRQRAQLLKDQLSLGNAALRITDVKLQDAGVYRCMISYGGADYKRITVKVNAPYNKINQR ILVVDPVTSEHELTCQAEGYPKAEVIWTSSDHQVLSGKTTTTNSKREEKLLNVTSTLRINTTAN EIFYCIFRRLDPEENHTAELVIPELPLALPPNERT

Внеклеточный домен PD-L2 человека (huPDL2-ECD); SEQ ID NO: 8

LFTVTVPKELYIIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEE QLPLGKASFHIPQVQVRDEGQYQCIIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPETDEVELT CQATGYPLAEVSWPNVSVPANTSHSRTPEGLYQVTSVLRLKPPPGRNFSCVFWNTHVRELTLAS IDLQSQMEPRTHPT

Внеклеточный домен PD-1 мыши (cynoPDL1-ECD); SEQ ID NO: 9

LEVPNGPWRSLTFYPAWLTVSEGANATFTCSLSNWSEDLMLNWNRLSPSNQTEKQAAFC NGLSQPVQDARFQIIQLPNRHDFHMNILDTRRNDSGIYLCGAISLHPKAKIEESPGAELVVTER ILETSTRYPSPSPKPEGRFQ

Полноразмерный человеческий TIM-3, SEQ ID NO: 138

SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTS

RYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTPAPTRQRDF

TAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAG

ICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKIQNLSLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIEENVY

EVEEPNEYYCYVSSRQQPSQPLGCRFAMP

Внеклеточный домен TIM-3 человека (huTIM-3-ECD); SEQ ID NO: 89

SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTS

RYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVTPAPTRQRDF

TAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIR

Пример 2. Отбор антител к человеческому PD-1 из библиотек фаговых дисплеев.

Связывающие PD-1 Fab выбирали из получаемых de novo библиотек pIX-фаговых дисплеев, как описано в Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010; международной патентной публикации № WO2009/085462 и патентной публикации США № US2010/0021477. Вкратце, библиотеки создавали посредством диверсификации человеческих каркасов, в которых гены VH зародышевой линии IGHV1-69*01, IGHV3-23*01 и IGHV5-51*01 рекомбинировали с человеческим минигеном IGHJ-4 посредством петли H3, а человеческие гены VL-каппа зародышевой линии O12 (IGKV1-39*01), L6 (IGKV3-11*01), A27 (IGKV3-20*01) и B3 (IGKV4-1*01) рекомбинировали с минигеном IGKJ-1 для сборки полных доменов VH и VL. Для диверсификации выбирали положения вариабельных областей легкой и тяжелой цепи около петель H1, H2, L1, L2 и L3, соответствующие положениям, для которых был выявлен частый контакт с белковыми и пептидными антигенами. Диверсификация последовательности в выбранных положениях ограничивалась остатками, встречающимися в каждом положении в семействах генов зародышевой линии IGHV или IGLV для соответствующих генов IGHV или IGLV. Диверсификацию петли H3 создавали, используя синтетические короткие или средние петли длиной 7-14 аминокислот. Распределение аминокислот в H3 выполняли аналогично наблюдаемой вариации аминокислот в человеческих антителах. Конфигурация библиотеки подробно описана в Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385-96. Каркасы, использованные для создания библиотек, получали название в соответствии с их происхождением от человеческого гена зародышевой линии VH и VL. Три библиотеки тяжелых цепей комбинировали с четырьмя легкими цепями зародышевой линии или комбинировали с библиотеками диверсифицированных легких цепей, создав 12 уникальных комбинаций VH: VL. Позднее эти библиотеки комбинировали, дополнительно основываясь на версиях библиотек для создания дополнительных библиотек для экспериментов по пэннингу на PD-1.

Выполняли пэннинг библиотек против huPD1-ECD, cynoPD1-ECD, musPD1-ECD, huPD1-Fc и/или musPD1-Fc. Рекомбинантные белки биотинилировали (bt) и захватывали на магнитных гранулах стрептавидина (компания Dynal), а затем экспонировали с новыми библиотеками pIX Fab в конечной концентрации 100 нМ или 10 нМ. Неспецифические фаги отмывали в PBS-Tween, а связанные фаги выделяли посредством инфицирования клеток MC1061F' E.coli. Фаги амплифицировали из этих клеток в течение ночи и повторяли в общей сложности три или четыре цикла пэннинга. После завершающего цикла биопэннинга моноклональные Fab отбирали по связыванию huPD1-ECD, huPD1-Fc, musPD1-Fc и/или cynoPD1-Fc в двух форматах твердофазного ИФА. В формате 1 Fab захватывали на планшете для ИФА антителом к Fd и к захваченному Fab добавляли различные формы bt-PD-1 с последующим обнаружением bt-PD-1 с помощью стрептавидина-HRP. В формате 2 различные формы btPD-1 захватывали на планшетах для ИФА стрептавидином и к захваченному антигену добавляли секретированный Fab с последующим обнаружением Fab с помощью GoatAntiFab'2HRP. Клоны, которые демонстрировали связывание с белками, секвенировали в вариабельных областях тяжелой и легкой цепей.

Затем Fab из выбранных человеческих PD-1 или мышиных PD-1 исследовали на перекрестную реактивность с PD-1-Fc яванского макака, секретированным в супернатанте клеток млекопитающих. Fab захватывали на планшете для ИФА антителом к Fd и к захваченному Fab добавляли супернатант PD-1-Fc яванского макака с последующим обнаружением PD-1-Fc яванского макака с помощью GoatAntiHumanFc:HRP. На основании характеристик связывания с PD-1-Fc яванского макака выбранные антитела отбирали для дальнейшей характеризации.

Выбранные Fab отбирали для дальнейшей характеризации и клонировали как IgG2сигма/к. IgG2сигма лишился эффекторных функций и имеет замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S по сравнению с IgG2 дикого типа. IgG2сигма представлен в патенте США № 8,961,967. Антитела оценивали на их способность блокировать связывание PD-1 человека с PD-L1 яванского макака, аффинности к белкам PD-1 человека и яванского макака, а также на их способность связываться с клетками, эндогенно экспрессирующими PD-1 человека (клетки Jurkat). Впоследствии антитела оценивали на их способность блокировать связывание человеческого PD-L1 и человеческого PD-L2 с человеческим PD-1.

На основании результатов были отобраны несколько антител для созревания аффинности. Характе-

ристики выбранных антител, отобранных для созревания аффинности, показаны в табл. 7.

Таблица 7

mAb	Ингибирование лиганда; IC50 (мкг/мл)			Связывание Jurkat; EC50 (мкг/мл)	Аффинность в ProteOn SPR		
	cynoPD-L1	huPD-L1	huPD-L2		kon (1/Мс)	koff (1/с)	KD (нМ)
PD1B11	0,017-0,018	0,019	0,029	0,03-0,24	4,68E+05	8,96E-03	19,2
PD1B70	0,010-0,021	0,040	0,059	0,69-1,32	1,84E+05	3,04E-02	166
PD1B71	0,014-0,015	0,024	0,035	0,13-0,47	2,31E+05	2,77E-02	120
Hu - человеческий							
Cyno - яванского макака							

Пример 3. Созревание аффинности человеческих антител к PD-1.

Созревание аффинности антител PD1B70, PD1B71 и PD1B114 (близкий гомолог PD1B11) выполняли в формате Fab с применением библиотек фагового дисплея с разнообразием в выбранных положениях VL и в HCDR1 и HCDR2. Схема библиотек для созревания аффинности для каждого Fab показана в табл. 8. Нумерация остатков соответствует VH PD1B114 с SEQ ID NO: 41 в табл. 8.

Таблица 8

Диверсификация VH PD1B114, PD1B70 и PD1B71		
Положение	Исходная аминокислота	Остатки, применяемые для диверсификации
30	S	D, K, S
31	S	D, N, S, T
32	Y	A, D, S, Y
33	A	A, D, G, S, W, Y
35	S	H, N, S
50	G	A, E, G, N, R, T, W, Y
52	I	A, D, I, N, R, S
54	I	E, I, N, S, Y
55	F	E, F, Q, S, Y
57	T	D, N, R, S, T, Y
59	N	E, G, N, Q, R, Y
Диверсификация VL PD1B114, PD1B70 и PD1B71		
Положение	Исходная аминокислота	Остатки, применяемые для диверсификации
30	S	D, N, R, S
31	S	N, S, T
32	Y	D, N, R, S, Y
49	Y	E, H, K, Y
50	D	D, G, S, W, Y
53	N	D, N, S, T, Y
91	R	A, D, E, G, H, N, R, S, W, Y
92	S	A, D, E, G, H, N, R, S, W, Y
93	N	A, D, E, G, H, N, R, S, W, Y
94	W	A, D, E, G, H, N, R, S, W, Y
96	L	F, I, L, N, R, W, Y

Были сконструированы библиотеки и создан фаг. Затем фаговые библиотеки VH и VL применяли для пэннинга фагов против биотинилированных рекомбинантных белков huPD1-ECD и cynoPD1-ECD. После пэннинга фагов растворимые Fab отбирали на связывание с PD-1 как человека, так и яванского макака. Отобранные Fab клонировали в виде изотипа IgG2сигма и характеризовали по их связыванию с клетками Jurkat и ингибированию лиганда PD-L1 яванского макака в концентрациях 1 мкг/мл и 10

мкг/мл.

В табл. 9 показаны результаты характеризации исходных антител и антител с созреванием аффинности.

Таблица 9

mAb	Ингибирование лиганда в указанной концентрации*		Связывание с клетками Jurkat; EC50 (мкг/мл)
	1 мкг/мл	10 мкг/мл	
PD1B11	5%	5%	0,05
PD1B114	8%	13%	0,47
PD1B149	7%	7%	0,08
PD1B160	4%	3%	0,08
PD1B162	7%	6%	0,05
PD1B164	6%	3%	0,06
PD1B183	5%	5%	0,08
PD1B184	4%	4%	0,08
PD1B185	8%	5%	0,09
PD1B187	7%	5%	0,09
PD1B192	5%	5%	0,06
PD1B70	6%	6%	0,69
PD1B175	6%	5%	0,09
PD1B71	6%	9%	0,13
PD1B177	7%	8%	0,05
* Значение указывает процент незаблокированного лиганда			

Антитела с созревшей аффинностью оценивали в экспериментах по аффинности, как описано выше, с помощью анализа ProteOn SPR на связывание с huPD1-ECD и cynoPD1-ECD. Характеристики связывания mAb с PD-1 яванского макака показаны в табл. 10, а с PD-1 человека - в табл. 11. Стандартное отклонение (СТ. ОТКЛ.) вычисляли в 3 или более повторностях, полученных для белков человека и яванского макака. Если вычисляли менее 3 повторностей, то указывали интервал (RANGE). Интервал определяют как низкое и высокое значения для исследованных повторностей. Для проб в табл. 10 или табл. 11 без указания значения RANGE или СТ. ОТКЛ. выполняли только один эксперимент. Наилучшие варианты с созревшей аффинностью имели аффинность к PD-1 человека и яванского макака в интервале однозначных нМ с приростом аффинности ~ 4-20 раз по сравнению с их исходными mAb.

Таблица 10

Проба	Антиген: PD-1 яванского макака					
	kon	СТ. ОТКЛ., kon	koff	СТ. ОТКЛ. koff	KD	СТ. ОТКЛ. KD
	(1/Мс)	или RANGE	(1/с)	или RANGE	(нМ)	или RANGE
PD1B70	2,10 E+05	(1,99-2,25) E+05	2,58 E-02	(2,45-2,75) E-02	123	109-138
PD1B175	2,14 E+05	(1,98-2,30) E+05	6,40 E-03	(6,06-6,73) E-03	30	26-34
PD1B71	3,04 E+05	2,35 E+04	2,03 E-02	7,27 E-04	66,8	5,68
PD1B177	2,92 E+05	(2,80-3,04) E+05	1,89 E-03	(1,84-1,93) E-03	6,47	6,1-6,9
PD1B114	2,94 E+05	1,69 E+04	2,39 E-02	1,45 E-03	81,5	6,8

PD1B149	3,20 E+05	(3,04-3,36) E+05	3,57 E-03	(3,48-3,65) E-03	11,2	(10,9-11,4)
PD1B160	3,17 E+05	(3,16-3,17) E+05	1,66 E-03	(1,63-1,68) E-03	5,23	5,1-5,3
PD1B162	3,87 E+05	(3,84-3,89) E+05	9,79 E-04	(9,59-9,98) E-04	2,53	2,5-2,6
PD1B164	2,67 E+05	(2,67-2,67) E+05	2,87 E-04	(2,82-2,91) E-04	1,07	1,06-1,09
PD1B11	2,93 E+05	(2,85-3,01) E+05	9,17 E-03	(0,8-1,00) E-02	31,3	(27,7-35,1)
PD1B183	3,20 E+05	(3,04-3,37) E+05	8,39 E-03	(8,01-8,76) E-03	26,3	23,9-28,8
PD1B184	2,38 E+05	(2,08-2,68) E+05	2,74 E-03	(2,55-2,92) E-03	11,5	9,5-14,1
PD1B185	3,11 E+05	(2,80-3,43) E+05	9,47 E-03	(9,38-9,55) E-03	30,5	27,5-34,1
PD1B187	2,94 E+05	(2,20-3,70) E+05	1,57 E-03	(1,28-1,85) E-03	5,32	3,5-8,4
PD1B192	3,07 E+05	(2,90-3,24) E+05	5,04 E-03	(4,86-5,22) E-03	16,4	15,0-18,0

Таблица 11

	Антиген: человеческий PD-1		
Проба	kon	koff	KD
	(1/Мс)	(1/с)	(нМ)
PD1B70	4,15E+05	4,18E-02	101
PD1B175	4,22E+05	9,72E-03	23
PD1B71	5,48E+05	2,73E-02	49,9
PD1B177	5,15E+05	2,57E-03	5
PD1B114	5,17E+05	2,79E-02	54,1
PD1B149	5,32E+05	6,20E-03	~ 12*
PD1B160	5,40E+05	3,71E-03	6,87
PD1B162	6,49E+05	3,86E-03	5,95
PD1B164	4,48E+05	1,31E-03	2,92
PD1B11	5,16E+05	8,52E-03	~ 17*
PD1B183	5,27E+05	8,44E-03	16
PD1B184	4,45E+05	5,09E-03	11,4
PD1B185	5,85E+05	7,65E-03	13,1
PD1B187	5,35E+05	2,78E-03	5,2
PD1B192	5,41E+05	1,17E-02	~ 228
* Значения не отвечали критериям приемлемости данных (хи-квадрат > 20%) и поэтому считались приблизительными.			

Пример 4. Комбинаторный вариант продукции mAb PD-1.

После анализа результатов аффинности были рассмотрены комбинаторные последовательности.

PD1B11 и PD1B114 имели близко аналогичные последовательности. Поскольку PD1B11 имело приблизительно в 3 раза более высокую аффинность к человеческому PD-1 и в 2 раза более высокую аффинность к PD-1 яванского макака по сравнению с PD1B114, были получены антитела, имеющие комбинации их различных CDR. HCDR3 из PD1B11 помещали в PD1B164 и PD1B162 (варианты PD1B114 с созревшей аффинностью) с помощью направленного точечного мутагенеза, тогда как HCDR2 из PD1B164 (вариант PD1B114 с созревшей аффинностью) помещали в PD1B187 (вариант PD1B11 с созревшей аффинностью). Полученные тяжелые цепи объединяли в пары с исходными легкими цепями, получив в результате новые антитела PD1B194, PD1B195 и PD1B196 соответственно.

Оба из PD1B175 и PD1B177 содержали исходные легкие цепи, несмотря на то что антитела были получены с помощью диверсифицированных библиотек VL во время созревания аффинности.

В попытке повысить аффинности антител тяжелую цепь PD1B175 объединяли в пары с легкими цепями PD1L185 или PD1L187 с созревшей аффинностью, а тяжелую цепь PD1B177 объединяли в пары с легкими цепями PD1L86, PD1L168 или PD1L190 с созревшей аффинностью, получив в результате антитела PD1B197, PD1B198, PD1B199, PD1B200 и PD1B201. Объединение VH и VL антител в пары показано в табл. 20 в примере 5.

Последовательности HCDR, LCDR, VH и VL этих антител показаны в таблицах 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21 и 22 в примере 5. Антитела клонировали как mAb IgG2сигма/к и временно экспрессировали в клетках HEK293 expi для измерений аффинности.

Аффинности полученных антител определяли так, как описано выше. В табл. 12 показаны измеренные аффинности комбинаторных вариантов mAb к PD-1 яванского макака, а в табл. 13 показаны аффинности к PD-1 человека. Стандартное отклонение (СТ. ОТКЛ.) вычисляли в 3 или более повторностях, полученных для белков человека и яванского макака. Если вычисляли менее 3 повторностей, то указывали интервал (RANGE). Интервал определяют как низкое и высокое значения для исследованных повторностей. Для проб без указания RANGE или СТ. ОТКЛ. выполняли только один эксперимент.

Таблица 12

Проба	Связывание PD-1 яванского макака					
	kon	СТ. ОТКЛ., kon	koff	СТ. ОТКЛ., koff	KD	СТ. ОТКЛ. KD
	(1/Мс)	или RANGE	(1/с)	или RANGE	(нМ)	или RANGE
PD1B70 (исходный)	2,50E+05	(2,25-2,74) E+05	2,22 E-02	(2,18-2,26) E-02	88,98	(79,6-100)
PD1B197	2,75E+05	1,27 E+04	1,26 E-03	4,04 E-05	4,6	0,3
PD1B198	3,72E+05	1,61 E+04	4,16 E-03	9,29 E-05	11,18	0,54
PD1B11 (исходный)	3,50E+05	(3,49-3,50) E+05	9,42 E-03	(9,38-9,46) E-03	26,95	(26,8-27,1)
PD1B194	3,22E+05	2,86 E+04	1,93 E-04	5,86E-06	0,6	0,06
PD1B195	4,32E+05	(4,30-4,34) E+05	4,08 E-04	(3,96-4,19) E-04	0,94	(0,91-0,97)
PD1B196	3,03E+05	6,66 E+03	1,76 E-04	9,85 E-06	0,58	0,03
PD1B71 (исходный)	3,77E+05	(3,37-4,17) E+05	1,96 E-02	(1,85-2,07) E-02	51,99	(44,4-61,4)
PD1B199	3,40E+05	7,94 E+03	1,77 E-04	1,55 E-05	0,52	0,05
PD1B200	3,80E+05	2,21 E+04	4,22 E-04	1,99 E-05	1,11	0,08
PD1B201	3,05E+05	1,80 E+04	2,93 E-04	2,35 E-05	0,96	0,1

Таблица 13

Проба	Связывание с PD-1 человека					
	kon	СТ. ОТКЛ., kon	koff	СТ. ОТКЛ., koff	KD	СТ. ОТКЛ. KD
	(1/Мс)	или RANGE	(1/с)	или RANGE	(нМ)	или RANGE
PD1B70 (исходный)	7,69 E+05	(7,37-8,00) E+05	3,49 E-02	(3,41-3,56) E-02	45,35	(42,6-43,8)
PD1B197	6,58 E+05	2,26 E+04	3,24 E-03	1,74 E-04	4,9	0,3
PD1B198	8,95 E+05	6,44 E+04	9,34 E-03	9,90 E-04	10,43	1,34
PD1B11 (исходный)	9,33 E+05	(8,84-9,82) E+05	9,05 E-03	(8,67-9,43) E-03	9,7	(9,6-9,81)
PD1B194	8,97 E+05	1,45 E+05	9,60 E-04	2,78 E-05	1,07	0,18
PD1B195	1,23 E+06	1,79 E+05	1,52 E-03	6,51 E-05	1,23	0,19
PD1B196	8,83 E+05	6,39E+04	3,66 E-04	2,01E-05	0,41	0,04
PD1B71 (исходный)	9,55 E+05	(9,33-9,76) E+05	2,25 E-02	(2,19-2,30) E-02	23,52	(22,4-24,7)
PD1B199	9,33 E+05	6,92 E+04	5,64 E-04	1,98 E-05	0,6	0,05
PD1B200	1,05 E+06	1,40 E+05	1,22 E-03	3,21 E-05	1,17	0,16
PD1B201	8,58 E+05	8,22 E+04	9,57 E-04	3,06 E-05	1,12	0,11

Пример 5. Структурные характеристики антител к PD-1, полученных из библиотек фаговых дисплеев.

Последовательности кДНК и трансляции аминокислот антител получали с помощью стандартных методик в процессе создания антител с применением различных кампаний. После определения последовательности полипептидов некоторые кДНК антител, кодирующие вариабельные области или полноразмерные антитела, были оптимизированы по кодонам с помощью стандартных способов экспрессии в увеличенном количестве.

В табл. 14 показаны последовательности HCDR1 выбранных антител PD-1.

В табл. 15 показаны последовательности HCDR2 выбранных антител PD-1.

В табл. 16 показаны последовательности HCDR3 выбранных антител PD-1.

В табл. 17 показаны последовательности LCDR1 выбранных антител PD-1.

В табл. 18 показаны последовательности LCDR2 выбранных антител PD-1.

В табл. 19 показаны последовательности LCDR3 выбранных антител PD-1.

В табл. 20 показано объединение в пары VH и VL выбранных антител PD-1.

В табл. 21 показаны последовательности VH выбранных антител PD-1.

В табл. 22 показаны последовательности VL выбранных антител PD-1.

Таблица 14

Антитело	HCDR1					
	Последовательность					SEQ ID NO:
PD1B114	S	Y	A	I	S	10
PD1B149	S	Y	A	I	S	10
PD1B160	S	Y	A	I	S	10
PD1B162	S	Y	A	I	S	10
PD1B164	S	Y	A	I	S	10
PD1B11	S	Y	A	I	S	10
PD1B183	S	Y	A	I	S	10
PD1B184	S	Y	A	I	S	10
PD1B185	S	Y	A	I	S	10
PD1B187	S	Y	A	I	S	10
PD1B192	S	Y	A	I	S	10
PD1B71	S	Y	A	I	S	10
PD1B177	D	Y	V	I	S	11
PD1B70	S	Y	A	I	S	10
PD1B175	S	Y	V	I	H	12
PD1B194	S	Y	A	I	S	10
PD1B195	S	Y	A	I	S	10
PD1B196	S	Y	A	I	S	10
PD1B197	S	Y	V	I	H	12
PD1B198	S	Y	V	I	H	12
PD1B199	D	Y	V	I	S	11
PD1B200	D	Y	V	I	S	11
PD1B201	D	Y	V	I	S	11

Таблица 15

Антитело	HCDR2																
	Последовательность																SEQ ID NO:
PD1B114	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B149	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B160	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B162	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B164	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B11	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B183	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B184	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B185	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B187	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B192	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B71	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B177	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15
PD1B70	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B175	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B194	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B195	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B196	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B197	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B198	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B199	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15
PD1B200	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15
PD1B201	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15

Таблица 16

Антитело	HCDR3														
	Последовательность														SEQ ID NO:
PD1B114	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B149	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B160	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B162	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B164	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B11	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B183	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B184	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B185	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B187	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B192	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B71	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y				18
PD1B177	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y				18
PD1B70	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y				19
PD1B175	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y				19
PD1B194	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B195	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B196	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B197	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y				19
PD1B198	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y				19
PD1B199	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y				18
PD1B200	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y				18
PD1B201	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y				18

Таблица 17

Антитело	LCDR1											
	Последовательность											SEQ ID NO:
PD1B114	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B149	R	A	S	Q	S	V	R	N	Y	L	A	21
PD1B160	R	A	S	Q	S	V	D	S	Y	L	A	22
PD1B162	R	A	S	Q	S	V	D	S	Y	L	A	22
PD1B164	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B11	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B183	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B184	R	A	S	Q	S	V	R	N	Y	L	A	21
PD1B185	R	A	S	Q	S	V	R	N	Y	L	A	21
PD1B187	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B192	R	A	S	Q	S	V	D	S	Y	L	A	22
PD1B71	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B177	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B70	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B175	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B194	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B195	R	A	S	Q	S	V	D	S	Y	L	A	22
PD1B196	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B197	R	A	S	Q	S	V	S	N	Y	L	A	24
PD1B198	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20

PD1B199	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B200	R	A	S	Q	S	V	D	N	Y	L	A	25
PD1B201	R	A	S	Q	S	V	S	N	Y	L	A	24

Таблица 18

Антитело	LCDR2							
	Последовательность							SEQ ID NO:
PD1B114	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B149	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B160	D	A	S	D	R	A	T	27
PD1B162	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B164	D	A	S	Y	R	A	T	28
PD1B11	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B183	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B184	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B185	D	A	S	D	R	A	T	27
PD1B187	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B192	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B71	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B177	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B70	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B175	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B194	D	A	S	Y	R	A	T	28
PD1B195	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B196	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B197	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B198	D	A	S	S	R	A	T	29
PD1B199	D	A	S	T	R	A	T	30
PD1B200	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B201	D	A	S	N	R	A	T	26

Таблица 19

Антитело	LCDR3									
	Последовательность									SEQ
										ID NO:
PD1B114	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B149	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B160	Q	Q	R	G	N	W	P	L	T	33
PD1B162	Q	Q	R	E	Y	W	P	L	T	34
PD1B164	Q	Q	R	D	Y	W	P	L	T	35
PD1B11	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B183	Q	Q	R	G	Y	W	P	L	T	36
PD1B184	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B185	Q	Q	R	W	N	W	P	L	T	37
PD1B187	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B192	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B71	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B177	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B70	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B175	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B194	Q	Q	R	D	Y	W	P	L	T	35
PD1B195	Q	Q	R	E	Y	W	P	L	T	34
PD1B196	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B197	Q	Q	R	A	Y	W	P	L	T	38
PD1B198	Q	Q	R	A	E	W	P	L	T	39
PD1B199	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B200	Q	Q	R	S	A	W	P	L	T	40
PD1B201	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32

Таблица 20

Антитело	ИД пептида VH	VH с SEQ ID NO:	ИД пептида VL	VL с SEQ ID NO:
PD1B114	PD1H24	41	PH9L3	49
PD1B149	PD1H24	41	PD1L128	50
PD1B160	PD1H131	42	PD1L101	51
PD1B162	PD1H131	42	PD1L67	52
PD1B164	PD1H131	42	PD1L71	53

PD1B11	PD1H3	43	PH9L3	49
PD1B183	PD1H3	43	PD1L109	54
PD1B184	PD1H3	43	PD1L128	50
PD1B185	PD1H3	43	PD1L132	55
PD1B187	PD1H3	43	PD1L148	56
PD1B192	PD1H3	43	PD1L133	57
PD1B71	PD1H108	44	PH9L3	49
PD1B177	PD1H164	45	PH9L3	49
PD1B70	PD1H107	46	PH9L3	49
PD1B175	PD1H163	47	PH9L3	49
PD1B194	PD1H170	48	PD1L71	53
PD1B195	PD1H170	48	PD1L67	52
PD1B196	PD1H170	48	PD1L148	56
PD1B197	PD1H163	47	PD1L185	58
PD1B198	PD1H163	47	PD1L187	59
PD1B199	PD1H164	45	PD1L86	60
PD1B200	PD1H164	45	PD1L168	61
PD1B201	PD1H164	45	PD1L190	62

Таблица 21

ИД пептида VH	VH с SEQ ID NO:	Последовательность VH
PD1H24	41	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARPGLAAAYDTGNLDYWGQGTLVTVSS
PD1H131	42	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFDTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARPGLAAAYDTGNLDYWGQGTLVTVSS
PD1H3	43	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
PD1H108	44	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGTLDRTGHLDYWGQGTLVTVSS
PD1H164	45	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSDYVISWVRQAPGQG
		LEWMGGIIPIYGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGTLDRTGHLDYWGQGTLVTVSS
PD1H107	46	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGYVRATGMLDYWGQGTLVTVSS
PD1H163	47	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFKSYVIHWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARGYVRATGMLDYWGQGTLVTVSS
PD1H170	48	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFDTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRS EDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS

Таблица 22

ИД пептида VL	VL с SEQ ID NO:	Последовательность VL
PH9L3	49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRSNWPLTFGQGTKVEIK
PD1L128	50	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRNYLAWYQQKPGQAP RLLIHDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L101	51	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDSYLAWYQQKPGQAP RLLIKDASDRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRGNWPLTFGQGTKVEIK
PD1L67	52	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQREYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L71	53	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASYRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRDYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L109	54	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIKDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRGYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L132	55	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRNYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASDRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC
		QQRWNWPLTFGQGTKVEIK
PD1L148	56	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L133	57	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDSYLAWYQQKPGQAP RLLIHDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L185	58	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRAYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L187	59	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIEDASSRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRAEWPLTFGQGTKVEIK
PD1L86	60	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIHDASTRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNYWPLTFGQGTKVEIK
PD1L168	61	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDNYLAWYQQKPGQAP RLLIHDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRSAWPLTFGQGTKVEIK
PD1L190	62	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC QQRNYWPLTFGQGTKVEIK

Было выявлено, что все антитела к PD-1 имеют каркасы VH1-69 (SEQ ID NO: 170) и IGKV3-11 (L6) (SEQ ID NO: 171).

SEQ ID NO: 170

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMG

GIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR

SEQ ID NO: 171

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP

ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP

Пример 6. Создание и характеризация антител PD-1 у мышей.

Мышей BALB/c иммунизировали внутрибрюшинно, вводя huPD1-ECD и оценивая титры специфического IgG. После получения достаточных титров выделяли спленоциты и сливали их с клетками FO.

Полученные гибридомы высевали на 96-луночные планшеты и культивировали в течение 10 дней. Клоны, специфичные к антигену, выявляли стандартным ИФА с захватом на связывание с huPD1-ECD. Дополнительно гибридомы, специфичные к человеческому PD-1, исследовали на их аффинность к PD-1 человека и яванского макака, связывание с клетками Jurkat и ингибирование PD-L1 яванского макака. На основании результатов был выбран клон PD1B28 для гуманизации с применением адаптации каркаса.

Процесс адаптации каркаса был выполнен так, как по существу описано в патентной публикации США № 2009/0118127 и Fransson et al., (2010) J Mol Biol 398:214-231. Вкратце, последовательности тяжелой и легкой цепей сравнивали с человеческими последовательностями зародышевой линии (только аллели "01" по данным на 01 октября 2007 г.) с применением поиска BLAST по базе данных IMGT (Kaas, et al., (2004) Nucl Acids Res 32, D208-D210; Lefranc et al., (2005) Nucl Acid Res 33, D593-D597). Из данного набора человеческих генов зародышевой линии удаляли избыточные гены (100% идентичные на уровне аминокислот) и гены с непарными цистеиновыми остатками. Оставшиеся максимально соответствующие как по каркасным, так и по CDR-областям человеческие гены зародышевой линии выбирали в качестве акцепторных человеческих каркасов. На основе гомологии последовательностей и длины CDR, а также сходства CDR отбирали несколько человеческих каркасных последовательностей VL и VH зародышевой линии. FR-4 выбирали на основании сходства последовательностей в генах зародышевых линий IGHJ/IGJK. Затем CDR PD1B28 переносили в выбранные акцепторные человеческие каркасы с получением HFA-вариантов, за исключением области, соответствующей HCDR1 в VH. Для этой области комбинацию CDR и HV или более короткую HCDR2 (называемую Kabat-7, см. патентную публикацию США № 2009/0118127) переносили из нечеловеческого антитела в FR человека, поскольку остальные остатки в HCDR2 не были обнаружены в контакте в комплексах антиген-антитело с известной структурой (Almagro, (2004) J Mol Recognit 17:132). В определенных положениях остатков гуманизированных антител были встроены обратные мутации. Обратные мутации PD1B131: VH: V37I_Q39L_W47S_R98S, VL: Y49K. PD1B132: VH W47S R98S, VL: Y49K (нумерация остатков по Chothia).

Выбранные антитела экспрессировали как IgG2сигма/κ. Полученные антитела характеризовали по их связыванию с рекомбинантным PD-1 и экспрессированным PD-1 на клетках (клетки Jurkat), а также по ингибированию их лигандов (PD-L1 яванского макака и PD-L1 человека). Характеристики выбранных гуманизированных антител показаны в табл. 23. Последовательности VH и VL созданных антител показаны в табл. 24 и табл. 25 соответственно.

Таблица 23

mAb	Связывание с клетками Jurkat относительно PD1B28	Аффинность PD-1 человека			Ингибирование PD-L1, IC50 (нг/мл)	
		kon (1/Мс)	koff (1/с)	KD (пМ)	PD-L1 человека	PD-L1 яванского макака
PD1B28	100%	9,70 E+05	1,18 E-04	122	67	96
PD1B131	100%	8,27 E+05	1,05 E-04	127	79	96
PD1B132	100%	9,14 E+05	8,80 E-05	96	55	79

Таблица 24

mAb	ИД VH	ИД VL	Последовательность VH	VH с SEQ ID NO:
PD1B131	PD1H130	PD1L62	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFAFSRYDMSWIRLAPGKGLESVAY ISGGGANTYYLDNVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPY LSYFDVWGQGTLVTVSS	63
PD1B132	PD1H129	PD1L62	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFAFSRYDMSWVRQAPGKGLESVAY ISGGGANTYYLDNVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPY LSYFDVWGQGTLVTVSS	64

Таблица 25

mAb	ИД VH	ИД VL	Последовательность VL	VL с SEQ ID NO:
PD1B131	PD1H130	PD1L62	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAS QSLSDYLHWYQQKPGQAPRLLIKSAS QSISGIPARFSGSGSGTEFTLTISSL QSEDFAVYYCQNGHSFPYTFGQGTKL EIK	65
PD1B132	PD1H129	PD1L62	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRAS QSLSDYLHWYQQKPGQAPRLLIKSAS QSISGIPARFSGSGSGTEFTLTISSL QSEDFAVYYCQNGHSFPYTFGQGTKL EIK	65

Последовательности CDR из PD1B131 и PD1B132 показаны ниже:

HCDR1 (SEQ ID NO: 66)

RYDMS

HCDR2 (SEQ ID NO: 67)

YISGGGANTYYLDNVKG

HCDR3 (SEQ ID NO: 68)

PYLSYFDV

LCDR1 (SEQ ID NO: 69)

RASQSLSDYLH

LCDR2 (SEQ ID NO: 70)

SASQSIS

LCDR3 (SEQ ID NO: 71)

QNGHSFPYT

Пример 7. Влияние переключения изотипа на свойства антител к PD-1.

Вариабельные области антител PD1B196 и PD1B199 (изотипа IgG2сигма/к) клонировали как изотипы IgG4 S228P, а вариабельные области антител PD1B132 (изотипа IgG2) - как изотип IgG2сигма, чтобы оценить возможные различия по функциональности и перспективы разработки.

Антитела были названы PD1B244 (PD1B196 VH/VL на IgG4 S228P) PD1B245 (PD1B199 VH/VL на IgG4 S228P) и PD1B243 (PD1B132 VH/VL на IgG2сигма).

Переключение изотипа не оказывало существенного влияния на свойства антител, однако у некоторых антител наблюдались изменения значений EC50 в анализе ЦМВ.

Ниже приведены примеры аминокислотных последовательностей тяжелых цепей и легких цепей различных антител. В табл. 26 представлены сводные данные о последовательностях SEQ ID NO: для VH, VL, тяжелой цепи и легкой цепи выбранных антител.

Таблица 26

Антитело	ИД пептида VH	VH с SEQ ID NO:	ИД пептида VL	VL с SEQ ID NO:	HC SEQ ID NO	LC SEQ ID NO:
PD1B114	PD1H24	41	PH9L3	49	212	213
PD1B149	PD1H24	41	PD1L128	50	214	215
PD1B160	PD1H131	42	PD1L101	51	216	217
PD1B162	PD1H131	42	PD1L67	52	218	219
PD1B164	PD1H131	42	PD1L71	53	220	221
PD1B183	PD1H3	43	PD1L109	54	222	223
PD1B184	PD1H3	43	PD1L128	50	224	225
PD1B185	PD1H3	43	PD1L132	55	226	227
PD1B192	PD1H3	43	PD1L133	57	228	229
PD1B243	PD1H129	64	PD1L62	65	74	75
PD1B244	PD1H170	48	PD1L148	56	72	73
PD1B245	PD1H164	45	PD1L86	60	76	77

SEQ ID NO: 72 HC PD1B244

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK

SEQ ID NO: 73 LC PD1B244

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP

ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 74 HC PD1B243

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSRYDMSWVRQAPGKGLESVAYISGGGANTY
YLDNVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYLSYFDVWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
K

SEQ ID NO: 75 LC PD1B243

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSLSDYLHWYQQKPGQAPRLLIKSASQSISGIP
ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQNGHSFPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 76 HC PD1B245

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSDYVISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIYGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTLDRTGHLDYWGQGTLVTVSSAST
KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL
MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL
SLGK

SEQ ID NO: 77 LC PD1B245

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIHDASTRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 212 HC PD1B114

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGNLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD

TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 213 LC PD1B114

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 214 HC PD1B149

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGNLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 215 LC PD1B149

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRNYLAWYQQKPGQAPRLLIHDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 216 HC PD1B160

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGNLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 217 LC PD1B160

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDSYLAWYQQKPGQAPRLLIKDASDRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE

KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 218 HC PD1B162

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGNLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 219 LC PD1B162

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQREYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 220 HC PD1B164

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGNLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 221 LC PD1B164

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASYRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRDYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 222 HC PD1B183

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI

AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 223 LC PD1B183

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIKDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRGYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 224 HC PD1B184

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 225 LC PD1B184

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRNYLAWYQQKPGQAPRLLIHDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 226 HC PD1B185

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 227 LC PD1B185

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRNYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASDRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRWNWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 228 HC PD1B192

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 229 LC PD1B192

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVDSYLAWYQQKPGQAPRLLIHDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Пример 8. Характеризация антител PD-1 в клеточных анализах.

Выбранные антитела характеризовали в анализах MLR и ЦМВ по протоколам, описанным в примере 1. Значения EC50 для индукции ИФН-γ по анализам MLR и ЦМВ показаны в табл. 27. В большинстве случаев антитела к PD-1 показывали дозозависимое повышение уровней ИФН-γ как в анализе MLR, так и в анализе ЦМВ.

Таблица 27

Происхождение	mAb	MLR EC50 (нМ)	ЦМВ EC50 (нМ)
Фаговый дисплей	PD1B3	0,29	0,06
	PD1B91	0,05	0,03
	PD1B194	Н/и	Н/с
	PD1B195	Н/и	1,64
	PD1B196	0,14	0,31
	PD1B199	0,63	Н/с
	PD1B200	Н/и	3,81
	PD1B201	Н/и	2,60
	PD1B244	0,08	0,03
HFA	PD1B132	Н/и	0,07
	PD1B243	0,07	0,02
	Н/и - не исследовали		
	Н/с - нет сходимости		
	HFA - адаптация для человеческого каркаса		

В дополнение к ИФН-γ блокада PD-1 также влияла на уровни секреции дополнительных цитокинов в двух анализах. После стимуляции ЦМВ антитела к PD-1 вызывали дозозависимую индукцию ФНО-α и IL-4, тогда как в анализе MLR они повышали уровни ФНО-α и ИЛ-2.

Пример 9. Создание антител к TIM-3 человека с помощью библиотек фаговых дисплеев.

Выполняли пэннинг de novo библиотек pIX Fab, описанных в примере 2, против внеклеточного домена рекомбинантного гибридного белка TIM-3-Fc человека (компания R&D Systems, № 2365-TM; остатки Ser22-Arg200 полноразмерного TIM-3) (huTIM-3-Fc).

Рекомбинантный белок биотинилировали (bt) и захватывали на магнитных гранулах стрептавидина (компания Dynal), а затем экспонировали с de novo библиотеками pIX Fab в конечной концентрации 100 нМ. Неспецифические фаги отмывали в PBS-Tween, а связанные фаги выделяли посредством инфицирования клеток MC1061F' E.coli. Фаги амплифицировали из этих клеток в течение ночи и повторяли в общей сложности три цикла пэннинга. После конечного цикла биопэннинга проводили скрининг моноклонального Fab на связывание с биотинилированным TIM-3-Fc человека, захваченным стрептавидином на планшетах твердофазного ИФА, и к захваченному антигену добавляли секретируемый Fab с последующим обнаружением Fab с помощью антитела козы к kappa:HRP человека. Выбранные антитела экспрессировали и клонировали на IgG с различными изотипами, как указано ниже, и дополнительно характеризовали.

Пример 10. Создание антител к TIM-3 у мышей.

Мышей Balb/c иммунизировали рекомбинантным гибридным белком TIM-3-Fc человека (компания R&D Systems, № 2365-TM по каталогу) в течение 18 дней. Собирали селезенки и сливали обогащенную В-клетками популяцию с клетками FO миеломы мыши для создания гибридом, секретирующих mAb. Проводили скрининг супернатантов гибридомы на связывание в твердофазном ИФА с белком TIM-3-Fc и посторонним IgG1 Fc человека. Затем анализировали специфичные к TIM-3 супернатанты на способность к связыванию с экспрессирующими TIM-3 клетками THP-1.

v-гены HC и LC выбранных mAb из положительных на TIM-3 гибридом клонировали с помощью стандартных методик молекулярной биологии (ОТ-ПЦР с последующим лигированием ПЦР-фрагмента в экспрессионные векторы плазмиды). Экспрессировали рекомбинантные mAb и повторяли ИФА для подтверждения специфического связывания TIM-3. Построение молекулярных моделей последовательностей антител мыши для адаптации к человеческому каркасу выполняли в MOE (CCG, г. Монреаль, Кана-

да), проверяли визуально. Выявляли потенциальные проблемные положения, которые могли повлиять на связывание антигена, упаковку VL/VH, и/или остатки в ядре, которые могли повлиять на стабильность доменов. Если выявлялись проблемные положения, то как для VL, так и для VH было предложено множество человеческих каркасов с обратными мутациями к последовательностям каркасов мыши или без них. Сконструированные последовательности клонировали в плазмиды тяжелых и легких цепей и экспрессировали в клетках Expi293F. Экспрессированное антитело в супернатантах культур определяли количественно и оценивали на связывание с клетками HEK293, трансфицированными рекомбинантным TIM-3 человека.

Пример 11. Изотипы антител к TIM-3.

В ходе характеризации антитела, чтобы оценить влияние, если оно имеется, переключения изотипа на функциональность или возможность разработки антител, VH и VL выделенных антител к TIM-3 клонировали на тяжелую цепь различных изотипов, необязательно с различными заменами в Fc, а также на аллотипы с легкими цепями к. Различные применяемые изотипы показаны в табл. 28.

Таблица 28

Изотип	Замена по сравнению с диким типом*	Цель замены
IgG2сигма	V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S, P331S	Устранение эффекторных функций
IgG2сигма_K409R	V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S, P331S, K409R	Устранение эффекторных функций, улучшение формирования гетеродимера в биспецифическом антителе
IgG2сигма_F405L	V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S, P331S, F405L	Устранение эффекторных функций, улучшение формирования гетеродимера в биспецифическом антителе
IgG4_PAA	S228P, F234A, L235A	Стабильность антитела, устранение эффекторных функций
IgG4_ PAA_F405L_R409K	S228P, F234A, L235A, F450L, R409K	Стабильность антитела, устранение эффекторных функций, улучшение формирования гетеродимера в биспецифическом антителе
IgG4_S228P	S228P	Стабильность антитела
IgG1	Дикий тип	
IgG1сигма	L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S, P331S	Устранение эффекторных функций
IgG1сигма_K409R	L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S, P331S, K409R	Устранение эффекторных функций, улучшение формирования гетеродимера в биспецифическом антителе
IgG1сигма_F405L	L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S, P331S, F405L	Устранение эффекторных функций, улучшение формирования гетеродимера в биспецифическом антителе
IgG1_AA	L234A, L235A	Устранение эффекторных функций
	* Нумерация остатков соответствует каталогу EU	

Различные аллотипы, применяемые в созданных антителах, показаны в табл. 29. Некоторые из ан-

тител имели химерные аллотипы. Например, антитела TM3B105 и TM3B403 различаются одной аминокислотной заменой в положении 189 в константной области. Последовательности SEQ ID NO: 240 и 79 соответственно тяжелой и легкой цепей TM3B105; последовательности SEQ ID NO: 78 и 79 соответственно тяжелой и легкой цепей TM3B403. Ожидается, что два антитела имеют одинаковые характеристики.

Таблица 29

Изотип/аллотип/замены
IgG2сигма_G2m(n-)/(n)_K409R
IgG2сигма_G2m(n-)_K409R
IgG2сигма_G2m(n-)/(n)
IgG2сигма_F405L
IgG2_K409R
IgG2сигма_G2m(n-)
IgG2
IgG4_S228P
IgG4_S228P_F405L_R409K
IgG4_nG4m(a)_PAA_F405L_R409K
IgG4_PAA
IgG1сигма
IgG1_G1m(17)
IgG1_ G1m(17,1)_AA

В целом антитела к TIM-3 с Fc IgG2сигма в анализе ЦМВ имели более высокую активность, чем антитела к TIM-3 с Fc huIgG4. Кроме того, антитела с Fc huIgG2 демонстрировали функциональность, которая была промежуточной между IgG2сигма и IgG4. Аллотип не оказывал влияния на активность антитела.

Пример 12. Определение структурных характеристик антител к TIM-3.

Последовательности кДНК и трансляции аминокислот антител получали с помощью стандартных методик в процессе создания антител с применением различных кампаний. После определения последовательности полипептидов некоторые кДНК антител, кодирующие вариабельные области или полноразмерные антитела, были оптимизированы по кодонам с помощью стандартных способов экспрессии в увеличенном количестве. Антитела TM3B103, TM3B105, M3B108, TM3B109 и TM3B113 выделяли из библиотек фаговых дисплеев. Антитела TM3B189, TM3B190, TM3B193, TM3B195 и TM3B196 создавали посредством иммунизации мышей.

В табл. 30 показаны последовательности HCDR1 выбранных антител к TIM-3.

В табл. 31 показаны последовательности HCDR2 выбранных антител к TIM-3.

В табл. 32 показаны последовательности HCDR3 выбранных антител к TIM-3.

В табл. 33 показаны последовательности LCDR1 выбранных антител к TIM-3.

В табл. 34 показаны последовательности LCDR2 выбранных антител к TIM-3.

В табл. 35 показаны последовательности LCDR3 выбранных антител к TIM-3.

В табл. 36 показаны последовательности VH выбранных антител к TIM-3.

В табл. 37 показаны последовательности VL выбранных антител к TIM-3.

В табл. 38 показаны каркасы выбранных антител к TIM-3.

Таблица 30

Название mAb	HCDR1						
	Последовательность						SEQ ID NO:
TM3B103	N	Y	W	M	S		90
TM3B105	S	Y	A	M	S		91
TM3B109	S	Y	A	M	S		91
TM3B108	G	Y	W	M	H		92
TM3B113	D	Y	W	M	S		93
TM3B189	S	Y	V	M	Y		94
TM3B190	S	D	Y	A	W	N	95

TM3B193	D	T	Y	L	H		96
TM3B195	S	Y	W	M	Q		97
TM3B196	S	Y	G	V	H		98
TM3B291	S	Y	W	M	Q		97

Таблица 31

mAb	HCDR2																	
	Последовательность																	SEQ ID NO:
TM3B103	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	99
TM3B105	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	99
TM3B109	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	99
TM3B108	A	I	S	Y	S	G	S	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	100
TM3B113	V	I	K	Y	S	G	G	S	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	101
TM3B189	Y	I	N	P	Y	N	D	G	T	K	Y	N	E	K	F	K	G	102
TM3B190	Y	I	N	Y	S	G	R	T	S	Y	N	P	S	L	K	S		103
TM3B193	R	I	D	P	T	N	G	N	I	K	Y	D	P	K	F	Q	G	104
TM3B195	A	I	Y	P	G	D	G	D	I	R	Y	T	Q	N	F	K	G	105
TM3B196	V	I	W	S	D	G	S	T	T	Y	N	S	A	L	K	S		106
TM3B291	A	I	Y	P	G	D	G	D	I	R	Y	T	Q	N	F	K	G	105

Таблица 32

mAb	HCDR3															
	Последовательность															SEQ ID NO:
TM3B103	D	H	W	D	P	N	F	L	D	Y						107
TM3B105	S	P	Y	A	P	L	D	Y								108
TM3B109	N	E	E	P	D	D	R	L	D	Y						109
TM3B108	G	T	N	W	L	D	Y									110
TM3B113	E	L	E	G	V	F	D	Y								111
TM3B189	D	D	Y	D	V	A	P	F	A	Y						112
TM3B190	G	G	N	F	D	Y										113
TM3B193	P	Y	Y	G	F	F	D	Y								114
TM3B195	W	E	K	S	T	T	V	V	Q	R	N	Y	F	D	Y	115
TM3B196	Q	A	N	Y	R	Y	D	S	A	M	D	Y				116
TM3B291	W	E	K	S	T	T	V	V	Q	R	N	Y	F	D	Y	115

Таблица 33

mAb	LCDR1																	
	Последовательность																	SEQ ID NO:
TM3B103	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L	A						117
TM3B105	R	A	S	Q	S	V	N	D	Y	L	A							118
TM3B109	K	S	S	Q	S	V	L	A	S	S	N	N	K	N	Y	L	A	119
TM3B108	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L	A						117
TM3B113	R	A	S	Q	S	V	S	N	S	T	L	A						120
TM3B189	R	A	S	E	S	L	D	S	Y	G	N	S	Y	I	H			121
TM3B190	Q	A	T	Q	D	I	V	K	N	L	N							122
TM3B193	K	A	S	Q	D	V	N	T	A	V	A							123
TM3B195	K	A	S	E	N	V	G	T	F	V	S							124
TM3B196	K	A	S	Q	S	V	D	Y	D	G	D	S	Y	M	N			125
TM3B291	K	A	S	E	N	V	G	T	F	V	S							124

Таблица 34

mAb	LCDR2							
	Последовательность							SEQ ID NO:
TM3B103	G	A	S	S	R	A	T	126
TM3B105	D	A	S	N	R	A	T	127
TM3B109	W	A	S	T	R	E	S	128
TM3B108	G	A	S	S	R	A	T	126
TM3B113	T	A	S	S	R	A	T	129
TM3B189	L	A	S	N	L	E	S	130
TM3B190	Y	V	T	E	L	A	E	131
TM3B193	S	A	T	Y	R	Y	T	132
TM3B195	G	A	S	N	R	Y	T	133
TM3B196	T	A	A	N	L	Q	S	134
TM3B291	G	A	S	N	R	Y	T	133

Таблица 35

mAb	LCDR3									
	Последовательность									SEQ ID NO:
TM3B103	Q	Q	Y	G	S	S	P	L	T	135
TM3B105	Q	Q	G	G	H	A	P	I	T	136
TM3B109	Q	Q	Y	Y	S	T	P	L	T	137
TM3B108	Q	Q	Y	G	S	S	P	L	T	135
TM3B113	Q	Q	S	Y	T	S	P	W	T	139
TM3B189	Q	Q	N	N	E	D	P	F	T	140
TM3B190	L	Q	F	Y	E	F	P	L	T	141
TM3B193	Q	Q	H	Y	S	T	P	Y	T	142
TM3B195	G	Q	S	Y	S	Y	P	T		143
TM3B196	Q	Q	S	N	E	D	P	F	T	144
TM3B291	G	Q	S	Y	S	Y	P	T		143

Таблица 36

Название mAb	Название VH	Последовательность VH	SEQ ID NO:
TM3B103	TM3H21	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDHWDPNFLDY WGQGTLVTVSS	145
TM3B105	TM3H24	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPYAPLDYWG QGTLVTVSS	146
TM3B108	TM3H30	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYWMHW VRQAPGKGLEWVSAISYSGSSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGTNWLDYWGQ GTLVTVSS	147
TM3B109	TM3H31	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKNEEPDDRLDY WGQGTLVTVSS	148
TM3B113	TM3H65	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMSW VRQAPGKGLEWVSVIKYSGGSKYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKELEGVFDYWG QGTLVTVSS	149
TM3B189	TM3H141	EVQLQQSGPELLKPGASVKMSCKASGYTFTSYVMYW VKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGKATLTS DKSSSTAYMELSRLTSEDSAVYYCTRDDYDVAPFAY WGQGTLVTVSA	150
TM3B190	TM3H96	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWN WIRQFPGNKLEWMGYINYSGRTSYNPSLKSRISITR DTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTSGGNFDYWGQG TTLTVSS	151
TM3B193	TM3H99	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFHIKDTYLHW VKQRPEQGLEWIGRIDPTNGNIKYDPKFQGKATITS DTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCARPYYGFFDYWG QGTTLTVSS	152
TM3B195	TM3H144	EVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQW VKQRPGQGLEWIGAIYPGDGDIRYTQNFKGKATLTA DKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARWEKSTTVVQR NYFDYWGQGTTLTVSS BEPHO?	153
TM3B196	TM3H102	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTISGFSLTSYGVHW VRQPPGKGLEWLVVIWSDGSTTYNSALKSRLSISKD NSKSQVFLKMNSLQTDDTAMYYCARQANYRYDSAMD YWGQGTSVTVSS	154
TM3B291	TM3H162	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMQW VRQMPGKGLEWMGAIYPGDGDIRYTQNFKGQVTISA DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWEKSTTVVQR NYFDYWGQGTTVTVSS	172

Таблица 37

Название mAb	Название VL	Последовательность VL	SEQ ID NO:
TM3B103	PH9L1	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIK	155
TM3B105	TM3L33	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNDYLAWY QQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFT LTISSLEPEDFAVYYCQQGGHAPITFGQGTKVEIK	156
TM3B108	PH9L1	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGQGTKVEIK	155
TM3B109	PYYL6	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLASSNNK NYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPLTFGQGT KVEIK	157
TM3B113	TM3L12	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSNSTLAW YQQKPGQAPRLLIYTASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQSYTSPWTFGQGTKVEIK	158
TM3B189	TM3L61	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESLDSYGNSY IHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSK TDFTLTIDPVEADDPATYYCQQNNEDPFTFGSGTKL EIK	159
TM3B190	TM3L62	DIVMTQSPSSMSASLGDRITITCQATQDIVKNLNWY QQKPGKPPSFLIHYVTELAEGVPSRFSGSGSGSDYS LTISNLESEDFADYYCLQFYEFPLTFGAGTKLELK	160
TM3B193	TM3L52	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVNTAVAWY QQKPGQSPKLLIYSATYRYTGVPDRFTGSGSGTDFT FTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPYTFGSGTKLEIK	161
TM3B195	TM3L67	DVQMIQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVGTFVSWY QQKPDQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFT LTISSVQAEDLADYHCGQSYSYPTFGSGTKLEM	162
TM3B196	TM3L64	DIQMTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSY MNWYQQKPGQPPKLLIYTAANLQSGIPARFSGSGSG TDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPFTFGSGTKL EIK	163
TM3B291	TM3L85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVGTFVSWY QQKPGKAPKLLIYGASNRYTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCGQSYSYPTFGQGTKLEIK	173

Таблица 38

Название mAb	Название VH	Каркас VH		Название VL	Каркас VL	
		Название	SEQ ID NO:		Название	SEQ ID NO:
TM3B103	TM3H21	IGHV3-23	174	PH9L1	IGKV3-20	180

TM3B105	TM3H24	IGHV3-23	174	TM3L33	IGKV3-11	171
TM3B108	TM3H30	IGHV3-23	174	PH9L1	IGKV3-20	180
TM3B109	TM3H31	IGHV3-23	174	PYYL6	IGKV4-1	181
TM3B113	TM3H65	IGHV3-23	174	TM3L12	IGKV3-20	180
TM3B189	TM3H141	IGHV1-02	175	TM3L61	IGKV4-1	181
TM3B190	TM3H96	IGHV4-30	176	TM3L62	IGKV1-39	182
TM3B193	TM3H99	IGHV1-03	177	TM3L52	IGKV1-33	183
TM3B195	TM3H144	IGHV1-03	177	TM3L67	IGKV1-39	182
TM3B196	TM3H102	IGHV2-26	178	TM3L64	IGKV4-1	181
TMB291	TM3H162	IGHV5-51	179	TM3L85	IGKV1-39	182

IGHV3-23 SEQ ID NO: 174

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK

IGHV1-02 SEQ ID NO: 175

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMG RINPNSGGTNYAQKFQGRVTSTRDTSISTAYMELSRLRSDDTVVYYCAR

IGHV4-30 SEQ ID NO: 176

QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGST YYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR

IGHV1-03 SEQ ID NO: 177

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVRQAPGQRLEWMG WINAGNGNTKYSQKFQGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR

IGHV2-26 SEQ ID NO: 178

QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSNARMGVSWIRQPPGKALEWLA HIFSNDEKSYSTSLKSRLTISKDTSKSQVVLTMTNMDPVDTATYYCARI

IGHV5-51 SEQ ID NO: 179

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTR YSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR

IGKV3-20 SEQ ID NO: 180

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP

IGKV3-11 SEQ ID NO: 171

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP

IGKV4-1SEQ ID NO: 181

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP

IGKV1-39 SEQ ID NO: 182

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPI

GKV1-33 SEQ ID NO: 183

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY DASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLP

Пример 13. Характеризация антител к TIM-3.

Выбранные антитела характеризовали на их связывание с клетками человека или яванского макака, а также на их способность блокировать связывание лиганда галектина-9. В табл. 39 показаны характеристики выбранных антител в этих анализах. Данные по связыванию клеток представляют расчетные значения EC50 связывания антител с клетками, трансфицированными указанным рекомбинантным белком TIM-3, выраженные в единицах мкг/мл. Ингибирование галектина-9 представляет максимальный уровень ингибирования связывания галектина-9 с TIM-3 человека, наблюдаемый с указанными антителами. Исследуемые антитела исследовали как изотипы IgG2сигма.

Анализы по картированию эпитопа выполняли путем покрытия планшет MSD рекомбинантным белком huTIM-3-Fc. Планшеты блокировали и промывали с последующим добавлением смеси mAb к

TIM-3, меченных тегом MSD и инкубированных с возрастающими концентрациями не меченых mAb к TIM-3. После инкубации с легким встряхиванием при комнатной температуре планшеты промывали и анализировали с помощью SECTOR Imager 6000. Антитела, которые конкурировали друг с другом за связывание с TIM-3 человека, считались связывающими аналогичные эпитопы. Положительное ингибирование отмечали, если связывание ингибировалось на > 75%. Частичным ингибированием считалось 40-75% ингибирования. < 40% ингибирования обозначали как отрицательное.

Таблица 39

mAb	EC50 связывания с клетками, мкг/мл		Ингибирование галектина-9, % ингибирования	Эпитопная группа
	Клетки человека	Клетки яванского макака		
TM3B103	0,71	0,09	71,2	1
TM3B105	0,46	0,03	69,8	1
TM3B107			74,8	2
TM3B108	0,42	0,03	64,2	1
TM3B109			77,0	1
TM3B113			75,6	2
TM3B189	0,74	0,19	76,4	3
TM3B190	0,35	0,08	60,7	1
TM3B193			47,4	3
TM3B219	0,60	0,10	38,0	3
TM3B196			57,0	4

Пример 14. Разработка функционального анализа in vitro для характеризации антител к TIM-3.

Функциональную оценку ингибиторных рецепторов, таких как PD-1, можно выполнять с применением Т-клеток от нормального донора, которые стимулируются аллогенными дендритными клетками или специфическими антигенами, например, анатоксином столбняка или ЦМВ. В таких условиях изменения функции Т-клеток при обработке антителом можно обнаруживать посредством измерения уровней цитокина в супернатанте либо по активации маркеров Т-клеток. Влияния антител к TIM-3 в этих типах анализов могут значительно варьировать при незначительном общем изменении состояния активации или функциональности общей массы Т-клеток (неспецифичных к антигену). С другой стороны, применение тетрамерных подходов для слежения за одиночными субпопуляциями/клонами Т-клеток не обеспечивает разрешения, необходимого в этих анализах для обнаружения функционального влияния антител к TIM-3, вследствие низкой частоты и гетерогенного функционального профиля этих клонов Т-клеток. Кроме того, при данном подходе необходима предварительная идентификация эпитопов, распознаваемых специфичными к ЦМВ Т-клетками от каждого донора.

Недавно CD137 был описан как суррогатный маркер для активированных специфичных к антигену Т-клеток (Wolf et al., (2007) Blood 110 (1): 201-210; Klinger et al., (2013) PLoS One 8(9): e74231). В наших анализах применение CD137 позволяло выявить специфичные к антигену Т-клетки CD8+ и CD4+, которые распространяются в ответ на стимуляцию антигеном ЦМВ, и позволяло обнаруживать функциональные эффекты антител к TIM-3. В дополнение к экспрессии CD137 в этих анализах также оценивали секрецию цитокинов по MSD.

Активность выбранных антител к TIM-3 исследовали на PBMC, стимулированных pp65 ЦМВ. В этих анализах антитела к TIM-3 повышали активацию Т-клеток, как демонстрировала усиленная экспрессия CD137 на Т-клетках как CD8+, так и CD4+. Кроме того, выбранные антитела к TIM-3 в этом анализе также усиливали секрецию ИФН-γ и ФНО-α.

В табл. 40 показаны результаты анализа ЦМВ, в котором для выбранных антител к TIM-3 усиленную экспрессию CD137 на поверхности оценивали на клетках CD8+ или CD4+. В таблице показаны p-значения, полученные по двустороннему Т-критерию (неравномерная дисперсия).

Таблица 40

	CD8+ CD137+, p-значения			CD4+ CD137+, p-значения		
	Среднее	Станд. откл.	n	Среднее	Станд. откл.	n
TM3B103	0,043	0,025	5	0,071	0,112	3
TM3B105	0,029	0,036	6	0,01	0,017	3
TM3B107	0,182	0,188	5	0,157	0,125	3
TM3B108	0,022	0,018	5	0,01	0,01	3
TM3B109	0,035	0,041	5	0,017	0,015	3
TM3B113	0,082	0,064	6	0,05	0,026	3
TM3B189	0,027	0,026	6	0,007	0,011	3
TM3B190	0,078	0,159	6	0,004	0,005	3
TM3B193	0,467	0,252	3	0,1	Н/п	1
TM3B195	0,035	0,043	7	0,01	0,01	3
TM3B196	0,328	0,183	6	0,733	0,058	3
TM3B197	0,473	0,303	4	0,3	Н/п	1

Пример 15. Создание биспецифических антител PD-1/TIM-3.

Выбранные моноспецифические антитела к PD-1 и TIM-3 экспрессировали как IgG1/к, IgG2/к или IgG4/к. Замены были выполнены в положениях 405 и 409 (нумерация по EU) в моноспецифических антителах для содействия последующему обмену плеч in vitro и формированию биспецифических антител. Антитела IgG1 и IgG2 к PD-1 и к TIM-3 конструировали с наличием замен F405L и K409R соответственно для содействия обмену плеч и созданию биспецифических антител. На IgG4 в положении 409 WT находится R; следовательно, антитело IgG4 к PD-1 не было сконструированным, а антитело IgG4 к TIM-3 было сконструированным с наличием замен F405L и R409K. В дополнение к заменам в положениях 405 и 409 mAb IgG4 были сконструированы с заменой S228P, а антитела IgG2 были необязательно сконструированы с включением замены IgG2сигма (V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S).

Моноспецифические антитела экспрессировали и очищали с помощью стандартных способов, применяя колонку Protein A (колонку HiTrap MabSelect SuRe). После элюирования пулы диализировали в D-PBS, pH 7,2.

Биспецифические антитела PD-1/TIM-3 создавали, комбинируя моноспецифическое mAb к PD-1 и моноспецифическое mAb к TIM-3 при обмене плечами Fab in vitro, как описано в международной патентной публикации № WO2011/131746. Вкратце, около 1-20 мг/мл каждого антитела в молярном соотношении 1: 1 в PBS, pH 7-7,4, и 75 мМ 2-меркаптоэтаноламина (2-MEA) смешивали вместе и инкубировали при 25-37°C в течение 2-6 ч, после чего удаляли 2-MEA посредством диализа, диафильтрации, тангенциальной поточной фильтрации и/или фильтрации в вихревой ячейке с применением стандартных способов.

Биспецифические антитела после обмена плечами Fab in vitro дополнительно очищали стандартными способами, применяя гидрофобную хроматографию, чтобы свести к минимуму остаточное содержание исходных антител PD-1 и TIM-3.

Выбранные моноспецифические антитела к PD-1 и к TIM-3 комбинировали в матриксе при обмене плечами Fab in vitro с созданием биспецифических антител. В табл. 41, табл. 42 и табл. 43 показаны последовательности VH, VL, HC и LC созданных биспецифических антител и их изотипы. Аллотипами антител G2 были G2m(n)/(n-) или G2m(n-).

В некоторых экспериментах применяли контрольные антитела, которые были моновалентными для либо PD-1, либо TIM-3, со вторым инертным плечом, связывающимся с gp120. Связывающее gp120 плечо имело VH с SEQ ID NO: 184 и VL с SEQ ID NO: 185. В табл. 44 показаны созданные контрольные антитела.

SEQ ID NO: 184 VH mAb, связывающего gp120

Qvqlvqsgaevkkpgasvkvscqasgyrfsnfvihwvrqapgqrfewmgwinpyngnke fsakfqdrvtftadtsantaymelrslrsadtavyycarvgpyswddspqdnyymdvwgkgttv ivss

SEQ ID NO: 185 VL mAb, связывающего gp120

Eivltqspgtlslspgeratfscrsshsirsrrvawyqhkpgqaprlvihgvsnrasgisdrfs gsgsgtdftltitrvepedfalyycqvygassytfgqgtklerk

Таблица 41

mAb	Плечо, связывающее PD-1				
	VH1	VH1 SEQ ID NO:	VL1	VL1 SEQ ID NO:	Изотип
PTBB14	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG2сигма
PTBB15	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG2сигма
PTBB16	PD1H129	64	PD1L62	65	IgG2сигма
PTBB17	PD1H129	64	PD1L62	65	IgG2сигма
PTBB24	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG2сигма
PTBB30	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG2сигма
PTBB27	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG2
PTBB28	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG2
PTBB18	PD1H129	64	PD1L62	65	IgG4_S228P
PTBB20	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG4_S228P
PTBB21	PD1H170	48	PD1L148	56	IgG4_S228P

Таблица 42

mAb	Плечо, связывающее TIM-3				
	VH2	VH2 SEQ ID NO:	VL2	VL2 SEQ ID NO:	Изотип
PTBB14	TM3H144	153	TM3L67	162	IgG2сигма
PTBB15	TM3H24	146	TM3L33	156	IgG2сигма
PTBB16	TM3H144	153	TM3L67	162	IgG2сигма
PTBB17	TM3H24	146	TM3L33	156	IgG2сигма
PTBB24	TM3H162	172	TM3L85	173	IgG2сигма
PTBB30	TM3H24	146	TM3L33	156	IgG2сигма
PTBB27	TM3H162	172	TM3L85	173	IgG2
PTBB28	TM3H24	146	TM3L33	156	IgG2
PTBB18	TM3H24	146	TM3L33	156	IgG4_S228P
PTBB20	TM3H24	146	TM3L33	156	IgG4_S228P
PTBB21	TM3H162	172	TM3L85	173	IgG4_S228P

Таблица 43

mAb	SEQ ID NO:			
	Плечо, связывающее PD-1		Плечо, связывающее TIM-3	
	HC1	LC1	HC2	LC2
PTBB14	186	188	190	193
PTBB15	186	188	191	194
PTBB16	187	189	190	193
PTBB17	187	189	191	194
PTBB24	186	188	192	195
PTBB30	186	188	248	194
PTBB27	241	188	244	195
PTBB28	241	188	245	194
PTBB18	242	189	246	194
PTBB20	243	188	246	194
PTBB21	243	188	247	195

SEQ ID NO: 186

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 187

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSRYDMSWVRQAPGKGLESVAYISGGGANTY
YLDNVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYLSYFDVWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES

NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 188

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVRSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRNYWPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 189

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSLSDYLHWYQQKPGQAPRLLIKSASQSISGIP
ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQNGHSFPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 190

EVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQWVKQRPGQGLEWIGAIYPGDGDIR
YTQNFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARWEKSTTVVQRNYFDYWGQGTTLTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK

SEQ ID NO: 191

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPYAPLDYWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 192

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMQWVRQMPGKGLEWMGAIYPGDGDIR
YTQNFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWEKSTTVVQRNYFDYWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS

LSLSPGK

SEQ ID NO: 193

DVQMIQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVGTFVSWYQQKPDQSPKLLIYGASNRYTGVP
DRFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYHCGQSYSYPTFGSGTKLEMKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 194

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNDYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQGGHAPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 195

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVGTFVSWYQQKPGKAPKLLIYGASNRYTGVP
SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQSYSYPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 241

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTAN
YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDW
LNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

SEQ ID NO: 242

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFAFSRYDMSWVRQAPGKGLESVAYISGGGANTY
YLDNVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPYLSYFDVWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
K

SEQ ID NO: 243

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFDTAN

YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARPGLAAAYDTGSLDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSLGK

SEQ ID NO: 244

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMQWVRQMPGKGLEWMGAIYPGDGDIR
YTQNFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWEKSTTVVQRNYFDYWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQD
WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK

SEQ ID NO: 245

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPYAPLDYWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 246

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPYAPLDYWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
K

SEQ ID NO: 247

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWMQWVRQMPGKGLEWMGAIYPGDGDIR
YTQNFKGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARWEKSTTVVQRNYFDYWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSLGK

SEQ ID NO: 248

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKSPYAPLDYWGQGTLVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPAAASSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSAEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Таблица 44

Контрольное mAb	VH/VL плеча 1 с заменой F405L	VH/VL плеча 2 с заменой K409R	Изотип
TM3B342	gp120	TM3B195	IgG2сигма
TM3B343	gp120	TM3B299	IgG2сигма
B23B74	gp120	B23B32	IgG2сигма
PTBB23	gp120	TM3B291	IgG2сигма
PD1B355	PD1B246	gp120	IgG2сигма
PD1B356	PD1B248	gp120	IgG2сигма

Пример 16. Характеризация биспецифических антител PD-1/TIM-3.

Созданные биспецифические антитела-антагонисты исследовали в анализе ЦМВ на их способность к усилению ответа специфичных к антигену Т-клеток. Функциональность измеряли по оценке экспрессии CD137 на Т-клетках как CD4 + , так и CD+, а также по уровням ИФН-γ и ФНО-α в супернатантах культуры, как описано в примере 14. В табл. 45 и табл. 46 представлена активность биспецифических антител PD-1/TIM-3 в данном анализе по разным показателям. Как показано в этой таблице, выбранные биспецифические молекулы приводили к значительным повышениям экспрессии CD137 на Т-клетках CD4+ и CD8+, а также секретируемых уровней ИФН-γ и ФНО-α. В целом, биспецифические антитела PD-1/TIM-3 с Fc huIgG2сигма имели самую высокую активность, за ними следовали антитела с huIgG2, а затем - с huIgG4.

Таблица 45

mAb		Статистическая значимость			
		CD4+CD137+		CD8+CD137+	
Изотип	Название	Среднее p-значение	Ст. откл.	Среднее p-значение	Ст. откл.
IgG2сигма	PTBB14	0,1144	0,1591	0,0002	0,0001
IgG2сигма	PTBB15	0,0467	0,0988	0,0001	0,0000
IgG2сигма	PTBB16	0,0017	0,0023	0,0001	0,0000
IgG2сигма	PTBB17	0,4148	0,5051	0,0001	0,0001
IgG2сигма	PTBB24	0,0031	0,0051	0,0001	0,0000
IgG2	PTBB27	0,0009	0,0011	0,0001	0,0000
IgG2	PTBB28	0,0003	0,0002	0,0001	0,0000
IgG4	PTBB18*	0,0353		0,0071	
IgG4	PTBB20	0,6025	0,1710	0,0004	0,0004
IgG4	PTBB21	0,1071	0,1372	0,0059	0,0081
* Показано одно p-значение					

Таблица 46

mAb		Статистическая значимость			
		ИФН-γ		ФНО-α	
Изотип	Название	Среднее p-значение	Ст. откл.	Среднее p-значение	Ст. откл.
IgG2сигма	PTBB14	0,0001	0,0000	0,0112	0,0157
IgG2сигма	PTBB15	0,0001	0,0000	0,0005	0,0008
IgG2сигма	PTBB16	0,0001	0,0000	0,0012	0,0016
IgG2сигма	PTBB17	0,0001	0,0000	0,0001	0,0000
IgG2сигма	PTBB24	0,0001	0,0001	0,0008	0,0008
IgG2	PTBB27	0,0026	0,0030	0,3406	0,4757

IgG2	PTBB28	0,0001	0,0000	0,1437	0,1229
IgG4	PTBB18	0,0001	#DIV/0!	0,0008	#DIV/0!
IgG4	PTBB20	0,0544	0,0768	0,1754	0,2140
IgG4	PTBB21	0,0174	0,0245	0,2685	0,1103
* Показано одно p-значение					

Пример 17. Антитела к PD-1 усиливают экспрессию TIM-3 в опухолях.

Влияние лечения антителом к PD-1 на экспрессию TIM-3 в опухолях оценивали на модели мышей с карциномой толстой кишки CT26 или MC38.

Мышам Balb/c подкожно имплантировали 1×106 опухолевых клеток карциномы толстой кишки CT26. Через семь дней после имплантации опухолевых клеток опухоли измеряли и мышей случайно распределяли по размеру опухоли. Обработка PBS или 10 мг/кг антител к PD-1 мыши (клон RMP1-14, BioXCell) начинали в день 7 после имплантации опухолевых клеток и повторяли с интервалом две недели остальное время исследования. Для анализа экспрессии TIM-3 на Т-клетках опухоли извлекали на день 22 и диссоциировали с помощью GentleMACS (компания Miltenyi). Окрашивание для проточной цитометрии проводили с Live/Dead и маркерами на CD3, CD4, CD8, TIM-3. Выполняли проточную цитометрию на LSR Fortessa (BD). Данные анализировали с помощью программного обеспечения Flow Jo.

Самкам мышей C57Bl/6 дикого типа подкожно имплантировали 5×105 клеток карциномы толстой кишки MC-38, суспендированных в PBS. Опухоли измеряли и мышей рандомизировали по размеру опухоли (50-100 мм3). Обработка PBS или 10 мг/кг антитела к PD-1 мыши (клон RMP1-14, BioXCell) начинали после рандомизации и повторяли два раза в неделю остальное время исследования. Для создания профиля инфильтрированных в опухоль Т-клеток опухоли собирали и диссоциировали с помощью GentleMACS (компания Miltenyi) через 12, 15, 19 или 22 дня после имплантации.

Окрашивание для проточной цитометрии проводили с Live/Dead и маркерами на CD45, Thy1, CD3, CD4, CD8, TIM-3, CD137, OX40, GITR, TIGIT. Данные проточной цитометрии собирали на LSR Fortessa (BD). Данные анализировали в программном обеспечении FlowJo (v9.9.4) и визуализировали в GraphPad Prism. Статистику формировали в GraphPad Prism.

Анализ экспрессии TIM-3 на Т-клетках CD8+, выделенных из опухолей CT26 на день 22, показал повышение экспрессии TIM-3 в пробах с обработкой PD-1 по сравнению с контролем с PBS. На фиг. 1A показана средняя интенсивность флуоресценции экспрессии TIM-3 в двух опытных группах.

Экспрессия TIM-3 также повышалась в опухолях MC-38 в пробах с обработкой mAb к PD-1 по сравнению с контролем с PBS. На фиг. 1B показана геометрическая средняя интенсивность флуоресценции экспрессии TIM-3 в популяции TIL CD8+. На фиг. 1C показано процентное значение (%) относительной частоты клеток TIM-3+ CD8+ из всех TIL CD8+.

Эти данные показывают, что TIM-3 усиливается в ответ на обработку антителом к PD-1, что подкрепляет обоснование для нацеливания на TIM-3 у субъектов, получавших обработку PD-1.

Экспрессию CD137, OX40 и GITR также анализировали на Т-клетках CD8+, инфильтрирующих опухоли MC38, выделенные у мышей после обработки антителами к PD-1 мыши. Эти результаты показали, что как частота, так и уровень (гСИФ) экспрессии костимуляторных рецепторов CD137, OX40 и GITR семейства ФНО повышался после блокады PD-1. На фиг. 2A и фиг. 2B показаны гСИФ и относительная частота экспрессии CD137 на TIL CD8 соответственно. На фиг. 3A и фиг. 3B показаны гСИФ и относительная частота экспрессии OX40 на TIL CD8 соответственно, а на фиг. 4A и фиг. 4B показаны гСИФ и относительная экспрессия GITR на TIL CD8 соответственно.

Эти данные подкрепляют обоснование для нацеливания на CD137, OX40 и/или GITR у субъектов, получавших обработку PD-1.

Пример 18. Активность антител к TIM-3 после блокады PD-1.

Также исследовали активность антител к TIM-3 после блокады антитела к PD-1 в анализе ЦМВ. В этих экспериментах PBMC от одного нормального донора (ЦМВ-серопозитивного) инкубировали с пулами пептидов pp65 и антителами к PD-1 в течение 5 дней. В день 5 супернатанты отбирали и клетки повторно стимулировали пулом пептидов pp65 в присутствии антитела либо к TIM-3, либо к PD-1. Уровни ИФН-γ в супернатанте измеряли через 24 часа. Обработка антителами к TIM-3 после 5 дней блокады антителом к PD-1 привела к значительному повышению уровней ИФН-γ. Этот эффект был значительным (p=0,0183) по сравнению с непрерывной обработкой антителом к PD-1. В этом эксперименте применяли антитело TM3B403 к TIM-3 и антитело PD1B244 к PD-1. На фиг. 5 показаны повышенные уровни ИФН-γ в анализе ЦМВ, где PBMC обрабатывали антителом TM3B105 к TIM-3 после 5 дней обработки антителом PD1B244 к PD-1. Значения представляют собой средние из шести биологических повторностей, применяемых для каждого условия.

Пример 19. Картирование эпитопов антител к TIM-3.

Для выявления связывающих эпитопов TMB403 и TMB291 выполняли обмен водорода/дейтерия в растворе с масс-спектрометрией (HDX-MS). Для этих экспериментов VH и VL TM3B403 и TM3B291 клонировали как Fab IgG1 с гексагистидиновой меткой на C-конце. Fab создавали в результате времен-

ных трансфекций клеток HEK293 Expi во флаконах со встряхиванием суспензии. Применяли химеру Fc TIM-3 IgG1, Ser22-Arg200 (поступление № Q8TDQ0), созданную в клеточной линии миеломы мыши (выведенной из NS0) от компании R&D Systems (№ 2365-TM по каталогу).

При обмене H/D процедуры, применяемые для анализа возмущения Fab, были аналогичны описанным ранее (Hamuro et al., Biomolecular Techniques 14: 171-182, 2003; Horn et al., Biochemistry 45: 8488-8498, 2006) с некоторыми модификациями. Вкратце, дегликозилированный гибридный белок TIM-3/Fc человека или смесь дегликозилированного TIM-3-Fc человека плюс Fab инкубировали с буфером, метящим оксидом дейтерия, при 0°C в течение разных значений времени до 2 часов. Обмен дейтерием гасили посредством добавления гидрохлорида гуанидина и гашеную пробу подвергали расщеплению пепсином в колонке и анализу ЖХ-МС. Масс-спектры регистрировали только в режиме МС. Для вычисления включения дейтерия масс-спектры для данного пептида комбинировали по выделенным ионной хроматографией пикам и рассчитывали средневзвешенные m/z. Увеличение массы от массы нативного пептида (0 мин) до средневзвешенной массы соответствует уровню включения дейтерия. Около 98,4% белка можно было картировать относительно конкретных пептидов.

Уровни дейтерия в выявленных пептидах отслеживали по сдвигу масс на ЖХ-МС. Были построены выбранные кривые накопления дейтерия, которые показывают значительную разницу в уровнях дейтерия и/или наклоне за время обмена. Дегликозилированный гибридный белок TIM-3/Fc человека показал значительное снижение захвата дейтерия после связывания с антителом TM3B403 в последовательностях 32WGKGACPVFECGNVVL47 (SEQ ID NO: 261) и после связывания с антителом TM3B291 в последовательностях 90RIQIPGIMNDEKF102 (SEQ ID NO: 262). Таким образом, эти области со значительным снижением захвата дейтерия после связывания Fab можно рассматривать как главные эпитопы mAb.

Сегмент 50DERDVNY56 (SEQ ID NO: 263) демонстрировал умеренное снижение обмена дейтерия после связывания с TM3B403 или TM3B291. Эту область можно также рассматривать как потенциальный эпитоп для обоих антител.

Основные связывающие эпитопы для TM3B403 или TM3B291 различаются, однако они могут иметь общую аналогичную область умеренной защиты, 50DERDVNY56, (SEQ ID NO: 263), на основании результатов картирования по HDX. Чтобы оценить, участвует ли эта область в общей связывающей области эпитопа в обеих молекулах Fab, выполняли конкурентный ИФА. Рекомбинантный белок TIM-3/Fc человека наносили непосредственно на планшеты, которые затем блокировали и промывали. Вносили смесь меченного рутением (Ru) Fab TM3B291, которую предварительно инкубировали с разными концентрациями не меченого TM3B105 или TM3B291. Планшеты инкубировали, промывали и вносили в каждую лунку буфер MSD Read Buffer T с последующим считыванием на приборе SECTOR Imager 6000 (компания Meso Scale Discovery, г. Гейтерсберг, штат Мэриленд, США).

Конкурентный анализ продемонстрировал, что TM3B403 конкурировало с TM3B291 за связывание с TIM-3. Этот результат может показывать, что умеренно защищенная область DERDVNY (SEQ ID NO: 263) является частью эпитопа в обоих антителах или что антитела могут стерически блокировать связывание друг друга вследствие тесной близости их эпитопов.

Пример 20. Блокада TIM-3 повышает экспрессию TIGIT на TIL CD8+.

Влияние обработки антителом к TIM-3 на экспрессию TIGIT в опухолях оценивали на модели мышей с карциномой толстой кишки CT26 или MC38. Исследования проводили так, как описано в примере 17, за исключением того, что применяли 10 мг/мл антитела RMT3-23 (компания Bioxcell) к TIM-3.

Экспрессия TIGIT на TIL CD8+ (фиг. 19A, фиг. 20A) и относительная частота TIL TIGIT+ (фиг. 19B, фиг. 20B) были повышены в моделях опухоли как CT26 (фиг. 19A, фиг. 19B), так и MC38 (фиг. 20A, фиг. 20B) после блокирования TIM-3.

Пример 21. Экспрессия TIM-3 повышается после блокады PD-1 ex vivo в PBMC от пациента с меланомой.

PBMC от ранее не получавших лечения пациентов с меланомой стимулировали пептидными пулами антигенов меланомы (NY-ESO, gp100, MART-1) в присутствии блокирующих функцию антител к PD-1 или к TIM-3. Экспрессию TIM-3 оценивали на повторно стимулированных пептидами клетках на день 6. Результаты показали значительное повышение частоты Т-клеток TIM-3+ CD8+ в пробах PBMC, обработанных антителом к PD-1, по сравнению с контрольными или обработанными антителами к TIM-3 (фиг. 21).

В день 0 замороженные PBMC от ранее не получавших лечения пациентов с меланомой быстро оттаивали на водяной бане при 37°C. Клетки оттаивали, промывали и подсчитывали в полной среде RPMI (RPMI+10% FBS+1% пируват натрия+1% NEAA+1% пенициллин/стрептомицин). Клетки вносили в планшеты на 96 лунок с U-образным дном, по 200000 клеток на лунку, в присутствии или в отсутствие блокирующих функцию антител к PD-1 или к TIM-3 (PD1B244 и TM3B403 соответственно) и с 1 мкг/мл пептидных пулов антигенов меланомы (NY-ESO, gp100, MART-1) в течение 6 дней при 37°C. Клетки повторно стимулировали пептидным пулом на день 6 и анализировали проточной цитометрией на экспрессию PD-1 и TIM-3, а также на маркеры активации и пролиферации Т-клеток.

Пример 22. Антитела к TIM-3 повышают частоту активированных NK-клеток в PBMC, стимулированных IL-2.

Влияния антитела TM3B403 к TIM-3 на частоту активированных NK-клеток определяли в анализах, где PBMC человека стимулировали IL-2 (20U). Частоту CD69 и CD25, маркеров активации NK-клеток, оценивали проточной цитометрией через 48 часов после обработки при диапазоне концентраций mAb. TM3B403 повышало частоту активированных NK-клеток, когда активацию оценивали по процентной доле CD69-положительных клеток (фиг. 22A) или по процентной доле CD25-положительных клеток (фиг. 22B).

Перечень последовательностей

```
<110>  DeAngelis, Nikki A
       Powers, Gordon
       Sabins, Nina Chi
       Santulli-Marotto, Sandra
       Verona, Raluca
       Wiehagen, Karla R

<120>  Антитела, специфически связывающие PD-1, и их применение

<130>  JBI5071WOPCT

<140>  Переуступка прав
<141>  2016-11-01

<150>  62/250,095
<151>  2015-11-03

<160>  312

<170>  PatentIn, версия 3.5

<210>  1
<211>  268
<212>  PRT
<213>  Homo sapiens

<400>  1

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
1               5                   10                  15


Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
            20                  25                  30


Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
        35                  40                  45


Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
    50                  55                  60


Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu
65                  70                  75                  80


Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
                85                  90                  95
```

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala
165 170 175

Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp
180 185 190

Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
195 200 205

Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu
210 215 220

Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser
225 230 235 240

Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro
245 250 255

Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
260 265

<210> 2
<211> 149
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr
1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
    50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu
65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
                85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
            100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
        115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
    130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu
145

<210> 3
<211> 268
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 3

Pro Gly Trp Phe Leu Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Ala Pro Thr
1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
            20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Ala Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
        35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
    50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Arg Leu
65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
                85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
            100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
130 135 140

Gln Phe Gln Ala Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser
145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala
165 170 175

Gln Gly Thr Ile Glu Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp
180 185 190

Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
195 200 205

Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Ala Pro Cys Val Pro Glu
210 215 220

Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Leu Gly Thr Ser
225 230 235 240

Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Pro Arg Pro
245 250 255

Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
260 265

<210> 4
<211> 149
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 4

Pro Gly Trp Phe Leu Glu Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Ala Pro Thr
1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Leu Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe
20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Ala Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr
35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu
50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Arg Leu
65 70 75 80

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
130 135 140

Gln Phe Gln Ala Leu
145

<210> 5
<211> 220
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser
1 5 10 15

Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu
20 25 30

Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln
35 40 45

Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg
50 55 60

Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala
65 70 75 80

Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys
85 90 95

Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val
100 105 110

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro
115 120 125

Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys
130 135 140

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys
145 150 155 160

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr
165 170 175

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr
180 185 190

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile
195 200 205

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg
210 215 220

<210> 6
<211> 221
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser
1 5 10 15

Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu
20 25 30

Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln
35 40 45

Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg
50 55 60

Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala
65 70 75 80

Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys
85 90 95

Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val
100 105 110

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro
115 120 125

Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys
130 135 140

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys
145 150 155 160

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr
165 170 175

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr
180 185 190

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile
195 200 205

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr
210 215 220

<210> 7
<211> 222
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 7

Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly
1 5 10 15

Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp
20 25 30

Leu Thr Ser Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile
35 40 45

Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Asn Tyr
50 55 60

Arg Gln Arg Ala Gln Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala
65 70 75 80

Ala Leu Arg Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg
85 90 95

Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys
100 105 110

Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp
115 120 125

Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro
130 135 140

Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly
145 150 155 160

Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Leu Asn Val
165 170 175

Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Ala Asn Glu Ile Phe Tyr Cys
180 185 190

Ile Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val
195 200 205

Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala Leu Pro Pro Asn Glu Arg Thr
210 215 220

<210> 8
<211> 201
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile Glu His Gly
1 5 10 15

Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser His Val Asn
20 25 30

Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn Asp Thr Ser
35 40 45

Pro His Arg Glu Arg Ala Thr Leu Leu Glu Glu Gln Leu Pro Leu Gly
50 55 60

Lys Ala Ser Phe His Ile Pro Gln Val Gln Val Arg Asp Glu Gly Gln
65 70 75 80

Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr Lys Tyr Leu
85 90 95

Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr His Ile Leu
100 105 110

Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln Ala Thr Gly
115 120 125

Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val Pro Ala Asn
130 135 140

Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val Thr Ser Val
145 150 155 160

Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys Val Phe Trp
165 170 175

Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp Leu Gln Ser
180 185 190

Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr
195 200

<210> 9
<211> 143
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 9

Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala
1 5 10 15

Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu
20 25 30

Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro
35 40 45

Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln
50 55 60

Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His
65 70 75 80

Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile
85 90 95

Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu
100 105 110

Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser
115 120 125

Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln
130 135 140

<210> 10
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к PD-1

<400> 10

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к PD-1

<400> 11

Asp Tyr Val Ile Ser
1 5

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к PD-1

<400> 12

Ser Tyr Val Ile His
1 5

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к PD-1

<400> 13

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 14
<211> 17
<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к PD-1

<400> 14

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к PD-1

<400> 15

Gly Ile Ile Pro Ile Tyr Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 16
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к PD-1

<400> 16

Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 17
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к PD-1

<400> 17

Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 18
<211> 11

<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к PD-1

<400> 18

Gly Thr Leu Asp Arg Thr Gly His Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к PD-1

<400> 19

Gly Tyr Val Arg Ala Thr Gly Met Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к PD-1

<400> 20

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 21
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к PD-1

<400> 21

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к PD-1

<400> 22

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к PD-1

<400> 23

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 24
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к PD-1

<400> 24

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к PD-1

<400> 25

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к PD-1

<400> 26

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 27
<211> 7

<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к PD-1

<400> 27

Asp Ala Ser Asp Arg Ala Thr
1 5

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к PD-1

<400> 28

Asp Ala Ser Tyr Arg Ala Thr
1 5

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к PD-1

<400> 29

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к PD-1

<400> 30

Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 31

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 32
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 32

Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 33

Gln Gln Arg Gly Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 34

Gln Gln Arg Glu Tyr Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 35

Gln Gln Arg Asp Tyr Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 36
<211> 9

<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 36

Gln Gln Arg Gly Tyr Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 37

Gln Gln Arg Trp Asn Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 38

Gln Gln Arg Ala Tyr Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 39
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 39

Gln Gln Arg Ala Glu Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD-1

<400> 40

Gln Gln Arg Ser Ala Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 41
<211> 123
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H24

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 123
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H131

<400> 42

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 43
<211> 123
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H3

<400> 43

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 44
<211> 120
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H108

<400> 44

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1   5   10   15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35   40   45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50   55   60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95

Ala Arg Gly Thr Leu Asp Arg Thr Gly His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 45
<211> 120
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H164

<400> 45

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1   5   10   15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
            20   25   30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Tyr Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Leu Asp Arg Thr Gly His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 46
<211> 120
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H107

<400> 46

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Val Arg Ala Thr Gly Met Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 47
<211> 120
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H163

<400> 47

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Lys Ser Tyr
20 25 30

Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Val Arg Ala Thr Gly Met Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 48
<211> 123
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H170

<400> 48

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 49
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PH9L3

<400> 49

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L128

<400> 50

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 51
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L101

<400> 51

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Asp Ala Ser Asp Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 52
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L67

<400> 52

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Glu Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 53
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L71

<400> 53

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asp Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 54
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L109

<400> 54

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 55
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L132

<400> 55

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asp Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Trp Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 56
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L148

<400> 56

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 57
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L133

<400> 57

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 58
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L185

<400> 58

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ala Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 59
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L187

<400> 59

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Glu Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ala Glu Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L86

<400> 60

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

His Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 61
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L168

<400> 61

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ala Trp Pro Leu
                85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100 105

<210> 62
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L190

<400> 62

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr
            20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
                85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100 105

<210> 63
<211> 117
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H130

<400> 63

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Ile Arg Leu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Leu Asp Asn Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Tyr Leu Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 64
<211> 117
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1H129

<400> 64

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Leu Asp Asn Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Tyr Leu Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 65
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PD1L62

<400> 65

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Asp Tyr
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Ser Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 66
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к PD1

<400> 66

Arg Tyr Asp Met Ser
1 5

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к PD1

<400> 67

Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Leu Asp Asn Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 68
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к PD1

<400> 68

Pro Tyr Leu Ser Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к PD1

<400> 69

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Asp Tyr Leu His
1 5 10

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к PD1

<400> 70

Ser Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 71
<211> 9

<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к PD1

<400> 71

Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 72
<211> 450
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B244

<400> 72

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 73
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B244

<400> 73

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 74
<211> 444
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B243

<400> 74

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Leu Asp Asn Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Tyr Leu Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu

405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 75
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B243

<400> 75

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Asp Tyr
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Ser Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 76
<211> 447
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B245

<400> 76

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Tyr Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Thr Leu Asp Arg Thr Gly His Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 77
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B245

<400> 77

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

His Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 78
<211> 443
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Тяжелая цепь антитела TIM3

<400> 78

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
180 185 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 79
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Легкая цепь антитела TIM-3

<400> 79

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Asp Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gly His Ala Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 80
<211> 450
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Тяжелая цепь антитела TIM-3

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr

165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
210 215 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala
225 230 235 240

Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 81
<211> 213
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Легкая цепь антитела TIM-3

<400> 81

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Phe
20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser

165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 82
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род HCDR1 PD-1

<220>
<221> 1MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa может представлять собой Ser или Asp

<220>
<221> 1MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa может представлять собой Val или Ala

<220>
<221> 1MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa может представлять собой His или Ser

<400> 82

Xaa Tyr Xaa Ile Xaa
1 5

<210> 83
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род HCDR2 PD-1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa может представлять собой Tyr или Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa может представлять собой Gly или Asp

<400> 83

Gly Ile Ile Pro Ile Xaa Xaa Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 84
<211> 14
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род 1 HCDR3 PD-1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> Xaa представляет собой Asn или Ser

<400> 84

Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Xaa Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 85
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род 2 HCDR3 PD-1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa представляет собой Thr или Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa представляет собой Leu или Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa представляет собой Asp или Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa представляет собой Arg или Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)

<223> Xaa представляет собой His или Met

<400> 85

Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Gly Xaa Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род LCDR1 PD-1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa представляет собой Ser, Arg или Asp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa представляет собой Ser или Asn

<400> 86

Arg Ala Ser Gln Ser Val Xaa Xaa Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род LCDR2 PD-1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa представляет собой Asn, Asp, Tyr, Ser или Thr

<400> 87

Asp Ala Ser Xaa Arg Ala Thr
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род LCDR3 PD-1

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa представляет собой Ser, Asn, Gly, Glu, Asp, Trp или Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa представляет собой Asn, Tyr, Glu или Ala

<400> 88

Gln Gln Arg Xaa Xaa Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 89
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 89

Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
65 70 75 80

Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
100 105 110

Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
130 135 140

Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
145 150 155 160

Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala

165 170 175

Thr Ile Arg

<210> 90
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 90

Asn Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 91
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 91

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 92
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 92

Gly Tyr Trp Met His
1 5

<210> 93
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 93

Asp Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 94
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 94

Ser Tyr Val Met Tyr
1 5

<210> 95
<211> 6
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 95

Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5

<210> 96
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 96

Asp Thr Tyr Leu His
1 5

<210> 97
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 97

Ser Tyr Trp Met Gln
1 5

<210> 98
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR1 антитела к TIM-3

<400> 98

Ser Tyr Gly Val His
1 5

<210> 99
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 99

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 100
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 100

Ala Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 101
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 101

Val Ile Lys Tyr Ser Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 102
<211> 17

<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 102

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 103
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 103

Tyr Ile Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 104
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 104

Arg Ile Asp Pro Thr Asn Gly Asn Ile Lys Tyr Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 105
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 105

Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 106
<211> 16
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 106

Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR2 антитела к TIM-3

<400> 107

Asp His Trp Asp Pro Asn Phe Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 108
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 108

Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr
1 5

<210> 109
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 109

Asn Glu Glu Pro Asp Asp Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 110
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 110

Gly Thr Asn Trp Leu Asp Tyr
1 5

<210> 111
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 111

Glu Leu Glu Gly Val Phe Asp Tyr
1 5

<210> 112
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 112

Asp Asp Tyr Asp Val Ala Pro Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 113
<211> 6
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 113

Gly Gly Asn Phe Asp Tyr
1 5

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 114

Pro Tyr Tyr Gly Phe Phe Asp Tyr

1 5

<210> 115
<211> 15
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 115

Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 116
<211> 12
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HCDR3 антитела к TIM-3

<400> 116

Gln Ala Asn Tyr Arg Tyr Asp Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 117
<211> 12
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 117

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 118
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 118

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Asp Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 119
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 119

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ala Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 120
<211> 12
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 120

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser Thr Leu Ala
1 5 10

<210> 121
<211> 15
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 121

Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Ser Tyr Gly Asn Ser Tyr Ile His
1 5 10 15

<210> 122
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 122

Gln Ala Thr Gln Asp Ile Val Lys Asn Leu Asn
1 5 10

<210> 123
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 123

Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 124
<211> 11
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 124

Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Phe Val Ser
1 5 10

<210> 125
<211> 15
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR1 антитела к TIM-3

<400> 125

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 126
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 126

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 127
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 127

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 128
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 128

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 129
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 129

Thr Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 130
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 130

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 131
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 131

Tyr Val Thr Glu Leu Ala Glu
1 5

<210> 132
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 132

Ser Ala Thr Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 133
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 133

Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr
1 5

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR2 антитела к TIM-3

<400> 134

Thr Ala Ala Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 135

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 136

Gln Gln Gly Gly His Ala Pro Ile Thr
1 5

<210> 137
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 137

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 138
<211> 280
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 138

Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro
1 5 10 15

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
65 70 75 80

Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
100 105 110

Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
130 135 140

Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
145 150 155 160

Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala
165 170 175

Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Gly Leu
180 185 190

Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe Lys Trp Tyr Ser His
195 200 205

Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile Ser Leu Ala Asn Leu
210 215 220

Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu Gly Ile Arg Ser Glu
225 230 235 240

Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr Glu Val Glu Glu Pro
245 250 255

Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln Gln Pro Ser Gln Pro
260 265 270

Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro
275 280

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 139

Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 140

Gln Gln Asn Asn Glu Asp Pro Phe Thr
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 141

Leu Gln Phe Tyr Glu Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 142
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 142

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 143
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 143

Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 144
<211> 8
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LCDR3 антитела к TIM-3

<400> 144

Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr
1 5

<210> 145
<211> 119
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H21

<400> 145

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp His Trp Asp Pro Asn Phe Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 146
<211> 117
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H24

<400> 146

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 147
<211> 116
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H30

<400> 147

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Thr Asn Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 148
<211> 119
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H31

<400> 148

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asn Glu Glu Pro Asp Asp Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 149
<211> 117
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H65

<400> 149

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Val Ile Lys Tyr Ser Gly Gly Ser Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Glu Leu Glu Gly Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 150
<211> 119
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H141

<400> 150

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Leu Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met Tyr Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Asp Asp Tyr Asp Val Ala Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 151
<211> 115
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H96

<400> 151

Asp Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu Trp
35 40 45

Met Gly Tyr Ile Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ser Gly Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 152
<211> 117
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H99

<400> 152

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe His Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Thr Asn Gly Asn Ile Lys Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ser Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Tyr Tyr Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 153
<211> 130
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H144

<400> 153

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Cys Arg Arg Glu
115 120 125

Cys Thr
130

<210> 154
<211> 120
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H102

<400> 154

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Ile Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Val Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Thr Thr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gln Ala Asn Tyr Arg Tyr Asp Ser Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 155
<211> 108
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PH9L1

<400> 155

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 156
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L33

<400> 156

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Asp Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gly His Ala Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 157
<211> 113
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> PYYL6

<400> 157

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Ala Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 158
<211> 108
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L12

<400> 158

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser
20 25 30

Thr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Thr Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Thr Ser Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 159
<211> 111
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L61

<400> 159

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Leu Asp Ser Tyr
20 25 30

Gly Asn Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Lys Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Asp Asp Pro Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 160
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L62

<400> 160

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Gln Ala Thr Gln Asp Ile Val Lys Asn
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Ser Phe Leu Ile
35 40 45

His Tyr Val Thr Glu Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Phe Tyr Glu Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L52

<400> 161

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 162
<211> 105
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L67

<400> 162

Asp Val Gln Met Ile Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Phe
20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met
100 105

<210> 163
<211> 111
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L64

<400> 163

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ala Asn Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 164
<211> 5
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род HCDR1 TIM-3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa представляет собой Asn, Ser, Gly или Asp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa представляет собой Trp или Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa представляет собой Ser или His

<400> 164

Xaa Tyr Xaa Met Xaa
1 5

<210> 165
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род HCDR2 TIM-3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa представляет собой Ala или Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa представляет собой Ser или Lys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa представляет собой Gly или Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa представляет собой Thr или Lys

<400> 165

Xaa Ile Xaa Xaa Ser Gly Gly Ser Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 166
<211> 10
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род HCDR3 TIM-3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa представляет собой Asp, Ser, Asn, Gly или Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa представляет собой His, Pro, Glu, Thr или Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa представляет собой Trp, Glu, Asn или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa представляет собой Asp, Pro или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa представляет собой Pro, Tyr, Asp или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa представляет собой Asn, Ala, Asp, Gly или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa представляет собой Phe, Pro, Arg, Trp или Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa представляет собой Leu или Phe

<400> 166

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
1 5 10

<210> 167
<211> 17
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род LCDR1 TIM-3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa представляет собой Arg или Lys

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa представляет собой Ala или Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa представляет собой Ser, Asn или Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa представляет собой Ser, Ala, Asn или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa представляет собой Ser или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> Xaa представляет собой Ser или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (11)..(11)
<223> Xaa представляет собой Asn или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa представляет собой Asn или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa представляет собой Lys или удален

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa представляет собой Ser, Asn или Asp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> Xaa представляет собой Tyr или Thr

<400> 167

Xaa Xaa Ser Gln Ser Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 168
<211> 7
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род LCDR2 TIM-3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa представляет собой Gly, Asp, Trp или Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa представляет собой Ser, Asn или Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa представляет собой Ala или Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa представляет собой Thr или Ser

<400> 168

Xaa Ala Ser Xaa Arg Xaa Xaa
1 5

<210> 169
<211> 9
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Род LCDR3 TIM-3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa представляет собой Tyr, Gly или Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)

<223> Xaa представляет собой Gly или Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa представляет собой Ser, His или Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa представляет собой Ser, Ala или Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> Xaa представляет собой Leu, Ile или Trp

<400> 169

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5

<210> 170
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 170

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 171
<211> 95
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 171

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro
85 90 95

<210> 172
<211> 124
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3H162

<400> 172

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 173
<211> 106
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> TM3L85

<400> 173

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Phe
20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 174
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 174

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys

<210> 175
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 175

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ser Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Val Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 176
<211> 99
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 176

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg

<210> 177
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 177

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 178
<211> 100
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 178

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala
20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile
100

<210> 179
<211> 98
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 179

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg

<210> 180
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 180

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

<210> 181
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 181

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

<210> 182
<211> 96
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 182

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ile
85 90 95

<210> 183
<211> 95
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 183

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
85 90 95

<210> 184

<211> 127
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH mAb, связывающего gp120

<400> 184

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Gln Ala Ser Gly Tyr Arg Phe Ser Asn Phe
20 25 30

Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Phe Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Tyr Asn Gly Asn Lys Glu Phe Ser Ala Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ala Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Gly Pro Tyr Ser Trp Asp Asp Ser Pro Gln Asp Asn Tyr
100 105 110

Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Ile Val Ser Ser
115 120 125

<210> 185
<211> 108
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VL mAb, связывающего gp120

<400> 185

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Phe Ser Cys Arg Ser Ser His Ser Ile Arg Ser Arg
20 25 30

Arg Val Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val
35 40 45

Ile His Gly Val Ser Asn Arg Ala Ser Gly Ile Ser Asp Arg Phe Ser
    50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Arg Val Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Val Tyr Gly Ala Ser Ser
                85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Arg Lys
            100 105

<210> 186
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC1 биспецифического mAb

<400> 186

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
            100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 187
<211> 443
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC1 биспецифического mAb

<400> 187

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Leu Asp Asn Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Tyr Leu Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Thr Ser Ser Asn
180 185 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 188
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC1 биспецифического mAb

<400> 188

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 189
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC1 биспецифического mAb

<400> 189

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Asp Tyr
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Ser Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 190
<211> 450
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 190

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
210 215 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala
225 230 235 240

Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 191
<211> 443
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 191

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Thr Ser Ser Asn
180 185 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 192
<211> 450
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 192

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
210 215 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala
225 230 235 240

Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 193
<211> 213
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC2 биспецифического mAb

<400> 193

Asp Val Gln Met Ile Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Phe
20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Ala Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Met Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 194
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC2 биспецифического mAb

<400> 194

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Asp Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gly His Ala Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 195
<211> 213
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC2 биспецифического mAb

<400> 195

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Phe
20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 196
<211> 369
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1H170

<400> 196
caggtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg 60

agctgcaaag cgagcggcgg cacctttagc agctatgcga ttagctgggt gcgccaggcg 120

ccgggccagg gcctggaatg gatgggcggc attattccga tttttgacac cgcgaactat 180

gcgcagaaat ttcagggccg cgtgaccatt accgcggatg aaagcaccag caccgcgtat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgccctggt 300

ctcgctgcgg cttatgatac tggttccttg gactattggg gccagggcac cctggtgacc 360

gtgagcagc 369

<210> 197
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1L148

<400> 197
gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgttcgc tcctacctgg cgtggtatca gcagaaaccg 120

ggccaggcgc cgcgcctgct gatctacgac gcgagcaatc gtgcgaccgg cattccggcg 180

cgctttagcg gctccggtag cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctggaaccg 240

gaagattttg cggtgtatta ttgccagcaa cgtaattatt ggccgctgac ctttggccag 300

ggcaccaaag tggaaattaa a 321

<210> 198
<211> 351
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1H129

<400> 198
gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

agctgtgccg ccagcggctt cgccttcagc agatacgaca tgagctgggt gcgccaggcc 120

cctggcaaag gactggaaag cgtggcctac atctctggcg gaggcgccaa cacctactac 180

ctggacaacg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acgccaagaa cagcctgtac 240

ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actattgcgc ctccccctac 300

ctgagctact tcgacgtgtg gggccagggc acactcgtga ccgtgtcatc t 351

<210> 199
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1L62

<400> 199
gagatcgtga tgacccagag ccctgccacc ctgtccgtgt ctccaggcga aagagccacc 60

ctgagctgca gagccagcca gagcctgagc gactacctgc actggtatca gcagaagccc 120

ggccaggccc ccagactgct gatcaagtct gccagccagt ccatcagcgg catccccgcc 180

agattttctg gcagcggctc cggcaccgag ttcaccctga caatcagcag cctgcagagc 240

gaggacttcg ccgtgtacta ctgccagaac ggccacagct tcccttacac cttcggccag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa g 321

<210> 200
<211> 360
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1H163

<400> 200
caggtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg 60

agctgcaaag cgagcggcgg caccttcaag tcctatgtga ttcattgggt gcgccaggcg 120

ccgggccagg gcctggaatg gatgggcggt attatcccaa tttttggcac cgccaattat 180

gcgcagaaat ttcagggccg cgtgaccatt accgctgatg aaagcaccag caccgcgtat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcggttat 300

gtgcgggcta cgggcatgtt ggactattgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360

<210> 201
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1L185

<400> 201
gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgttagc aattatctgg cgtggtatca gcagaaaccg 120

ggccaggcgc cgcgcctgct gatctacgac gccagcaatc gcgcgaccgg cattccggcg 180

cgctttagcg gctccggtag cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctggaaccg 240

gaagattttg cggtgtatta ttgccagcaa cgtgcatatt ggccgctgac ctttggccag 300

ggcaccaaag tggaaattaa a 321

<210> 202
<211> 360
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1H164

<400> 202
caggtgcagc tggtgcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcagcag cgtgaaagtg 60

agctgcaaag cgagcggcgg caccttcagc gattatgtga tttcctgggt gcgccaggcg 120

ccgggccagg gcctggaatg gatgggcggt attatcccga tttacgggac cgctaactat 180

gcgcagaaat ttcagggccg cgtgaccatt accgctgatg aaagcaccag caccgcgtat 240

atggaactga gcagcctgcg cagcgaagat accgcggtgt attattgcgc gcgcggtacc 300

ctcgaccgga ccgggcattt ggactattgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360

<210> 203
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PD1L86

<400> 203
gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgtctcc tcctaccttg cgtggtatca gcagaaaccg 120

ggccaggcgc cgcgcctgct gatccacgac gcctctacgc gtgcgaccgg cattccggcg 180

cgctttagcg gctccggtag cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctggaaccg 240

gaagattttg cggtgtatta ttgccagcaa cgtaattatt ggccgctcac ctttggccag 300

ggcaccaaag tggaaattaa a 321

<210> 204
<211> 351
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК TM3H24

<400> 204
gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgcgg caagcggctt tacctttagc agctatgcga tgagctgggt gcgccaggcg 120

ccgggcaaag gcctggaatg ggtgagcgcg attagcggca gcggcggcag cacctattat 180

gcggatagcg tgaaaggccg ctttaccatt agccgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat accgcggtgt attattgcgc gaaatccccg 300

tacgcgccct tggactattg gggccagggc accctggtga ccgtgagcag c 351

<210> 205
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК TM3L33

<400> 205
gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

cttagctgcc gtgcaagtca gagtgtgaac gactacctgg cgtggtatca gcagaaaccg 120

ggccaggcgc cgcgcctgct gatttatgat gcgagcaacc gcgcgaccgg cattccggcg 180

cgctttagcg gcagcggcag cggcaccgat tttaccctga ccattagcag cctggaaccg 240

gaagattttg cggtgtatta ttgccagcag ggtggtcacg cgccgatcac ctttggccag 300

ggcaccaaag tggaaattaa a 321

<210> 206
<211> 372
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК TM3H162

<400> 206
gaagtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaagc ctggcgagag cctgaagatc 60

agctgcaagg gcagcggcta cagcttcacc agctactgga tgcagtgggt gcgccagatg 120

cctggcaagg gcctggaatg gatgggcgcc atctatcccg gcgacggcga catcagatac 180

acccagaact tcaagggcca agtgaccatc agcgccgaca agagcatcag caccgcctac 240

ctgcagtggt ccagcctgaa ggccagcgac accgccatgt actactgtgc cagatgggag 300

aagtccacca ccgtggtgca gcggaactac ttcgactact ggggccaggg caccacagtg 360

accgtgtcta gt 372

<210> 207
<211> 318
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК TM3L85

<400> 207
gacatccaga tgacccagag ccccagcagc ctgtctgcca gcgtgggcga cagagtgacc 60

atcacatgca aggccagcga gaacgtgggc accttcgtgt cctggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacggc gccagcaaca gatacaccgg cgtgcccagc 180

agattcagcg gctctggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatctctag cctgcagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgcggccag agctacagct accccacctt tggccagggc 300

accaagctgg aaatcaag 318

<210> 208
<211> 357
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК TM3H21

<400> 208
gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgcgg cgagcggctt tacctttagc aactattgga tgagctgggt gcgccaggcg 120

ccgggcaaag gcctggaatg ggtgagcgcg attagcggca gcggcggcag cacctattat 180

gcggatagcg tgaaaggccg ctttaccatt agccgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat accgcggtgt attattgcgc gaaagatcat 300

tgggatccca atttttgga ctattggggc cagggcaccc tggtgaccgt gagcagc 357

<210> 209
<211> 324

<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК PH9L1

<400> 209
gaaattgtgc tgacccagag cccgggcacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgtgagc agcagctatc tggcgtggta tcagcagaaa 120

ccgggccagg cgccgcgcct gctgatttat ggcgcgagca gccgcgcgac cggcattccg 180

gatcgcttta gcggcagcgg cagcggcacc gattttaccc tgaccattag ccgcctggaa 240

ccggaagatt ttgcggtgta ttattgccag cagtatggca gcagcccgct gacctttggc 300

cagggcacca aagtggaaat taaa 324

<210> 210
<211> 351
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК TM3H65

<400> 210
gaagtgcagc tgctggaaag cggcggcggc ctggtgcagc cgggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgcgg cgagcggctt tacctttagc gactattgga tgagctgggt gcgccaggcg 120

ccgggcaaag gcctggaatg ggtgagcgtg atcaagtata gcggtggctc caaatattat 180

gcggatagcg tgaaaggccg ctttaccatt agccgcgata acagcaaaaa caccctgtat 240

ctgcagatga acagcctgcg cgcggaagat accgcggtgt attattgcgc gaaagagctg 300

gagggggtgt tcgactattg gggccagggc accctggtga ccgtgagcag c 351

<210> 211
<211> 324
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК TM3L12

<400> 211
gaaattgtgc tgacccagag cccgggcacc ctgagcctga gcccgggcga acgcgcgacc 60

ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgttagc aatagcactc tggcgtggta tcagcagaaa 120

ccgggccagg cgccgcgcct gctgatttat actgcgagca gccgcgcgac cggcattccg 180

gatcgcttta gcggcagcgg cagcggcacc gattttaccc tgaccattag ccgcctggaa 240

ccggaagatt ttgcggtgta ttattgccag cagtcttaca catctccgtg gacttttggc 300

cagggcacca aagtggaaat taaa 324

<210> 212
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B114

<400> 212

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 213
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B114

<400> 213

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210

<210> 214
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B149

<400> 214

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1   5   10   15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35   40   45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50   55   60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85   90   95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
            100   105   110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
        115   120   125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
    130   135   140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145   150   155   160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
                165   170   175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
            180   185   190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val

195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 215
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B149

<400> 215

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 216
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B160

<400> 216

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

Lys

<210> 217
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B160

<400> 217

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Asp Ala Ser Asp Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 218
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B162

<400> 218

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 219
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B162

<400> 219

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Glu Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 220
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B164

<400> 220

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Asn Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 221
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B164

<400> 221

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Tyr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asp Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 222
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B183

<400> 222

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 223
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B183

<400> 223

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Gly Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 224
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B184

<400> 224

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 225
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B184

<400> 225

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 226
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B185

<400> 226

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 227
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC PD1B185

<400> 227

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asp Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Trp Asn Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210

<210> 228
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC PD1B192

<400> 228

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435 440 445

Lys

<210> 229
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC or PD1B192

<400> 229

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Ser Tyr
            20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
        35 40 45

His Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
    50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Tyr Trp Pro Leu
                85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 230
<211> 120
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH Keytruda

<400> 230

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 231
<211> 111
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VL Keytruda

<400> 231

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 232
<211> 113
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH ниволумаба

<400> 232

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 233
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VL ниволумаба

<400> 233

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 234

<211> 121
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH дурвалумаба

<400> 234

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 235
<211> 108
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VL дурвалумаба

<400> 235

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Pro
                85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100 105

<210> 236
<211> 118
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH атезолизумаба

<400> 236

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
            20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35 40 45

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85 90 95

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
        115

<210> 237
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VL атезолизумаба

<400> 237

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Leu Tyr His Pro Ala
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 238
<211> 120
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH авелумаба

<400> 238

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 239
<211> 110
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VL авелумаба

<400> 239

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Arg Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 240
<211> 443
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Тяжелая цепь TM3B105

<400> 240

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Thr Ser Ser Asn
180 185 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 241
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC1 биспецифического mAb

<400> 241

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys
210 215 220

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 242
<211> 444
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC1 биспецифического mAb

<400> 242

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Ser Val
35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Leu Asp Asn Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Pro Tyr Leu Ser Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 243
<211> 450
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC1 биспецифического mAb

<400> 243

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Asp Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Pro Gly Leu Ala Ala Ala Tyr Asp Thr Gly Ser Leu Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser
130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 244
<211> 450
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 244

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg
210 215 220

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 245
<211> 443
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 245

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
180 185 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 246
<211> 444
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 246

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 247
<211> 451
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 247

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Ile Arg Tyr Thr Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Glu Lys Ser Thr Thr Val Val Gln Arg Asn Tyr Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Gly Lys
450

<210> 248
<211> 443
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 биспецифического mAb

<400> 248

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Ser Pro Tyr Ala Pro Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn
180 185 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Ala Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 249
<211> 455
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC1 mAb EM1

<400> 249

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Asp Asp Gly Ser Tyr Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Ile Thr Met Val Arg Gly Val Met Lys Asp Tyr Phe
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
195 200 205

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
210 215 220

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
290 295 300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 250
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC1 mAb EM1

<400> 250

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Glu Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 251
<211> 449
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> HC2 mAb EM1

<400> 251

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Glu Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Arg Gly Thr Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 252
<211> 214
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> LC2 mAb EM1

<400> 252

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 253
<211> 1807
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК HC1 PTBB28

<400> 253
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg 240

cccaaagtat acaggcccag gtgcagctgg tgcagagcgg cgcggaagtg aaaaaaccgg 300

gcagcagcgt gaaagtgagc tgcaaagcga gcggcggcac ctttagcagc tatgcgatta 360

gctgggtgcg ccaggcgccg ggccagggcc tggaatggat gggcggcatt attccgattt 420

ttgacaccgc gaactatgcg cagaaatttc agggccgcgt gaccattacc gcggatgaaa 480

gcaccagcac cgcgtatatg gaactgagca gcctgcgcag cgaagatacc gcggtgtatt 540

attgcgcgcg ccctggtctc gctgcggctt atgatactgg ttccttggac tattggggcc 600

agggcaccct ggtgaccgtg agcagcgcct ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg 660

cgccctgctc caggagcacc tccgagagca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact 720

acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca 780

ccttcccagc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc 840

cctccagcaa cttcggcacc cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca 900

ccaaggtgga caagacagtt gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac 960

cacctgtggc aggaccgtca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga 1020

tctcccggac ccctgaggtc acgtgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccccgagg 1080

tccagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg 1140

aggagcagtt caacagcacg ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttgtg caccaggact 1200

ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa aggcctccca gcccccatcg 1260

agaaaaccat ctccaaaacc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc 1320

catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct 1380

accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga 1440

ccacacctcc catgctggac tccgacggct ccttcctgct ctacagcaag ctcaccgtgg 1500

acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc 1560

acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatgatag ttcgaattca 1620

ttgatcataa tcagccatac cacatttgta gaggttttac ttgctttaaa aaacctccca 1680

cacctccccc tgaacctgaa acataaaatg aatgcaattg ttgttgttaa cttgtttatt 1740

gcagcttata atggttacaa ataaagcaat agcatcacaa atttcacaaa taaagcattt 1800

ttttcac 1807

<210> 254
<211> 1105
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК LC1 PTBB28

<400> 254
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggagacac attctcaggt ctttgtatac atgttgctgt 240

ggttgtctgg tgtcgaggga gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga 300

gcccgggcga acgcgcgacc ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgttcgc tcctacctgg 360

cgtggtatca gcagaaaccg ggccaggcgc cgcgcctgct gatctacgac gcgagcaatc 420

gtgcgaccgg cattccggcg cgctttagcg gctccggtag cggcaccgat tttaccctga 480

ccattagcag cctggaaccg gaagattttg cggtgtatta ttgccagcaa cgtaattatt 540

ggccgctgac ctttggccag ggcaccaaag tggaaattaa acgtacggtg gctgcaccat 600

ctgtcttcat cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt 660

gcctgctgaa taacttctat cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc 720

tccaatcggg taactcccag gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca 780

gcctcagcag caccctgacg ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct 840

gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt 900

gttagtgatt cgaatgatca taatcagcca taccacattt gtagaggttt tacttgcttt 960

aaaaaacctc ccacacctcc ccctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgttgttgt 1020

taacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc aatagcatca caaatttcac 1080

aaataaagca ttttttcac tgcat 1105

<210> 255
<211> 1789
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК HC2 PTBB28

<400> 255
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg 240

cccaaagtat acaggccgaa gtgcagctgc tggaaagcgg cggcggcctg gtgcagccgg 300

gcggcagcct gcgcctgagc tgcgcggcaa gcggctttac ctttagcagc tatgcgatga 360

gctgggtgcg ccaggcgccg ggcaaaggcc tggaatgggt gagcgcgatt agcggcagcg 420

gcggcagcac ctattatgcg gatagcgtga aaggccgctt taccattagc cgcgataaca 480

gcaaaaacac cctgtatctg cagatgaaca gcctgcgcgc ggaagatacc gcggtgtatt 540

attgcgcgaa atccccgtac gcgcccttgg actattgggg ccagggcacc ctggtgaccg 600

tgagcagcgc ctccaccaag ggcccatcgg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca 660

cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga 720

cggtgtcgtg gaactcaggc gctctgacca gcggcgtgca caccttccca gctgtcctac 780

agtcctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aacttcggca 840

cccagaccta cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagacag 900

ttgagcgcaa atgttgtgtc gagtgcccac cgtgcccagc accacctgtg gcaggaccgt 960

cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg 1020

tcacgtgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg 1080

tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca 1140

cgttccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgttg tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt 1200

acaagtgcaa ggtctccaac aaaggcctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaaa 1260

ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga 1320

ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg 1380

tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacacct cccatgctgg 1440

actccgacgg ctccttcttc ctctacagcc ggctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc 1500

aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga 1560

agagcctctc cctgtctccg ggtaaatgat agttcgaatt cattgatcat aatcagccat 1620

accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc cacacctccc cctgaacctg 1680

aaacataaaa tgaatgcaat tgttgttgtt aacttgttta ttgcagctta taatggttac 1740

aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat ttttttcac 1789

<210> 256
<211> 1105
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК LC2 PTBB28

<400> 256
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggagacac attctcaggt ctttgtatac atgttgctgt 240

ggttgtctgg tgtcgaggga gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga 300

gcccgggcga acgcgcgacc cttagctgcc gtgcaagtca gagtgtgaac gactacctgg 360

cgtggtatca gcagaaaccg ggccaggcgc cgcgcctgct gatttatgat gcgagcaacc 420

gcgcgaccgg cattccggcg cgctttagcg gcagcggcag cggcaccgat tttaccctga 480

ccattagcag cctggaaccg gaagattttg cggtgtatta ttgccagcag ggtggtcacg 540

cgccgatcac ctttggccag ggcaccaaag tggaaattaa acgtacggtg gctgcaccat 600

ctgtcttcat cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt 660

gcctgctgaa taacttctat cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc 720

tccaatcggg taactcccag gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca 780

gcctcagcag caccctgacg ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct 840

gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt 900

gttagtgatt cgaatgatca taatcagcca taccacattt gtagaggttt tacttgcttt 960

aaaaaacctc ccacacctcc ccctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgttgttgt 1020

taacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc aatagcatca caaatttcac 1080

aaataaagca ttttttcac tgcat 1105

<210> 257
<211> 1807
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК HC1 PTBB30

<400> 257
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg 240

cccaaagtat acaggcccag gtgcagctgg tgcagagcgg cgcggaagtg aaaaaaccgg 300

gcagcagcgt gaaagtgagc tgcaaagcga gcggcggcac ctttagcagc tatgcgatta 360

gctgggtgcg ccaggcgccg ggccagggcc tggaatggat gggcggcatt attccgattt 420

ttgacaccgc gaactatgcg cagaaatttc agggccgcgt gaccattacc gcggatgaaa 480

gcaccagcac cgcgtatatg gaactgagca gcctgcgcag cgaagatacc gcggtgtatt 540

attgcgcgcg ccctggtctc gctgcggctt atgatactgg ttccttggac tattggggcc 600

agggcaccct ggtgaccgtg agcagcgcct ccaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg 660

cgccctgctc caggagcacc tccgagagca cagccgccct gggctgcctg gtcaaggact 720

acttccccga accggtgacg gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca 780

ccttcccagc tgtcctacag tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc 840

cctccagcaa cttcggcacc cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca 900

ccaaggtgga caagacagtt gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac 960

cacctgccgc agccagctca gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga 1020

tctcccggac ccctgaggtc acgtgcgtgg tggtggacgt gagcgccgaa gaccccgagg 1080

tccagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg 1140

aggagcagtt caacagcacg ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttctg caccaggact 1200

ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa aggcctccca tcctccatcg 1260

agaaaaccat ctccaaaacc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc 1320

catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct 1380

accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga 1440

ccacacctcc catgctggac tccgacggct ccttcctgct ctacagcaag ctcaccgtgg 1500

acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc 1560

acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatgatag ttcgaattca 1620

ttgatcataa tcagccatac cacatttgta gaggttttac ttgctttaaa aaacctccca 1680

cacctccccc tgaacctgaa acataaaatg aatgcaattg ttgttgttaa cttgtttatt 1740

gcagcttata atggttacaa ataaagcaat agcatcacaa atttcacaaa taaagcattt 1800

ttttcac 1807

<210> 258
<211> 1105
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК LC1 PTBB30

<400> 258
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggagacac attctcaggt ctttgtatac atgttgctgt 240

ggttgtctgg tgtcgaggga gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga 300

gcccgggcga acgcgcgacc ctgagctgcc gcgcgagcca gagcgttcgc tcctacctgg 360

cgtggtatca gcagaaaccg ggccaggcgc cgcgcctgct gatctacgac gcgagcaatc 420

gtgcgaccgg cattccggcg cgctttagcg gctccggtag cggcaccgat tttaccctga 480

ccattagcag cctggaaccg gaagattttg cggtgtatta ttgccagcaa cgtaattatt 540

ggccgctgac ctttggccag ggcaccaaag tggaaattaa acgtacggtg gctgcaccat 600

ctgtcttcat cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt 660

gcctgctgaa taacttctat cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc 720

tccaatcggg taactcccag gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca 780

gcctcagcag caccctgacg ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct 840

gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt 900

gttagtgatt cgaatgatca taatcagcca taccacattt gtagaggttt tacttgcttt 960

aaaaaacctc ccacacctcc ccctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgttgttgt 1020

taacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc aatagcatca caaatttcac 1080

aaataaagca ttttttcac tgcat 1105

<210> 259
<211> 1789
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК HC2 PTBB30

<400> 259
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggcttggg tgtggacctt gctattcctg atggcagctg 240

cccaaagtat acaggccgaa gtgcagctgc tggaaagcgg cggcggcctg gtgcagccgg 300

gcggcagcct gcgcctgagc tgcgcggcaa gcggctttac ctttagcagc tatgcgatga 360

gctgggtgcg ccaggcgccg ggcaaaggcc tggaatgggt gagcgcgatt agcggcagcg 420

gcggcagcac ctattatgcg gatagcgtga aaggccgctt taccattagc cgcgataaca 480

gcaaaaacac cctgtatctg cagatgaaca gcctgcgcgc ggaagatacc gcggtgtatt 540

attgcgcgaa atccccgtac gcgcccttgg actattgggg ccagggcacc ctggtgaccg 600

tgagcagcgc ctccaccaag ggcccatcgg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca 660

cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga 720

cggtgtcgtg gaactcaggc gctctgacca gcggcgtgca caccttccca gctgtcctac 780

agtcctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aacttcggca 840

cccagaccta cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagacag 900

ttgagcgcaa atgttgtgtc gagtgcccac cgtgcccagc accacctgcc gcagccagct 960

cagtcttcct cttcccccca aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg 1020

tcacgtgcgt ggtggtggac gtgagcgccg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg 1080

tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca 1140

cgttccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgttc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt 1200

acaagtgcaa ggtctccaac aaaggcctcc catcctccat cgagaaaacc atctccaaaa 1260

ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga 1320

ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg 1380

tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacacct cccatgctgg 1440

actccgacgg ctccttcttc ctctacagcc ggctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc 1500

aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga 1560

agagcctctc cctgtctccg ggtaaatgat agttcgaatt cattgatcat aatcagccat 1620

accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc cacacctccc cctgaacctg 1680

aaacataaaa tgaatgcaat tgttgttgtt aacttgttta ttgcagctta taatggttac 1740

aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat ttttttcac 1789

<210> 260
<211> 1105
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> ДНК LC2 PTBB30

<400> 260
cagctgagtt gttgtgttct gataagagtc agaggtaact cccgttgcgg tgctgttaac 60

ggtggagggc agtgtagtct gagcagtact cgttgctgcc gcgcgcgcca ccagacataa 120

tagctgacag actaacagac tgttcctttc catgggtctt ttctgcagtc accgtccttg 180

acacgaagct tgccgccacc atggagacac attctcaggt ctttgtatac atgttgctgt 240

ggttgtctgg tgtcgaggga gaaattgtgc tgacccagag cccggcgacc ctgagcctga 300

gcccgggcga acgcgcgacc cttagctgcc gtgcaagtca gagtgtgaac gactacctgg 360

cgtggtatca gcagaaaccg ggccaggcgc cgcgcctgct gatttatgat gcgagcaacc 420

gcgcgaccgg cattccggcg cgctttagcg gcagcggcag cggcaccgat tttaccctga 480

ccattagcag cctggaaccg gaagattttg cggtgtatta ttgccagcag ggtggtcacg 540

cgccgatcac ctttggccag ggcaccaaag tggaaattaa acgtacggtg gctgcaccat 600

ctgtcttcat cttcccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt 660

gcctgctgaa taacttctat cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc 720

tccaatcggg taactcccag gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca 780

gcctcagcag caccctgacg ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct 840

gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt 900

gttagtgatt cgaatgatca taatcagcca taccacattt gtagaggttt tacttgcttt 960

aaaaaacctc ccacacctcc ccctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgttgttgt 1020

taacttgttt attgcagctt ataatggtta caaataaagc aatagcatca caaatttcac 1080

aaataaagca tttttttcac tgcat 1105

<210> 261
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 261

Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu
1 5 10 15

<210> 262
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 262

Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr
1 5

<210> 263
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 263

Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe
1 5 10

<210> 264
<211> 306
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 264

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro
1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val
20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly
35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser
50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys
65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly
85 90 95

Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn
100 105 110

Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val
115 120 125

Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys
130 135 140

Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp
145 150 155 160

Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val
165 170 175

Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro Asp Val Thr Ser Asn Met Thr
180 185 190

Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro
210 215 220

Trp Ile Thr Ala Val Leu Pro Thr Val Ile Ile Cys Val Met Val Phe
225 230 235 240

Cys Leu Ile Leu Trp Lys Trp Lys Lys Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser
245 250 255

Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr
260 265 270

Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln
275 280 285

Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr
290 295 300

Cys Phe
305

<210> 265
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 265

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

Leu Leu Pro Ser Trp Ala Ile Thr Leu Ile Ser Val Asn Gly Ile Phe
210 215 220

Val Ile Cys Cys Leu Thr Tyr Cys Phe Ala Pro Arg Cys Arg Glu Arg
225 230 235 240

Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val
245 250

<210> 266
<211> 202
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 266

Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr Asp Asn
1 5 10 15

Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser Arg Glu
20 25 30

Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu Val Cys
35 40 45

Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser Lys Thr
50 55 60

Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr Phe Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile
85 90 95

Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly
100 105 110

Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe
115 120 125

Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
130 135 140

Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
145 150 155 160

Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
165 170 175

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
180 185 190

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
195 200

<210> 267
<211> 179
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 267

Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile Phe His Asn Gly
1 5 10 15

Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val Gln Gln Phe Lys
20 25 30

Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp Leu Thr Lys Thr
35 40 45

Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu Lys Phe Cys His
50 55 60

Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu Tyr Asn Leu Asp
65 70 75 80

His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Pro
85 90 95

Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu His Ile Tyr Glu
100 105 110

Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro Ile Gly Cys Ala
115 120 125

Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu Ile Cys Trp Leu
130 135 140

Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro Asn Gly Glu Tyr
145 150 155 160

Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp
165 170 175

Val Thr Leu

<210> 268
<211> 284

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 268

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr Trp Ser
225 230 235 240

Ile Leu Ala Val Leu Cys Leu Leu Val Val Val Ala Val Ala Ile Gly
245 250 255

Trp Val Cys Arg Asp Arg Cys Leu Gln His Ser Tyr Ala Gly Ala Trp
260 265 270

Ala Val Ser Pro Glu Thr Glu Leu Thr Gly His Val
275 280

<210> 269
<211> 260
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 269

Leu Ser Val Gln Gln Gly Pro Asn Leu Leu Gln Val Arg Gln Gly Ser
1 5 10 15

Gln Ala Thr Leu Val Cys Gln Val Asp Gln Ala Thr Ala Trp Glu Arg
20 25 30

Leu Arg Val Lys Trp Thr Lys Asp Gly Ala Ile Leu Cys Gln Pro Tyr
35 40 45

Ile Thr Asn Gly Ser Leu Ser Leu Gly Val Cys Gly Pro Gln Gly Arg
50 55 60

Leu Ser Trp Gln Ala Pro Ser His Leu Thr Leu Gln Leu Asp Pro Val
65 70 75 80

Ser Leu Asn His Ser Gly Ala Tyr Val Cys Trp Ala Ala Val Glu Ile
85 90 95

Pro Glu Leu Glu Glu Ala Glu Gly Asn Ile Thr Arg Leu Phe Val Asp
100 105 110

Pro Asp Asp Pro Thr Gln Asn Arg Asn Arg Ile Ala Ser Phe Pro Gly
115 120 125

Phe Leu Phe Val Leu Leu Gly Val Gly Ser Met Gly Val Ala Ala Ile
130 135 140

Val Trp Gly Ala Trp Phe Trp Gly Arg Arg Ser Cys Gln Gln Arg Asp
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Pro Gly Asn Ala Phe Tyr Ser Asn Val Leu Tyr Arg
165 170 175

Pro Arg Gly Ala Pro Lys Lys Ser Glu Asp Cys Ser Gly Glu Gly Lys
180 185 190

Asp Gln Arg Gly Gln Ser Ile Tyr Ser Thr Ser Phe Pro Gln Pro Ala
195 200 205

Pro Arg Gln Pro His Leu Ala Ser Arg Pro Cys Pro Ser Pro Arg Pro
210 215 220

Cys Pro Ser Pro Arg Pro Gly His Pro Val Ser Met Val Arg Val Ser
225 230 235 240

Pro Arg Pro Ser Pro Thr Gln Gln Pro Arg Pro Lys Gly Phe Pro Lys
245 250 255

Val Gly Glu Glu
260

<210> 270
<211> 257
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 270

Glu Pro Pro Thr Ala Cys Arg Glu Lys Gln Tyr Leu Ile Asn Ser Gln
1 5 10 15

Cys Cys Ser Leu Cys Gln Pro Gly Gln Lys Leu Val Ser Asp Cys Thr
20 25 30

Glu Phe Thr Glu Thr Glu Cys Leu Pro Cys Gly Glu Ser Glu Phe Leu
35 40 45

Asp Thr Trp Asn Arg Glu Thr His Cys His Gln His Lys Tyr Cys Asp
50 55 60

Pro Asn Leu Gly Leu Arg Val Gln Gln Lys Gly Thr Ser Glu Thr Asp
65 70 75 80

Thr Ile Cys Thr Cys Glu Glu Gly Trp His Cys Thr Ser Glu Ala Cys
85 90 95

Glu Ser Cys Val Leu His Arg Ser Cys Ser Pro Gly Phe Gly Val Lys
100 105 110

Gln Ile Ala Thr Gly Val Ser Asp Thr Ile Cys Glu Pro Cys Pro Val
115 120 125

Gly Phe Phe Ser Asn Val Ser Ser Ala Phe Glu Lys Cys His Pro Trp
    130 135 140

Thr Ser Cys Glu Thr Lys Asp Leu Val Val Gln Gln Ala Gly Thr Asn
145 150 155 160

Lys Thr Asp Val Val Cys Gly Pro Gln Asp Arg Leu Arg Ala Leu Val
                165 170 175

Val Ile Pro Ile Ile Phe Gly Ile Leu Phe Ala Ile Leu Leu Val Leu
            180 185 190

Val Phe Ile Lys Lys Val Ala Lys Lys Pro Thr Asn Lys Ala Pro His
        195 200 205

Pro Lys Gln Glu Pro Gln Glu Ile Asn Phe Pro Asp Asp Leu Pro Gly
    210 215 220

Ser Asn Thr Ala Ala Pro Val Gln Glu Thr Leu His Gly Cys Gln Pro
225 230 235 240

Val Thr Gln Glu Asp Gly Lys Glu Ser Arg Ile Ser Val Gln Glu Arg
                245 250 255

Gln

<210> 271
<211> 216
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 271

Gln Arg Pro Thr Gly Gly Pro Gly Cys Gly Pro Gly Arg Leu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Thr Gly Thr Asp Ala Arg Cys Cys Arg Val His Thr Thr Arg Cys
            20 25 30

Cys Arg Asp Tyr Pro Gly Glu Glu Cys Cys Ser Glu Trp Asp Cys Met
        35 40 45

Cys Val Gln Pro Glu Phe His Cys Gly Asp Pro Cys Cys Thr Thr Cys
    50 55 60

Arg His His Pro Cys Pro Pro Gly Gln Gly Val Gln Ser Gln Gly Lys
65 70 75 80

Phe Ser Phe Gly Phe Gln Cys Ile Asp Cys Ala Ser Gly Thr Phe Ser
85 90 95

Gly Gly His Glu Gly His Cys Lys Pro Trp Thr Asp Cys Thr Gln Phe
100 105 110

Gly Phe Leu Thr Val Phe Pro Gly Asn Lys Thr His Asn Ala Val Cys
115 120 125

Val Pro Gly Ser Pro Pro Ala Glu Pro Leu Gly Trp Leu Thr Val Val
130 135 140

Leu Leu Ala Val Ala Ala Cys Val Leu Leu Leu Thr Ser Ala Gln Leu
145 150 155 160

Gly Leu His Ile Trp Gln Leu Arg Ser Gln Cys Met Trp Pro Arg Glu
165 170 175

Thr Gln Leu Leu Leu Glu Val Pro Pro Ser Thr Glu Asp Ala Arg Ser
180 185 190

Cys Gln Phe Pro Glu Glu Glu Arg Gly Glu Arg Ser Ala Glu Glu Lys
195 200 205

Gly Arg Leu Gly Asp Leu Trp Val
210 215

<210> 272
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 272

Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro
1 5 10 15

Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val
20 25 30

Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe
35 40 45

Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser
50 55 60

Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp
65 70 75 80

Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val
85 90 95

Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp
100 105 110

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
115 120 125

Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
130 135 140

Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser
145 150 155 160

Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
165 170 175

Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
180 185 190

Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
195 200 205

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
210 215 220

Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
225 230 235 240

Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
245 250

<210> 273
<211> 183
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 273

Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg
1 5 10 15

Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln
20 25 30

Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser
35 40 45

Ala Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val
    50 55 60

Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln
65 70 75 80

Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn
                85 90 95

Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu
            100 105 110

Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln
        115 120 125

Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr
    130 135 140

Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu
145 150 155 160

Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn
                165 170 175

Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu
            180

<210> 274
<211> 155
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 274

Gln Arg Phe Ala Gln Ala Gln Gln Gln Leu Pro Leu Glu Ser Leu Gly
1 5 10 15

Trp Asp Val Ala Glu Leu Gln Leu Asn His Thr Gly Pro Gln Gln Asp
            20 25 30

Pro Arg Leu Tyr Trp Gln Gly Gly Pro Ala Leu Gly Arg Ser Phe Leu
        35 40 45

His Gly Pro Glu Leu Asp Lys Gly Gln Leu Arg Ile His Arg Asp Gly
    50 55 60

Ile Tyr Met Val His Ile Gln Val Thr Leu Ala Ile Cys Ser Ser Thr
65 70 75 80

Thr Ala Ser Arg His His Pro Thr Thr Leu Ala Val Gly Ile Cys Ser
85 90 95

Pro Ala Ser Arg Ser Ile Ser Leu Leu Arg Leu Ser Phe His Gln Gly
100 105 110

Cys Thr Ile Ala Ser Gln Arg Leu Thr Pro Leu Ala Arg Gly Asp Thr
115 120 125

Leu Cys Thr Asn Leu Thr Gly Thr Leu Leu Pro Ser Arg Asn Thr Asp
130 135 140

Glu Thr Phe Phe Gly Val Gln Trp Val Arg Pro
145 150 155

<210> 275
<211> 240
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 275

Met Ile Glu Thr Tyr Asn Gln Thr Ser Pro Arg Ser Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Leu Pro Ile Ser Met Lys Ile Phe Met Tyr Leu Leu Thr Val Phe Leu
20 25 30

Ile Thr Gln Met Ile Gly Ser Ala Leu Phe Ala Val Tyr Leu His Arg
35 40 45

Arg Leu Asp Lys Ile Glu Asp Glu Arg Asn Leu His Glu Asp Phe Val
50 55 60

Phe Met Lys Thr Ile Gln Arg Cys Asn Thr Gly Glu Arg Ser Leu Ser
65 70 75 80

Leu Leu Asn Cys Glu Glu Ile Lys Ser Gln Phe Glu Gly Phe Val Lys
85 90 95

Asp Ile Met Leu Asn Lys Glu Glu Thr Lys Lys Glu Asn Ser Phe Glu
100 105 110

Met Gln Lys Val Leu Gln Trp Ala Glu Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Ser
115 120 125

Asn Asn Leu Val Thr Leu Glu Asn Gly Lys Gln Leu Thr Val Lys Arg
130 135 140

Gln Gly Leu Tyr Tyr Ile Tyr Ala Gln Val Thr Phe Cys Ser Asn Arg
145 150 155 160

Glu Ala Ser Ser Gln Ala Pro Phe Ile Ala Ser Leu Cys Leu Lys Ser
165 170 175

Pro Gly Arg Phe Glu Arg Ile Leu Leu Arg Ala Ala Asn Thr His Ser
180 185 190

Ser Ala Lys Pro Cys Gly Gln Gln Ser Ile His Leu Gly Gly Val Phe
195 200 205

Glu Leu Gln Pro Gly Ala Ser Val Phe Val Asn Val Thr Asp Pro Ser
210 215 220

Gln Val Ser His Gly Thr Gly Phe Thr Ser Phe Gly Leu Leu Lys Leu
225 230 235 240

<210> 276
<211> 393
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 276

Gln Gly Gly Thr Arg Ser Pro Arg Cys Asp Cys Ala Gly Asp Phe His
1 5 10 15

Lys Lys Ile Gly Leu Phe Cys Cys Arg Gly Cys Pro Ala Gly His Tyr
20 25 30

Leu Lys Ala Pro Cys Thr Glu Pro Cys Gly Asn Ser Thr Cys Leu Val
35 40 45

Cys Pro Gln Asp Thr Phe Leu Ala Trp Glu Asn His His Asn Ser Glu
50 55 60

Cys Ala Arg Cys Gln Ala Cys Asp Glu Gln Ala Ser Gln Val Ala Leu
65 70 75 80

Glu Asn Cys Ser Ala Val Ala Asp Thr Arg Cys Gly Cys Lys Pro Gly
85 90 95

Trp Phe Val Glu Cys Gln Val Ser Gln Cys Val Ser Ser Ser Pro Phe
100 105 110

Tyr Cys Gln Pro Cys Leu Asp Cys Gly Ala Leu His Arg His Thr Arg
115 120 125

Leu Leu Cys Ser Arg Arg Asp Thr Asp Cys Gly Thr Cys Leu Pro Gly
130 135 140

Phe Tyr Glu His Gly Asp Gly Cys Val Ser Cys Pro Thr Ser Thr Leu
145 150 155 160

Gly Ser Cys Pro Glu Arg Cys Ala Ala Val Cys Gly Trp Arg Gln Met
165 170 175

Phe Trp Val Gln Val Leu Leu Ala Gly Leu Val Val Pro Leu Leu Leu
180 185 190

Gly Ala Thr Leu Thr Tyr Thr Tyr Arg His Cys Trp Pro His Lys Pro
195 200 205

Leu Val Thr Ala Asp Glu Ala Gly Met Glu Ala Leu Thr Pro Pro Pro
210 215 220

Ala Thr His Leu Ser Pro Leu Asp Ser Ala His Thr Leu Leu Ala Pro
225 230 235 240

Pro Asp Ser Ser Glu Lys Ile Cys Thr Val Gln Leu Val Gly Asn Ser
245 250 255

Trp Thr Pro Gly Tyr Pro Glu Thr Gln Glu Ala Leu Cys Pro Gln Val
260 265 270

Thr Trp Ser Trp Asp Gln Leu Pro Ser Arg Ala Leu Gly Pro Ala Ala
275 280 285

Ala Pro Thr Leu Ser Pro Glu Ser Pro Ala Gly Ser Pro Ala Met Met
290 295 300

Leu Gln Pro Gly Pro Gln Leu Tyr Asp Val Met Asp Ala Val Pro Ala
305 310 315 320

Arg Arg Trp Lys Glu Phe Val Arg Thr Leu Gly Leu Arg Glu Ala Glu
325 330 335

Ile Glu Ala Val Glu Val Glu Ile Gly Arg Phe Arg Asp Gln Gln Tyr
340 345 350

Glu Met Leu Lys Arg Trp Arg Gln Gln Gln Pro Ala Gly Leu Gly Ala
355 360 365

Val Tyr Ala Ala Leu Glu Arg Met Gly Leu Asp Gly Cys Val Glu Asp

370 375 380

Leu Arg Ser Arg Leu Gln Arg Gly Pro
385 390

<210> 277
<211> 240
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 277

Met Glu Glu Ser Val Val Arg Pro Ser Val Phe Val Val Asp Gly Gln
1 5 10 15

Thr Asp Ile Pro Phe Thr Arg Leu Gly Arg Ser His Arg Arg Gln Ser
20 25 30

Cys Ser Val Ala Arg Val Gly Leu Gly Leu Leu Leu Leu Leu Met Gly
35 40 45

Ala Gly Leu Ala Val Gln Gly Trp Phe Leu Leu Gln Leu His Trp Arg
50 55 60

Leu Gly Glu Met Val Thr Arg Leu Pro Asp Gly Pro Ala Gly Ser Trp
65 70 75 80

Glu Gln Leu Ile Gln Glu Arg Arg Ser His Glu Val Asn Pro Ala Ala
85 90 95

His Leu Thr Gly Ala Asn Ser Ser Leu Thr Gly Ser Gly Gly Pro Leu
100 105 110

Leu Trp Glu Thr Gln Leu Gly Leu Ala Phe Leu Arg Gly Leu Ser Tyr
115 120 125

His Asp Gly Ala Leu Val Val Thr Lys Ala Gly Tyr Tyr Tyr Ile Tyr
130 135 140

Ser Lys Val Gln Leu Gly Gly Val Gly Cys Pro Leu Gly Leu Ala Ser
145 150 155 160

Thr Ile Thr His Gly Leu Tyr Lys Arg Thr Pro Arg Tyr Pro Glu Glu
165 170 175

Leu Glu Leu Leu Val Ser Gln Gln Ser Pro Cys Gly Arg Ala Thr Ser
180 185 190

Ser Ser Arg Val Trp Trp Asp Ser Ser Phe Leu Gly Gly Val Val His

195 200 205

Leu Glu Ala Gly Glu Lys Val Val Val Arg Val Leu Asp Glu Arg Leu
210 215 220

Val Arg Leu Arg Asp Gly Thr Arg Ser Tyr Phe Gly Ala Phe Met Val
225 230 235 240

<210> 278
<211> 199
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 278

Met Thr Leu His Pro Ser Pro Ile Thr Cys Glu Phe Leu Phe Ser Thr
1 5 10 15

Ala Leu Ile Ser Pro Lys Met Cys Leu Ser His Leu Glu Asn Met Pro
20 25 30

Leu Ser His Ser Arg Thr Gln Gly Ala Gln Arg Ser Ser Trp Lys Leu
35 40 45

Trp Leu Phe Cys Ser Ile Val Met Leu Leu Phe Leu Cys Ser Phe Ser
50 55 60

Trp Leu Ile Phe Ile Phe Leu Gln Leu Glu Thr Ala Lys Glu Pro Cys
65 70 75 80

Met Ala Lys Phe Gly Pro Leu Pro Ser Lys Trp Gln Met Ala Ser Ser
85 90 95

Glu Pro Pro Cys Val Asn Lys Val Ser Asp Trp Lys Leu Glu Ile Leu
100 105 110

Gln Asn Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Gly Gln Val Ala Pro Asn Ala Asn
115 120 125

Tyr Asn Asp Val Ala Pro Phe Glu Val Arg Leu Tyr Lys Asn Lys Asp
130 135 140

Met Ile Gln Thr Leu Thr Asn Lys Ser Lys Ile Gln Asn Val Gly Gly
145 150 155 160

Thr Tyr Glu Leu His Val Gly Asp Thr Ile Asp Leu Ile Phe Asn Ser
165 170 175

Glu His Gln Val Leu Lys Asn Asn Thr Tyr Trp Gly Ile Ile Leu Leu

180 185 190

Ala Asn Pro Gln Phe Ile Ser
195

<210> 279
<211> 277
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 279

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys
85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly
100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys
115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu

195 200 205

Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
260 265 270

Thr Leu Ala Lys Ile
275

<210> 280
<211> 260
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 280

Met Ala Arg Pro His Pro Trp Trp Leu Cys Val Leu Gly Thr Leu Val
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ala Thr Pro Ala Pro Lys Ser Cys Pro Glu Arg His Tyr
20 25 30

Trp Ala Gln Gly Lys Leu Cys Cys Gln Met Cys Glu Pro Gly Thr Phe
35 40 45

Leu Val Lys Asp Cys Asp Gln His Arg Lys Ala Ala Gln Cys Asp Pro
50 55 60

Cys Ile Pro Gly Val Ser Phe Ser Pro Asp His His Thr Arg Pro His
65 70 75 80

Cys Glu Ser Cys Arg His Cys Asn Ser Gly Leu Leu Val Arg Asn Cys
85 90 95

Thr Ile Thr Ala Asn Ala Glu Cys Ala Cys Arg Asn Gly Trp Gln Cys
100 105 110

Arg Asp Lys Glu Cys Thr Glu Cys Asp Pro Leu Pro Asn Pro Ser Leu
115 120 125

Thr Ala Arg Ser Ser Gln Ala Leu Ser Pro His Pro Gln Pro Thr His

130 135 140

Leu Pro Tyr Val Ser Glu Met Leu Glu Ala Arg Thr Ala Gly His Met
145 150 155 160

Gln Thr Leu Ala Asp Phe Arg Gln Leu Pro Ala Arg Thr Leu Ser Thr
165 170 175

His Trp Pro Pro Gln Arg Ser Leu Cys Ser Ser Asp Phe Ile Arg Ile
180 185 190

Leu Val Ile Phe Ser Gly Met Phe Leu Val Phe Thr Leu Ala Gly Ala
195 200 205

Leu Phe Leu His Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser
210 215 220

Pro Val Glu Pro Ala Glu Pro Cys His Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu
225 230 235 240

Glu Gly Ser Thr Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro
245 250 255

Ala Cys Ser Pro
260

<210> 281
<211> 255
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 281

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro
20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys
35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile
50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser
65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly

85 90 95

Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu
100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys
130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala
165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu
180 185 190

Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu
195 200 205

Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
210 215 220

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225 230 235 240

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
245 250 255

<210> 282
<211> 216
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 282

Met Gly Trp Ile Arg Gly Arg Arg Ser Arg His Ser Trp Glu Met Ser
1 5 10 15

Glu Phe His Asn Tyr Asn Leu Asp Leu Lys Lys Ser Asp Phe Ser Thr
20 25 30

Arg Trp Gln Lys Gln Arg Cys Pro Val Val Lys Ser Lys Cys Arg Glu
35 40 45

Asn Ala Ser Pro Phe Phe Phe Cys Cys Phe Ile Ala Val Ala Met Gly

50 55 60

Ile Arg Phe Ile Ile Met Val Ala Ile Trp Ser Ala Val Phe Leu Asn
65 70 75 80

Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Cys
85 90 95

Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn Cys Tyr Gln
100 105 110

Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala Ser Cys Met
115 120 125

Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp
130 135 140

Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile
145 150 155 160

Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ser Pro
165 170 175

Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys Ala Leu Tyr
180 185 190

Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr Pro Asn Thr
195 200 205

Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val
210 215

<210> 283
<211> 194
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 283

Gln Gly His Leu Val His Met Thr Val Val Ser Gly Ser Asn Val Thr
1 5 10 15

Leu Asn Ile Ser Glu Ser Leu Pro Glu Asn Tyr Lys Gln Leu Thr Trp
20 25 30

Phe Tyr Thr Phe Asp Gln Lys Ile Val Glu Trp Asp Ser Arg Lys Ser
35 40 45

Lys Tyr Phe Glu Ser Lys Phe Lys Gly Arg Val Arg Leu Asp Pro Gln

50 55 60

Ser Gly Ala Leu Tyr Ile Ser Lys Val Gln Lys Glu Asp Asn Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Met Arg Val Leu Lys Lys Thr Gly Asn Glu Gln Glu Trp Lys
85 90 95

Ile Lys Leu Gln Val Leu Asp Pro Val Pro Lys Pro Val Ile Lys Ile
100 105 110

Glu Lys Ile Glu Asp Met Asp Asp Asn Cys Tyr Leu Lys Leu Ser Cys
115 120 125

Val Ile Pro Gly Glu Ser Val Asn Tyr Thr Trp Tyr Gly Asp Lys Arg
130 135 140

Pro Phe Pro Lys Glu Leu Gln Asn Ser Val Leu Glu Thr Thr Leu Met
145 150 155 160

Pro His Asn Tyr Ser Arg Cys Tyr Thr Cys Gln Val Ser Asn Ser Val
165 170 175

Ser Ser Lys Asn Gly Thr Val Cys Leu Ser Pro Pro Cys Thr Leu Ala
180 185 190

Arg Ser

<210> 284
<211> 318
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 284

Glu Glu Val Leu Trp His Thr Ser Val Pro Phe Ala Glu Asn Met Ser
1 5 10 15

Leu Glu Cys Val Tyr Pro Ser Met Gly Ile Leu Thr Gln Val Glu Trp
20 25 30

Phe Lys Ile Gly Thr Gln Gln Asp Ser Ile Ala Ile Phe Ser Pro Thr
35 40 45

His Gly Met Val Ile Arg Lys Pro Tyr Ala Glu Arg Val Tyr Phe Leu
50 55 60

Asn Ser Thr Met Ala Ser Asn Asn Met Thr Leu Phe Phe Arg Asn Ala

65 70 75 80

Ser Glu Asp Asp Val Gly Tyr Tyr Ser Cys Ser Leu Tyr Thr Tyr Pro
85 90 95

Gln Gly Thr Trp Gln Lys Val Ile Gln Val Val Gln Ser Asp Ser Phe
100 105 110

Glu Ala Ala Val Pro Ser Asn Ser His Ile Val Ser Glu Pro Gly Lys
115 120 125

Asn Val Thr Leu Thr Cys Gln Pro Gln Met Thr Trp Pro Val Gln Ala
130 135 140

Val Arg Trp Glu Lys Ile Gln Pro Arg Gln Ile Asp Leu Leu Thr Tyr
145 150 155 160

Cys Asn Leu Val His Gly Arg Asn Phe Thr Ser Lys Phe Pro Arg Gln
165 170 175

Ile Val Ser Asn Cys Ser His Gly Arg Trp Ser Val Ile Val Ile Pro
180 185 190

Asp Val Thr Val Ser Asp Ser Gly Leu Tyr Arg Cys Tyr Leu Gln Ala
195 200 205

Ser Ala Gly Glu Asn Glu Thr Phe Val Met Arg Leu Thr Val Ala Glu
210 215 220

Gly Lys Thr Asp Asn Gln Tyr Thr Leu Phe Val Ala Gly Gly Thr Val
225 230 235 240

Leu Leu Leu Leu Phe Val Ile Ser Ile Thr Thr Ile Ile Val Ile Phe
245 250 255

Leu Asn Arg Arg Arg Arg Arg Glu Arg Arg Asp Leu Phe Thr Glu Ser
260 265 270

Trp Asp Thr Gln Lys Ala Pro Asn Asn Tyr Arg Ser Pro Ile Ser Thr
275 280 285

Ser Gln Pro Thr Asn Gln Ser Met Asp Asp Thr Arg Glu Asp Ile Tyr
290 295 300

Val Asn Tyr Pro Thr Phe Ser Arg Arg Pro Lys Thr Arg Val
305 310 315

<210> 285
<211> 360
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 285

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly
1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro
20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln
35 40 45

Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg
50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile
65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys
85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr
100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr
115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn
130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met
145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val
165 170 175

Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Arg Ser Glu
180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr
195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser
210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr
225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg
245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val
260 265 270

Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser His Trp Gln Thr Phe His
275 280 285

Val Ser Ala Val Ala Ala Ala Ala Ile Phe Val Ile Ile Ile Phe Tyr
290 295 300

Val Arg Cys Cys Lys Lys Lys Thr Ser Ala Ala Glu Gly Pro Glu Leu
305 310 315 320

Val Ser Leu Gln Val Leu Asp Gln His Pro Val Gly Thr Ser Asp His
325 330 335

Arg Asp Ala Thr Gln Leu Gly Phe Gln Pro Leu Met Ser Asp Leu Gly
340 345 350

Ser Thr Gly Ser Thr Glu Gly Ala
355 360

<210> 286
<211> 279
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 286

Phe Lys Val Ala Thr Pro Tyr Ser Leu Tyr Val Cys Pro Glu Gly Gln
1 5 10 15

Asn Val Thr Leu Thr Cys Arg Leu Leu Gly Pro Val Asp Lys Gly His
20 25 30

Asp Val Thr Phe Tyr Lys Thr Trp Tyr Arg Ser Ser Arg Gly Glu Val
35 40 45

Gln Thr Cys Ser Glu Arg Arg Pro Ile Arg Asn Leu Thr Phe Gln Asp
50 55 60

Leu His Leu His His Gly Gly His Gln Ala Ala Asn Thr Ser His Asp
65 70 75 80

Leu Ala Gln Arg His Gly Leu Glu Ser Ala Ser Asp His His Gly Asn
85 90 95

Phe Ser Ile Thr Met Arg Asn Leu Thr Leu Leu Asp Ser Gly Leu Tyr
100 105 110

Cys Cys Leu Val Val Glu Ile Arg His His His Ser Glu His Arg Val
115 120 125

His Gly Ala Met Glu Leu Gln Val Gln Thr Gly Lys Asp Ala Pro Ser
130 135 140

Asn Cys Val Val Tyr Pro Ser Ser Ser Gln Asp Ser Glu Asn Ile Thr
145 150 155 160

Ala Ala Ala Leu Ala Thr Gly Ala Cys Ile Val Gly Ile Leu Cys Leu
165 170 175

Pro Leu Ile Leu Leu Leu Val Tyr Lys Gln Arg Gln Ala Ala Ser Asn
180 185 190

Arg Arg Ala Gln Glu Leu Val Arg Met Asp Ser Asn Ile Gln Gly Ile
195 200 205

Glu Asn Pro Gly Phe Glu Ala Ser Pro Pro Ala Gln Gly Ile Pro Glu
210 215 220

Ala Lys Val Arg His Pro Leu Ser Tyr Val Ala Gln Arg Gln Pro Ser
225 230 235 240

Glu Ser Gly Arg His Leu Leu Ser Glu Pro Ser Thr Pro Leu Ser Pro
245 250 255

Pro Gly Pro Gly Asp Val Phe Phe Pro Ser Leu Asp Pro Val Pro Asp
260 265 270

Ser Pro Asn Phe Glu Val Ile
275

<210> 287
<211> 432
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 287

Lys Gln Ser Glu Asp Phe Arg Val Ile Gly Pro Ala His Pro Ile Leu
1 5 10 15

Ala Gly Val Gly Glu Asp Ala Leu Leu Thr Cys Gln Leu Leu Pro Lys
20 25 30

Arg Thr Thr Met His Val Glu Val Arg Trp Tyr Arg Ser Glu Pro Ser
35 40 45

Thr Pro Val Phe Val His Arg Asp Gly Val Glu Val Thr Glu Met Gln
50 55 60

Met Glu Glu Tyr Arg Gly Trp Val Glu Trp Ile Glu Asn Gly Ile Ala
65 70 75 80

Lys Gly Asn Val Ala Leu Lys Ile His Asn Ile Gln Pro Ser Asp Asn
85 90 95

Gly Gln Tyr Trp Cys His Phe Gln Asp Gly Asn Tyr Cys Gly Glu Thr
100 105 110

Ser Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Leu Gly Ser Ala Pro Ser Ile His
115 120 125

Met Glu Gly Pro Gly Glu Ser Gly Val Gln Leu Val Cys Thr Ala Arg
130 135 140

Gly Trp Phe Pro Glu Pro Gln Val Tyr Trp Glu Asp Ile Arg Gly Glu
145 150 155 160

Lys Leu Leu Ala Val Ser Glu His Arg Ile Gln Asp Lys Asp Gly Leu
165 170 175

Phe Tyr Ala Glu Ala Thr Leu Val Val Arg Asn Ala Ser Ala Glu Ser
180 185 190

Val Ser Cys Leu Val His Asn Pro Val Leu Thr Glu Glu Lys Gly Ser
195 200 205

Val Ile Ser Leu Pro Glu Lys Leu Gln Thr Glu Leu Ala Ser Leu Lys
210 215 220

Val Asn Gly Pro Ser Gln Pro Ile Leu Val Arg Val Gly Glu Asp Ile
225 230 235 240

Gln Leu Thr Cys Tyr Leu Ser Pro Lys Ala Asn Ala Gln Ser Met Glu
245 250 255

Val Arg Trp Asp Arg Ser His Arg Tyr Pro Ala Val His Val Tyr Met
260 265 270

Asp Gly Asp His Val Ala Gly Glu Gln Met Ala Glu Tyr Arg Gly Arg
275 280 285

Thr Val Leu Val Ser Asp Ala Ile Asp Glu Gly Arg Leu Thr Leu Gln
290 295 300

Ile Leu Ser Ala Arg Pro Ser Asp Asp Gly Gln Tyr Arg Cys Leu Phe
305 310 315 320

Glu Lys Asp Asp Val Tyr Gln Glu Ala Ser Leu Asp Leu Lys Val Val
325 330 335

Ser Leu Gly Ser Ser Pro Leu Ile Thr Val Glu Gly Gln Glu Asp Gly
340 345 350

Glu Met Gln Pro Met Cys Ser Ser Asp Gly Trp Phe Pro Gln Pro His
355 360 365

Val Pro Trp Arg Asp Met Glu Gly Lys Thr Ile Pro Ser Ser Ser Gln
370 375 380

Ala Leu Thr Gln Gly Ser His Gly Leu Phe His Val Gln Thr Leu Leu
385 390 395 400

Arg Val Thr Asn Ile Ser Ala Val Asp Val Thr Cys Ser Ile Ser Ile
405 410 415

Pro Phe Leu Gly Glu Glu Lys Ile Ala Thr Phe Ser Leu Ser Gly Trp
420 425 430

<210> 288
<211> 506
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 288

Leu Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr
1 5 10 15

Asp Ala Thr Leu Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu
20 25 30

Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val
35 40 45

His Ser Phe Ala Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg
50 55 60

Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg
65 70 75 80

Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val
85 90 95

Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala
100 105 110

Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg
115 120 125

Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro
130 135 140

Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly
145 150 155 160

Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val
165 170 175

His Ser Ile Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys
180 185 190

Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr
195 200 205

Ile Thr Pro Gln Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro
210 215 220

Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys
225 230 235 240

Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile
245 250 255

Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly
260 265 270

Arg Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp
275 280 285

Leu Leu Ala Gln Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val
290 295 300

Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly
305 310 315 320

Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser
325 330 335

Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr
340 345 350

Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp
355 360 365

Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln
370 375 380

Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val
385 390 395 400

Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val
405 410 415

Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met
420 425 430

Thr Phe Pro Pro Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys
435 440 445

Leu Ile Ala Leu Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile
450 455 460

Lys Gln Ser Cys Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly
465 470 475 480

Glu Gly Glu Gly Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp
485 490 495

Ser Lys Glu Asp Asp Gly Gln Glu Ile Ala
500 505

<210> 289
<211> 258
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 289

Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr
1 5 10 15

Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys
20 25 30

Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu
35 40 45

Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp
50 55 60

Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe
65 70 75 80

Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val
85 90 95

Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys
100 105 110

Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met
115 120 125

Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys
130 135 140

Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln
145 150 155 160

Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu
165 170 175

Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn
180 185 190

Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala
195 200 205

Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg
210 215 220

Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser
225 230 235 240

Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met
245 250 255

Leu Lys

<210> 290

<211> 245
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 290

Leu Pro Ser Cys Lys Glu Asp Glu Tyr Pro Val Gly Ser Glu Cys Cys
1 5 10 15

Pro Lys Cys Ser Pro Gly Tyr Arg Val Lys Glu Ala Cys Gly Glu Leu
20 25 30

Thr Gly Thr Val Cys Glu Pro Cys Pro Pro Gly Thr Tyr Ile Ala His
35 40 45

Leu Asn Gly Leu Ser Lys Cys Leu Gln Cys Gln Met Cys Asp Pro Ala
50 55 60

Met Gly Leu Arg Ala Ser Arg Asn Cys Ser Arg Thr Glu Asn Ala Val
65 70 75 80

Cys Gly Cys Ser Pro Gly His Phe Cys Ile Val Gln Asp Gly Asp His
85 90 95

Cys Ala Ala Cys Arg Ala Tyr Ala Thr Ser Ser Pro Gly Gln Arg Val
100 105 110

Gln Lys Gly Gly Thr Glu Ser Gln Asp Thr Leu Cys Gln Asn Cys Pro
115 120 125

Pro Gly Thr Phe Ser Pro Asn Gly Thr Leu Glu Glu Cys Gln His Gln
130 135 140

Thr Lys Cys Ser Trp Leu Val Thr Lys Ala Gly Ala Gly Thr Ser Ser
145 150 155 160

Ser His Trp Val Trp Trp Phe Leu Ser Gly Ser Leu Val Ile Val Ile
165 170 175

Val Cys Ser Thr Val Gly Leu Ile Ile Cys Val Lys Arg Arg Lys Pro
180 185 190

Arg Gly Asp Val Val Lys Val Ile Val Ser Val Gln Arg Lys Arg Gln
195 200 205

Glu Ala Glu Gly Glu Ala Thr Val Ile Glu Ala Leu Gln Ala Pro Pro
210 215 220

Asp Val Thr Thr Val Ala Val Glu Glu Thr Ile Pro Ser Phe Thr Gly

225 230 235 240

Arg Ser Pro Asn His
245

<210> 291
<211> 392
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 291

Ile Phe Pro Leu Ala Phe Phe Ile Tyr Val Pro Met Asn Glu Gln Ile
1 5 10 15

Val Ile Gly Arg Leu Asp Glu Asp Ile Ile Leu Pro Ser Ser Phe Glu
20 25 30

Arg Gly Ser Glu Val Val Ile His Trp Lys Tyr Gln Asp Ser Tyr Lys
35 40 45

Val His Ser Tyr Tyr Lys Gly Ser Asp His Leu Glu Ser Gln Asp Pro
50 55 60

Arg Tyr Ala Asn Arg Thr Ser Leu Phe Tyr Asn Glu Ile Gln Asn Gly
65 70 75 80

Asn Ala Ser Leu Phe Phe Arg Arg Val Ser Leu Leu Asp Glu Gly Ile
85 90 95

Tyr Thr Cys Tyr Val Gly Thr Ala Ile Gln Val Ile Thr Asn Lys Val
100 105 110

Val Leu Lys Val Gly Val Phe Leu Thr Pro Val Met Lys Tyr Glu Lys
115 120 125

Arg Asn Thr Asn Ser Phe Leu Ile Cys Ser Val Leu Ser Val Tyr Pro
130 135 140

Arg Pro Ile Ile Thr Trp Lys Met Asp Asn Thr Pro Ile Ser Glu Asn
145 150 155 160

Asn Met Glu Glu Thr Gly Ser Leu Asp Ser Phe Ser Ile Asn Ser Pro
165 170 175

Leu Asn Ile Thr Gly Ser Asn Ser Ser Tyr Glu Cys Thr Ile Glu Asn
180 185 190

Ser Leu Leu Lys Gln Thr Trp Thr Gly Arg Trp Thr Met Lys Asp Gly

195 200 205

Leu His Lys Met Gln Ser Glu His Val Ser Leu Ser Cys Gln Pro Val
210 215 220

Asn Asp Tyr Phe Ser Pro Asn Gln Asp Phe Lys Val Thr Trp Ser Arg
225 230 235 240

Met Lys Ser Gly Thr Phe Ser Val Leu Ala Tyr Tyr Leu Ser Ser Ser
245 250 255

Gln Asn Thr Ile Ile Asn Glu Ser Arg Phe Ser Trp Asn Lys Glu Leu
260 265 270

Ile Asn Gln Ser Asp Phe Ser Met Asn Leu Met Asp Leu Asn Leu Ser
275 280 285

Asp Ser Gly Glu Tyr Leu Cys Asn Ile Ser Ser Asp Glu Tyr Thr Leu
290 295 300

Leu Thr Ile His Thr Val His Val Glu Pro Ser Gln Glu Thr Ala Ser
305 310 315 320

His Asn Lys Gly Leu Trp Ile Leu Val Pro Ser Ala Ile Leu Ala Ala
325 330 335

Phe Leu Leu Ile Trp Ser Val Lys Cys Cys Arg Ala Gln Leu Glu Ala
340 345 350

Arg Arg Ser Arg His Pro Ala Asp Gly Ala Gln Gln Glu Arg Cys Cys
355 360 365

Val Pro Pro Gly Glu Arg Cys Pro Ser Ala Pro Asp Asn Gly Glu Glu
370 375 380

Asn Val Pro Leu Ser Gly Lys Val
385 390

<210> 292
<211> 188
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 292

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Phe Leu
115 120 125

Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe Tyr Ser Phe
130 135 140

Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys Arg Ser Pro
145 150 155 160

Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu Pro Glu Cys
165 170 175

Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
180 185

<210> 293
<211> 497
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 293

Val Pro Val Val Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys
1 5 10 15

Ser Pro Thr Ile Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly
20 25 30

Val Thr Trp Gln His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro
35 40 45

Gly His Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp

50 55 60

Gly Pro Arg Pro Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly
65 70 75 80

Leu Arg Ser Gly Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu
85 90 95

Arg Gly Arg Gln Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg
100 105 110

Arg Ala Asp Ala Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg
115 120 125

Ala Leu Ser Cys Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr
130 135 140

Ala Ser Pro Pro Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn
145 150 155 160

Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg
165 170 175

Asn Arg Gly Gln Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His
180 185 190

Leu Ala Glu Ser Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser
195 200 205

Gly Pro Trp Gly Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser
210 215 220

Ile Met Tyr Asn Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu
225 230 235 240

Thr Val Tyr Ala Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu
245 250 255

Pro Ala Gly Val Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro
260 265 270

Pro Gly Gly Gly Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe
275 280 285

Thr Leu Arg Leu Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr
290 295 300

Cys His Ile His Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu
305 310 315 320

Ala Ile Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu
325 330 335

Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe
340 345 350

Val Trp Ser Ser Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro
355 360 365

Trp Leu Glu Ala Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys
370 375 380

Gln Leu Tyr Gln Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr
385 390 395 400

Glu Leu Ser Ser Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala
405 410 415

Leu Pro Ala Gly His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser
420 425 430

Leu Leu Leu Leu Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg
435 440 445

Gln Trp Arg Pro Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro
450 455 460

Pro Gln Ala Gln Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro
465 470 475 480

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln
485 490 495

Leu

<210> 294
<211> 259
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 294

Lys Glu Ser Cys Asp Val Gln Leu Tyr Ile Lys Arg Gln Ser Glu His
1 5 10 15

Ser Ile Leu Ala Gly Asp Pro Phe Glu Leu Glu Cys Pro Val Lys Tyr
20 25 30

Cys Ala Asn Arg Pro His Val Thr Trp Cys Lys Leu Asn Gly Thr Thr
35 40 45

Cys Val Lys Leu Glu Asp Arg Gln Thr Ser Trp Lys Glu Glu Lys Asn
50 55 60

Ile Ser Phe Phe Ile Leu His Phe Glu Pro Val Leu Pro Asn Asp Asn
65 70 75 80

Gly Ser Tyr Arg Cys Ser Ala Asn Phe Gln Ser Asn Leu Ile Glu Ser
85 90 95

His Ser Thr Thr Leu Tyr Val Thr Asp Val Lys Ser Ala Ser Glu Arg
100 105 110

Pro Ser Lys Asp Glu Met Ala Ser Arg Pro Trp Leu Leu Tyr Arg Leu
115 120 125

Leu Pro Leu Gly Gly Leu Pro Leu Leu Ile Thr Thr Cys Phe Cys Leu
130 135 140

Phe Cys Cys Leu Arg Arg His Gln Gly Lys Gln Asn Glu Leu Ser Asp
145 150 155 160

Thr Ala Gly Arg Glu Ile Asn Leu Val Asp Ala His Leu Lys Ser Glu
165 170 175

Gln Thr Glu Ala Ser Thr Arg Gln Asn Ser Gln Val Leu Leu Ser Glu
180 185 190

Thr Gly Ile Tyr Asp Asn Asp Pro Asp Leu Cys Phe Arg Met Gln Glu
195 200 205

Gly Ser Glu Val Tyr Ser Asn Pro Cys Leu Glu Glu Asn Lys Pro Gly
210 215 220

Ile Val Tyr Ala Ser Leu Asn His Ser Val Ile Gly Pro Asn Ser Arg
225 230 235 240

Leu Ala Arg Asn Val Lys Glu Ala Pro Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Cys
245 250 255

Val Arg Ser

<210> 295
<211> 133
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 295

Ile Asn Ile Thr Ser Ser Ala Ser Gln Glu Gly Thr Arg Leu Asn Leu
1 5 10 15

Ile Cys Thr Val Trp His Lys Lys Glu Glu Ala Glu Gly Phe Val Val
20 25 30

Phe Leu Cys Lys Asp Arg Ser Gly Asp Cys Ser Pro Glu Thr Ser Leu
35 40 45

Lys Gln Leu Arg Leu Lys Arg Asp Pro Gly Ile Asp Gly Val Gly Glu
50 55 60

Ile Ser Ser Gln Leu Met Phe Thr Ile Ser Gln Val Thr Pro Leu His
65 70 75 80

Ser Gly Thr Tyr Gln Cys Cys Ala Arg Ser Gln Lys Ser Gly Ile Arg
85 90 95

Leu Gln Gly His Phe Phe Ser Ile Leu Phe Thr Glu Thr Gly Asn Tyr
100 105 110

Thr Val Thr Gly Leu Lys Gln Arg Gln His Leu Glu Phe Ser His Asn
115 120 125

Glu Gly Thr Leu Ser
130

<210> 296
<211> 492
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 296

Gln Leu Thr Thr Glu Ser Met Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
1 5 10 15

Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Gln Leu Phe Gly Tyr Ser
20 25 30

Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Val Gly Tyr
35 40 45

Ala Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Asn Ser Gly Arg
50 55 60

Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln
65 70 75 80

Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val
85 90 95

Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys
100 105 110

Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala
115 120 125

Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Thr Thr Tyr Leu Trp
130 135 140

Trp Ile Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn Asp Thr
165 170 175

Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn Arg Ser
180 185 190

Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Pro Thr Ile
195 200 205

Ser Pro Ser Asp Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Ala Asn Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Cys Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Leu Ile Asn
225 230 235 240

Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr
245 250 255

Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys His Ala Asn Asn Ser Val Thr
260 265 270

Gly Cys Asn Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Ile Val Thr Glu Leu Ser
275 280 285

Pro Val Val Ala Lys Pro Gln Ile Lys Ala Ser Lys Thr Thr Val Thr
290 295 300

Gly Asp Lys Asp Ser Val Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asn Asp Thr Gly
305 310 315 320

Ile Ser Ile Arg Trp Phe Phe Lys Asn Gln Ser Leu Pro Ser Ser Glu
325 330 335

Arg Met Lys Leu Ser Gln Gly Asn Thr Thr Leu Ser Ile Asn Pro Val
340 345 350

Lys Arg Glu Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Cys Glu Val Phe Asn Pro Ile
355 360 365

Ser Lys Asn Gln Ser Asp Pro Ile Met Leu Asn Val Asn Tyr Asn Ala
370 375 380

Leu Pro Gln Glu Asn Gly Leu Ser Pro Gly Ala Ile Ala Gly Ile Val
385 390 395 400

Ile Gly Val Val Ala Leu Val Ala Leu Ile Ala Val Ala Leu Ala Cys
405 410 415

Phe Leu His Phe Gly Lys Thr Gly Arg Ala Ser Asp Gln Arg Asp Leu
420 425 430

Thr Glu His Lys Pro Ser Val Ser Asn His Thr Gln Asp His Ser Asn
435 440 445

Asp Pro Pro Asn Lys Met Asn Glu Val Thr Tyr Ser Thr Leu Asn Phe
450 455 460

Glu Ala Gln Gln Pro Thr Gln Pro Thr Ser Ala Ser Pro Ser Leu Thr
465 470 475 480

Ala Thr Glu Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Lys Gln
485 490

<210> 297
<211> 266
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 297

Gln Glu Glu Asp Leu Pro Arg Pro Ser Ile Ser Ala Glu Pro Gly Thr
1 5 10 15

Val Ile Pro Leu Gly Ser His Val Thr Phe Val Cys Arg Gly Pro Val
20 25 30

Gly Val Gln Thr Phe Arg Leu Glu Arg Glu Ser Arg Ser Thr Tyr Asn
35 40 45

Asp Thr Glu Asp Val Ser Gln Ala Ser Pro Ser Glu Ser Glu Ala Arg
50 55 60

Phe Arg Ile Asp Ser Val Ser Glu Gly Asn Ala Gly Pro Tyr Arg Cys
65 70 75 80

Ile Tyr Tyr Lys Pro Pro Lys Trp Ser Glu Gln Ser Asp Tyr Leu Glu
85 90 95

Leu Leu Val Lys Glu Thr Ser Gly Gly Pro Asp Ser Pro Asp Thr Glu
100 105 110

Pro Gly Ser Ser Ala Gly Pro Thr Gln Arg Pro Ser Asp Asn Ser His
115 120 125

Asn Glu His Ala Pro Ala Ser Gln Gly Leu Lys Ala Glu His Leu Tyr
130 135 140

Ile Leu Ile Gly Val Ser Val Val Phe Leu Phe Cys Leu Leu Leu Leu
145 150 155 160

Val Leu Phe Cys Leu His Arg Gln Asn Gln Ile Lys Gln Gly Pro Pro
165 170 175

Arg Ser Lys Asp Glu Glu Gln Lys Pro Gln Gln Arg Pro Asp Leu Ala
180 185 190

Val Asp Val Leu Glu Arg Thr Ala Asp Lys Ala Thr Val Asn Gly Leu
195 200 205

Pro Glu Lys Asp Arg Glu Thr Asp Thr Ser Ala Leu Ala Ala Gly Ser
210 215 220

Ser Gln Glu Val Thr Tyr Ala Gln Leu Asp His Trp Ala Leu Thr Gln
225 230 235 240

Arg Thr Ala Arg Ala Val Ser Pro Gln Ser Thr Lys Pro Met Ala Glu
245 250 255

Ser Ile Thr Tyr Ala Ala Val Ala Arg His
260 265

<210> 298
<211> 390

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 298

Met Pro Pro Ser Gly Leu Arg Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15

Trp Leu Leu Val Leu Thr Pro Gly Arg Pro Ala Ala Gly Leu Ser Thr
20 25 30

Cys Lys Thr Ile Asp Met Glu Leu Val Lys Arg Lys Arg Ile Glu Ala
35 40 45

Ile Arg Gly Gln Ile Leu Ser Lys Leu Arg Leu Ala Ser Pro Pro Ser
50 55 60

Gln Gly Glu Val Pro Pro Gly Pro Leu Pro Glu Ala Val Leu Ala Leu
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Arg Asp Arg Val Ala Gly Glu Ser Ala Glu Pro Glu
85 90 95

Pro Glu Pro Glu Ala Asp Tyr Tyr Ala Lys Glu Val Thr Arg Val Leu
100 105 110

Met Val Glu Thr His Asn Glu Ile Tyr Asp Lys Phe Lys Gln Ser Thr
115 120 125

His Ser Ile Tyr Met Phe Phe Asn Thr Ser Glu Leu Arg Glu Ala Val
130 135 140

Pro Glu Pro Val Leu Leu Ser Arg Ala Glu Leu Arg Leu Leu Arg Leu
145 150 155 160

Lys Leu Lys Val Glu Gln His Val Glu Leu Tyr Gln Lys Tyr Ser Asn
165 170 175

Asn Ser Trp Arg Tyr Leu Ser Asn Arg Leu Leu Ala Pro Ser Asp Ser
180 185 190

Pro Glu Trp Leu Ser Phe Asp Val Thr Gly Val Val Arg Gln Trp Leu
195 200 205

Ser Arg Gly Gly Glu Ile Glu Gly Phe Arg Leu Ser Ala His Cys Ser
210 215 220

Cys Asp Ser Arg Asp Asn Thr Leu Gln Val Asp Ile Asn Gly Phe Thr
225 230 235 240

Thr Gly Arg Arg Gly Asp Leu Ala Thr Ile His Gly Met Asn Arg Pro
245 250 255

Phe Leu Leu Leu Met Ala Thr Pro Leu Glu Arg Ala Gln His Leu Gln
260 265 270

Ser Ser Arg His Arg Arg Ala Leu Asp Thr Asn Tyr Cys Phe Ser Ser
275 280 285

Thr Glu Lys Asn Cys Cys Val Arg Gln Leu Tyr Ile Asp Phe Arg Lys
290 295 300

Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu Pro Lys Gly Tyr His Ala Asn
305 310 315 320

Phe Cys Leu Gly Pro Cys Pro Tyr Ile Trp Ser Leu Asp Thr Gln Tyr
325 330 335

Ser Lys Val Leu Ala Leu Tyr Asn Gln His Asn Pro Gly Ala Ser Ala
340 345 350

Ala Pro Cys Cys Val Pro Gln Ala Leu Glu Pro Leu Pro Ile Val Tyr
355 360 365

Tyr Val Gly Arg Lys Pro Lys Val Glu Gln Leu Ser Asn Met Ile Val
370 375 380

Arg Ser Cys Lys Cys Ser
385 390

<210> 299
<211> 160
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 299

Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro
1 5 10 15

Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg
20 25 30

Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu
35 40 45

Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala
50 55 60

Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu
85 90 95

Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu
100 105 110

Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe
115 120 125

Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp
130 135 140

Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn
145 150 155 160

<210> 300
<211> 564
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 300

Val Trp Glu Lys Thr Val Asn Thr Glu Glu Asn Val Tyr Ala Thr Leu
1 5 10 15

Gly Ser Asp Val Asn Leu Thr Cys Gln Thr Gln Thr Val Gly Phe Phe
20 25 30

Val Gln Met Gln Trp Ser Lys Val Thr Asn Lys Ile Asp Leu Ile Ala
35 40 45

Val Tyr His Pro Gln Tyr Gly Phe Tyr Cys Ala Tyr Gly Arg Pro Cys
50 55 60

Glu Ser Leu Val Thr Phe Thr Glu Thr Pro Glu Asn Gly Ser Lys Trp
65 70 75 80

Thr Leu His Leu Arg Asn Met Ser Cys Ser Val Ser Gly Arg Tyr Glu
85 90 95

Cys Met Leu Val Leu Tyr Pro Glu Gly Ile Gln Thr Lys Ile Tyr Asn
100 105 110

Leu Leu Ile Gln Thr His Val Thr Ala Asp Glu Trp Asn Ser Asn His
115 120 125

Thr Ile Glu Ile Glu Ile Asn Gln Thr Leu Glu Ile Pro Cys Phe Gln
130 135 140

Asn Ser Ser Ser Lys Ile Ser Ser Glu Phe Thr Tyr Ala Trp Ser Val
145 150 155 160

Glu Asn Ser Ser Thr Asp Ser Trp Val Leu Leu Ser Lys Gly Ile Lys
165 170 175

Glu Asp Asn Gly Thr Gln Glu Thr Leu Ile Ser Gln Asn His Leu Ile
180 185 190

Ser Asn Ser Thr Leu Leu Lys Asp Arg Val Lys Leu Gly Thr Asp Tyr
195 200 205

Arg Leu His Leu Ser Pro Val Gln Ile Phe Asp Asp Gly Arg Lys Phe
210 215 220

Ser Cys His Ile Arg Val Gly Pro Asn Lys Ile Leu Arg Ser Ser Thr
225 230 235 240

Thr Val Lys Val Phe Ala Lys Pro Glu Ile Pro Val Ile Val Glu Asn
245 250 255

Asn Ser Thr Asp Val Leu Val Glu Arg Arg Phe Thr Cys Leu Leu Lys
260 265 270

Asn Val Phe Pro Lys Ala Asn Ile Thr Trp Phe Ile Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Leu His Asp Glu Lys Glu Gly Ile Tyr Ile Thr Asn Glu Glu Arg Lys
290 295 300

Gly Lys Asp Gly Phe Leu Glu Leu Lys Ser Val Leu Thr Arg Val His
305 310 315 320

Ser Asn Lys Pro Ala Gln Ser Asp Asn Leu Thr Ile Trp Cys Met Ala
325 330 335

Leu Ser Pro Val Pro Gly Asn Lys Val Trp Asn Ile Ser Ser Glu Lys
340 345 350

Ile Thr Phe Leu Leu Gly Ser Glu Ile Ser Ser Thr Asp Pro Pro Leu
355 360 365

Ser Val Thr Glu Ser Thr Leu Asp Thr Gln Pro Ser Pro Ala Ser Ser

370 375 380

Val Ser Pro Ala Arg Tyr Pro Ala Thr Ser Ser Val Thr Leu Val Asp
385 390 395 400

Val Ser Ala Leu Arg Pro Asn Thr Thr Pro Gln Pro Ser Asn Ser Ser
405 410 415

Met Thr Thr Arg Gly Phe Asn Tyr Pro Trp Thr Ser Ser Gly Thr Asp
420 425 430

Thr Lys Lys Ser Val Ser Arg Ile Pro Ser Glu Thr Tyr Ser Ser Ser
435 440 445

Pro Ser Gly Ala Gly Ser Thr Leu His Asp Asn Val Phe Thr Ser Thr
450 455 460

Ala Arg Ala Phe Ser Glu Val Pro Thr Thr Ala Asn Gly Ser Thr Lys
465 470 475 480

Thr Asn His Val His Ile Thr Gly Ile Val Val Asn Lys Pro Lys Asp
485 490 495

Gly Met Ser Trp Pro Val Ile Val Ala Ala Leu Leu Phe Cys Cys Met
500 505 510

Ile Leu Phe Gly Leu Gly Val Arg Lys Trp Cys Gln Tyr Gln Lys Glu
515 520 525

Ile Met Glu Arg Pro Pro Pro Phe Lys Pro Pro Pro Pro Pro Ile Lys
530 535 540

Tyr Thr Cys Ile Gln Glu Pro Asn Glu Ser Asp Leu Pro Tyr His Glu
545 550 555 560

Met Glu Thr Leu

<210> 301
<211> 223
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 301

Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln

20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly Ala Met Ala Ala Thr
115 120 125

Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val Val Ala Leu Thr Arg
130 135 140

Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu Gly Asp Leu Arg Arg
145 150 155 160

Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Pro
165 170 175

Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala Gly Leu Cys Gly Glu
180 185 190

Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp Tyr Phe Asn Val Leu
195 200 205

Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe Thr Glu Thr Gly
210 215 220

<210> 302
<211> 233
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 302

Met Asp Asn Gln Gly Val Ile Tyr Ser Asp Leu Asn Leu Pro Pro Asn
1 5 10 15

Pro Lys Arg Gln Gln Arg Lys Pro Lys Gly Asn Lys Asn Ser Ile Leu

20 25 30

Ala Thr Glu Gln Glu Ile Thr Tyr Ala Glu Leu Asn Leu Gln Lys Ala
35 40 45

Ser Gln Asp Phe Gln Gly Asn Asp Lys Thr Tyr His Cys Lys Asp Leu
50 55 60

Pro Ser Ala Pro Glu Lys Leu Ile Val Gly Ile Leu Gly Ile Ile Cys
65 70 75 80

Leu Ile Leu Met Ala Ser Val Val Thr Ile Val Val Ile Pro Ser Thr
85 90 95

Leu Ile Gln Arg His Asn Asn Ser Ser Leu Asn Thr Arg Thr Gln Lys
100 105 110

Ala Arg His Cys Gly His Cys Pro Glu Glu Trp Ile Thr Tyr Ser Asn
115 120 125

Ser Cys Tyr Tyr Ile Gly Lys Glu Arg Arg Thr Trp Glu Glu Ser Leu
130 135 140

Leu Ala Cys Thr Ser Lys Asn Ser Ser Leu Leu Ser Ile Asp Asn Glu
145 150 155 160

Glu Glu Met Lys Phe Leu Ser Ile Ile Ser Pro Ser Ser Trp Ile Gly
165 170 175

Val Phe Arg Asn Ser Ser His His Pro Trp Val Thr Met Asn Gly Leu
180 185 190

Ala Phe Lys His Glu Ile Lys Asp Ser Asp Asn Ala Glu Leu Asn Cys
195 200 205

Ala Val Leu Gln Val Asn Arg Leu Lys Ser Ala Gln Cys Gly Ser Ser
210 215 220

Ile Ile Tyr His Cys Lys His Lys Leu
225 230

<210> 303
<211> 507
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 303

Gln Asp Val Arg Val Gln Val Leu Pro Glu Val Arg Gly Gln Leu Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Glu Leu Pro Cys His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Leu
20 25 30

Tyr Ile Ser Leu Val Thr Trp Gln Arg Pro Asp Ala Pro Ala Asn His
35 40 45

Gln Asn Val Ala Ala Phe His Pro Lys Met Gly Pro Ser Phe Pro Ser
50 55 60

Pro Lys Pro Gly Ser Glu Arg Leu Ser Phe Val Ser Ala Lys Gln Ser
65 70 75 80

Thr Gly Gln Asp Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Ala Thr Leu Ala Leu
85 90 95

His Gly Leu Thr Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Glu Phe Ala
100 105 110

Thr Phe Pro Lys Gly Ser Val Arg Gly Met Thr Trp Leu Arg Val Ile
115 120 125

Ala Lys Pro Lys Asn Gln Ala Glu Ala Gln Lys Val Thr Phe Ser Gln
130 135 140

Asp Pro Thr Thr Val Ala Leu Cys Ile Ser Lys Glu Gly Arg Pro Pro
145 150 155 160

Ala Arg Ile Ser Trp Leu Ser Ser Leu Asp Trp Glu Ala Lys Glu Thr
165 170 175

Gln Val Ser Gly Thr Leu Ala Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Arg Phe
180 185 190

Thr Leu Val Pro Ser Gly Arg Ala Asp Gly Val Thr Val Thr Cys Lys
195 200 205

Val Glu His Glu Ser Phe Glu Glu Pro Ala Leu Ile Pro Val Thr Leu
210 215 220

Ser Val Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asp Asn
225 230 235 240

Trp Tyr Leu Gly Arg Thr Asp Ala Thr Leu Ser Cys Asp Val Arg Ser
245 250 255

Asn Pro Glu Pro Thr Gly Tyr Asp Trp Ser Thr Thr Ser Gly Thr Phe
260 265 270

Pro Thr Ser Ala Val Ala Gln Gly Ser Gln Leu Val Ile His Ala Val
275 280 285

Asp Ser Leu Phe Asn Thr Thr Phe Val Cys Thr Val Thr Asn Ala Val
290 295 300

Gly Met Gly Arg Ala Glu Gln Val Ile Phe Val Arg Glu Thr Pro Asn
305 310 315 320

Thr Ala Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly Ile Ile Gly Gly Ile Ile Ala
325 330 335

Ala Ile Ile Ala Thr Ala Val Ala Ala Thr Gly Ile Leu Ile Cys Arg
340 345 350

Gln Gln Arg Lys Glu Gln Thr Leu Gln Gly Ala Glu Glu Asp Glu Asp
355 360 365

Leu Glu Gly Pro Pro Ser Tyr Lys Pro Pro Thr Pro Lys Ala Lys Leu
370 375 380

Glu Ala Gln Glu Met Pro Ser Gln Leu Phe Thr Leu Gly Ala Ser Glu
385 390 395 400

His Ser Pro Leu Lys Thr Pro Tyr Phe Asp Ala Gly Ala Ser Cys Thr
405 410 415

Glu Gln Glu Met Pro Arg Tyr His Glu Leu Pro Thr Leu Glu Glu Arg
420 425 430

Ser Gly Pro Leu His Pro Gly Ala Thr Ser Leu Gly Ser Pro Ile Pro
435 440 445

Val Pro Pro Gly Pro Pro Ala Val Glu Asp Val Ser Leu Asp Leu Glu
450 455 460

Asp Glu Glu Gly Glu Glu Glu Glu Glu Tyr Leu Asp Lys Ile Asn Pro
465 470 475 480

Ile Tyr Asp Ala Leu Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Asp Ser Tyr Gln Gly
485 490 495

Lys Gly Phe Val Met Ser Arg Ala Met Tyr Val
500 505

<210> 304
<211> 305
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 304

Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe Cys Asn
1 5 10 15

Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala Gln Asn
20 25 30

Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp Ile Tyr
35 40 45

Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp Phe Ser
50 55 60

Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala Ser Leu
65 70 75 80

Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr Thr Cys
85 90 95

Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu Leu Lys
100 105 110

Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu Ile Val
115 120 125

Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe Gly Ile
130 135 140

Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr Ile Ala
145 150 155 160

Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val Gly Ala
165 170 175

Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr Gly Leu
180 185 190

Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His Tyr Tyr
195 200 205

Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala Ile Leu
210 215 220

Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu Ser Leu
225 230 235 240

Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile Ser Gly
245 250 255

Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr Met Lys
260 265 270

Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys Ala Val
275 280 285

Glu Glu Pro Leu Asn Ala Phe Lys Glu Ser Lys Gly Met Met Asn Asp
290 295 300

Glu
305

<210> 305
<211> 474
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 305

Glu Glu Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala
1 5 10 15

Ala Gly Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro
20 25 30

Val Gly Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser
50 55 60

Asp Leu Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn
65 70 75 80

Ile Thr Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys
85 90 95

Gly Ser Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu
100 105 110

Ser Val Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala
115 120 125

Arg Ala Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly
130 135 140

Phe Ser Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu
145 150 155 160

Leu Ser Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser
165 170 175

Tyr Ser Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val
180 185 190

His Ser Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp
195 200 205

Pro Leu Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro
210 215 220

Thr Leu Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn
225 230 235 240

Val Thr Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr
245 250 255

Trp Leu Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val
260 265 270

Thr Glu Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val
275 280 285

Asn Val Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu
290 295 300

His Asp Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser
305 310 315 320

Ala His Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly
325 330 335

Ser Asn Glu Arg Asn Ile Tyr Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu
340 345 350

Leu Val Ala Leu Leu Met Ala Ala Leu Tyr Leu Val Arg Ile Arg Gln
355 360 365

Lys Lys Ala Gln Gly Ser Thr Ser Ser Thr Arg Leu His Glu Pro Glu
370 375 380

Lys Asn Ala Arg Glu Ile Thr Gln Asp Thr Asn Asp Ile Thr Tyr Ala
385 390 395 400

Asp Leu Asn Leu Pro Lys Gly Lys Lys Pro Ala Pro Gln Ala Ala Glu
405 410 415

Pro Asn Asn His Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Gln Thr Ser Pro Gln Pro
420 425 430

Ala Ser Glu Asp Thr Leu Thr Tyr Ala Asp Leu Asp Met Val His Leu
435 440 445

Asn Arg Thr Pro Lys Gln Pro Ala Pro Lys Pro Glu Pro Ser Phe Ser
450 455 460

Glu Tyr Ala Ser Val Gln Val Pro Arg Lys
465 470

<210> 306
<211> 349
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 306

Cys Gln Gly Ser Ala Asp His Val Val Ser Ile Ser Gly Val Pro Leu
1 5 10 15

Gln Leu Gln Pro Asn Ser Ile Gln Thr Lys Val Asp Ser Ile Ala Trp
20 25 30

Lys Lys Leu Leu Pro Ser Gln Asn Gly Phe His His Ile Leu Lys Trp
35 40 45

Glu Asn Gly Ser Leu Pro Ser Asn Thr Ser Asn Asp Arg Phe Ser Phe
50 55 60

Ile Val Lys Asn Leu Ser Leu Leu Ile Lys Ala Ala Gln Gln Gln Asp
65 70 75 80

Ser Gly Leu Tyr Cys Leu Glu Val Thr Ser Ile Ser Gly Lys Val Gln
85 90 95

Thr Ala Thr Phe Gln Val Phe Val Phe Glu Ser Leu Leu Pro Asp Lys
100 105 110

Val Glu Lys Pro Arg Leu Gln Gly Gln Gly Lys Ile Leu Asp Arg Gly
115 120 125

Arg Cys Gln Val Ala Leu Ser Cys Leu Val Ser Arg Asp Gly Asn Val
    130   135   140

Ser Tyr Ala Trp Tyr Arg Gly Ser Lys Leu Ile Gln Thr Ala Gly Asn
145   150   155   160

Leu Thr Tyr Leu Asp Glu Glu Val Asp Ile Asn Gly Thr His Thr Tyr
                165   170   175

Thr Cys Asn Val Ser Asn Pro Val Ser Trp Glu Ser His Thr Leu Asn
            180   185   190

Leu Thr Gln Asp Cys Gln Asn Ala His Gln Glu Phe Arg Phe Trp Pro
        195   200   205

Phe Leu Val Ile Ile Val Ile Leu Ser Ala Leu Phe Leu Gly Thr Leu
    210   215   220

Ala Cys Phe Cys Val Trp Arg Arg Lys Arg Lys Glu Lys Gln Ser Glu
225   230   235   240

Thr Ser Pro Lys Glu Phe Leu Thr Ile Tyr Glu Asp Val Lys Asp Leu
                245   250   255

Lys Thr Arg Arg Asn His Glu Gln Glu Gln Thr Phe Pro Gly Gly Gly
            260   265   270

Ser Thr Ile Tyr Ser Met Ile Gln Ser Gln Ser Ser Ala Pro Thr Ser
        275   280   285

Gln Glu Pro Ala Tyr Thr Leu Tyr Ser Leu Ile Gln Pro Ser Arg Lys
    290   295   300

Ser Gly Ser Arg Lys Arg Asn His Ser Pro Ser Phe Asn Ser Thr Ile
305   310   315   320

Tyr Glu Val Ile Gly Lys Ser Gln Pro Lys Ala Gln Asn Pro Ala Arg
                325   330   335

Leu Ser Arg Lys Glu Leu Glu Asn Phe Asp Val Tyr Ser
            340   345

<210> 307
<211> 651
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 307

Lys Leu Thr Ile Glu Ser Thr Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu
1 5 10 15

Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln His Leu Phe Gly Tyr Ser
20 25 30

Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Ile Gly Tyr
35 40 45

Val Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser Gly Arg
50 55 60

Glu Ile Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Ile Ile Gln
65 70 75 80

Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu His Val Ile Lys Ser Asp Leu Val
85 90 95

Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe Arg Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys
100 105 110

Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala
115 120 125

Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Ala Thr Tyr Leu Trp
130 135 140

Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr Arg Asn Asp Thr
165 170 175

Ala Ser Tyr Lys Cys Glu Thr Gln Asn Pro Val Ser Ala Arg Arg Ser
180 185 190

Asp Ser Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Ala Pro Thr Ile
195 200 205

Ser Pro Leu Asn Thr Ser Tyr Arg Ser Gly Glu Asn Leu Asn Leu Ser
210 215 220

Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Phe Val Asn
225 230 235 240

Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr

245 250 255

Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys Gln Ala His Asn Ser Asp Thr
260 265 270

Gly Leu Asn Arg Thr Thr Val Thr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Glu Pro
275 280 285

Pro Lys Pro Phe Ile Thr Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Glu
290 295 300

Asp Ala Val Ala Leu Thr Cys Glu Pro Glu Ile Gln Asn Thr Thr Tyr
305 310 315 320

Leu Trp Trp Val Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln
325 330 335

Leu Ser Asn Asp Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn
340 345 350

Asp Val Gly Pro Tyr Glu Cys Gly Ile Gln Asn Lys Leu Ser Val Asp
355 360 365

His Ser Asp Pro Val Ile Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Asp Pro
370 375 380

Thr Ile Ser Pro Ser Tyr Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Val Asn Leu Ser
385 390 395 400

Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Leu
405 410 415

Ile Asp Gly Asn Ile Gln Gln His Thr Gln Glu Leu Phe Ile Ser Asn
420 425 430

Ile Thr Glu Lys Asn Ser Gly Leu Tyr Thr Cys Gln Ala Asn Asn Ser
435 440 445

Ala Ser Gly His Ser Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Thr Val Ser Ala
450 455 460

Glu Leu Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Lys Pro Val Glu
465 470 475 480

Asp Lys Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Ala Gln Asn Thr
485 490 495

Thr Tyr Leu Trp Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg
500 505 510

Leu Gln Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Phe Asn Val Thr
515 520 525

Arg Asn Asp Ala Arg Ala Tyr Val Cys Gly Ile Gln Asn Ser Val Ser
530 535 540

Ala Asn Arg Ser Asp Pro Val Thr Leu Asp Val Leu Tyr Gly Pro Asp
545 550 555 560

Thr Pro Ile Ile Ser Pro Pro Asp Ser Ser Tyr Leu Ser Gly Ala Asn
565 570 575

Leu Asn Leu Ser Cys His Ser Ala Ser Asn Pro Ser Pro Gln Tyr Ser
580 585 590

Trp Arg Ile Asn Gly Ile Pro Gln Gln His Thr Gln Val Leu Phe Ile
595 600 605

Ala Lys Ile Thr Pro Asn Asn Asn Gly Thr Tyr Ala Cys Phe Val Ser
610 615 620

Asn Leu Ala Thr Gly Arg Asn Asn Ser Ile Val Lys Ser Ile Thr Val
625 630 635 640

Ser Ala Ser Gly Thr Ser Pro Gly Leu Ser Ala
645 650

<210> 308
<211> 355
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 308

Met Ala Phe Ser Gly Ser Gln Ala Pro Tyr Leu Ser Pro Ala Val Pro
1 5 10 15

Phe Ser Gly Thr Ile Gln Gly Gly Leu Gln Asp Gly Leu Gln Ile Thr
20 25 30

Val Asn Gly Thr Val Leu Ser Ser Ser Gly Thr Arg Phe Ala Val Asn
35 40 45

Phe Gln Thr Gly Phe Ser Gly Asn Asp Ile Ala Phe His Phe Asn Pro
50 55 60

Arg Phe Glu Asp Gly Gly Tyr Val Val Cys Asn Thr Arg Gln Asn Gly
65 70 75 80

Ser Trp Gly Pro Glu Glu Arg Lys Thr His Met Pro Phe Gln Lys Gly
85 90 95

Met Pro Phe Asp Leu Cys Phe Leu Val Gln Ser Ser Asp Phe Lys Val
100 105 110

Met Val Asn Gly Ile Leu Phe Val Gln Tyr Phe His Arg Val Pro Phe
115 120 125

His Arg Val Asp Thr Ile Ser Val Asn Gly Ser Val Gln Leu Ser Tyr
130 135 140

Ile Ser Phe Gln Asn Pro Arg Thr Val Pro Val Gln Pro Ala Phe Ser
145 150 155 160

Thr Val Pro Phe Ser Gln Pro Val Cys Phe Pro Pro Arg Pro Arg Gly
165 170 175

Arg Arg Gln Lys Pro Pro Gly Val Trp Pro Ala Asn Pro Ala Pro Ile
180 185 190

Thr Gln Thr Val Ile His Thr Val Gln Ser Ala Pro Gly Gln Met Phe
195 200 205

Ser Thr Pro Ala Ile Pro Pro Met Met Tyr Pro His Pro Ala Tyr Pro
210 215 220

Met Pro Phe Ile Thr Thr Ile Leu Gly Gly Leu Tyr Pro Ser Lys Ser
225 230 235 240

Ile Leu Leu Ser Gly Thr Val Leu Pro Ser Ala Gln Arg Phe His Ile
245 250 255

Asn Leu Cys Ser Gly Asn His Ile Ala Phe His Leu Asn Pro Arg Phe
260 265 270

Asp Glu Asn Ala Val Val Arg Asn Thr Gln Ile Asp Asn Ser Trp Gly
275 280 285

Ser Glu Glu Arg Ser Leu Pro Arg Lys Met Pro Phe Val Arg Gly Gln
290 295 300

Ser Phe Ser Val Trp Ile Leu Cys Glu Ala His Cys Leu Lys Val Ala
305 310 315 320

Val Asp Gly Gln His Leu Phe Glu Tyr Tyr His Arg Leu Arg Asn Leu
325 330 335

Pro Thr Ile Asn Arg Leu Glu Val Gly Gly Asp Ile Gln Leu Thr His
340 345 350

Val Gln Thr
355

<210> 309
<211> 119
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH антитела к OX40

<400> 309

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Leu Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 310
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VL антитела к OX40

<400> 310

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 311
<211> 121
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> VH антитела к OX40

<400> 311

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Lys Asp Tyr
20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

```
Ala Arg Met Gly Tyr His Gly Pro His Leu Asp Phe Asp Val Trp Gly
            100                 105                 110


Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120


<210>  312
<211>  107
<212>  PRT
<213>  Искусственная последовательность

<220>
<223>  VL антитела к OX40

<400>  312

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15


Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Ala Ala
            20                  25                  30


Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45


Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60


Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80


Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Asn Tyr Pro Leu
                85                  90                  95


Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело-антагонист, специфически связывающее PD-1, или его антигенсвязывающий участок, содержащее определяющую комплементарность область тяжелой цепи 1 (HCDR1), HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 10, 14 и 17, соответственно, и определяющую комплементарность область легкой цепи 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 23, 26 и 32, соответственно.

2. Антитело или его антигенсвязывающий участок по п.1, где антитело имеет одно, два, три, четыре или пять из следующих свойств:

a) усиливает активацию специфичных к антигену Т-клеток $CD4^+$ или $CD8^+$ дозозависимым образом, где активацию измеряют с помощью анализа с антигеном цитомегаловируса (анализ ЦМВ);

b) связывает PD-1 человека с равновесной константой диссоциации (K_D) менее около 100 нМ, где K_D измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

c) связывает PD-1 человека с K_D менее около 1 нМ, где K_D измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C;

d) связывает PD-1 яванского макака с SEQ ID NO: 3 с K_D менее около 100 нМ, где K_D измеряют с помощью системы ProteOn XPR36 при +25°C; или

e) связывает PD-1 яванского макака с SEQ ID NO: 3 с K_D менее около 1 нМ, где K_D измеряют с по-

мощью системы ProteOn XPR36 при + 25°C.

3. Антитело или его антигенсвязывающий участок по п.1 или 2, содержащие

a) вариабельную область тяжелой цепи (VH) с SEQ ID NO: 48;

b) вариабельную область легкой цепи (VL) с SEQ ID NO: 56; или

c) VH с SEQ ID NO: 48 и VL с SEQ ID NO: 56.

4. Антитело или его антигенсвязывающий участок по любому из пп.1-3, где антитело является человеческим или гуманизированным.

5. Антитело или его антигенсвязывающий участок по любому из пп.1-4, где антитело относится к

a) изотипу IgG1, содержащему одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в области Fc;

b) изотипу IgG2, содержащему одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в области Fc;

c) изотипу IgG3, содержащему одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в области Fc;

d) изотипу IgG4, содержащему одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в области Fc;

e) изотипу IgG1, содержащему замены L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S и P331S;

f) изотипу IgG2, содержащему замены V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S и P331S;

g) изотипу IgG4, содержащему замены F234A, L235A, G237A, P238S и Q268A;

h) изотипу IgG1, содержащему замены L234A, L235A или L234A, и L235A;

i) изотипу IgG4, содержащему замены F234A, L235A или F234A, и L235A;

j) изотипу IgG2, содержащему замену V234A;

k) изотипу IgG4, содержащему замену S228P; или

l) изотипу IgG4, содержащему замены S228P, F234A и L235A, где нумерация остатков соответствует каталогу EU.

6. Антитело или его антигенсвязывающий участок по любому из пп.1-5, содержащие тяжелую цепь (HC) с SEQ ID NO: 72 и легкую цепь (LC) с SEQ ID NO: 73.

7. Биспецифическое антитело, содержащее антитело или его антигенсвязывающий участок по любому из пп.1-6, где антитело связывается с PD-L1 (SEQ ID NO: 5), PD-L2 (SEQ ID NO: 8), LAG-3 (SEQ ID NO: 293), TIM-3 (SEQ ID NO: 138), CEACAM-1 (SEQ ID NO: 296), CEACAM-5 (SEQ ID NO: 307), OX-40 (SEQ ID NO: 279), GITR (SEQ ID NO: 271), CD27 (SEQ ID NO: 280), VISTA (SEQ ID NO: 286), CD137 (SEQ ID NO: 281), TIGIT (SEQ ID NO: 301) или CTLA-4 (SEQ ID NO: 292).

8. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий участок по любому из пп.1-6 или биспецифическое антитело по п.7 и фармацевтически приемлемый носитель.

9. Полинуклеотид, кодирующий вариабельные области тяжелой и легкой цепей антитела или его антегенсвязывающего участка по любому из пп.1-6, причем VH характеризуется SEQ ID NO: 48, а VL - SEQ ID NO: 56.

10. Вектор экспрессии, содержащий полинуклеотид по п.9.

11. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п.10.

12. Способ получения антитела-антагониста, специфически связывающего PD-1, или его антигенсвязывающего участка, который включает в себя культивирование клетки-хозяина по п.11 в условиях, когда экспрессируется антитело, его антигенсвязывающий участок, и выделение антитела или его антигенсвязывающего участка, продуцируемого клеткой-хозяином.

13. Способ лечения рака у индивида, включающий в себя введение терапевтически эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающего участка по любому из пп.1-6 или биспецифического антитела по п.7 или фармацевтической композиции по п.8 этому индивиду в течение времени, достаточного для лечения рака.

14. Способ по п.13, в котором рак представляет собой солидную опухоль или гематологическую злокачественную опухоль.

15. Способ по п.13 или 14, в котором солидная опухоль представляет собой меланому, рак легкого, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), неплоскоклеточный NSCLC, колоректальный рак, рак предстательной железы, устойчивый к кастрации рак предстательной железы, рак желудка, рак яичника, рак желудка, рак печени, рак поджелудочной железы, рак щитовидной железы, плоскоклеточную карциному головы и шеи, карциномы пищевода или желудочно-кишечного тракта, рак молочной железы, рак фаллопиевой трубы, рак головного мозга, рак уретры, урогенитальный рак, эндометриоз, рак шейки матки или метастатическое раковое поражение.

16. Способ по п.13 или 14, в котором гематологическая злокачественная опухоль представляет собой лимфому, миелому или лейкоз.

17. Способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий в себя введение терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего участка по любому из пп.1-6 или биспецифического антитело по п.7 или фармацевтической композиции по п.8 требующему этого субъекту в течение времени, достаточного для усиления иммунного ответа.

18. Способ по п.17, в котором субъект имеет рак или вирусную инфекцию.

19. Способ по любому из пп.13-18, предусматривающий дополнительное введение второго терапевтического агента, который представляет собой

a) стандартное лекарственное средство для лечения солидной опухоли или гематологической злокачественной опухоли;

b) агонист молекулы, активирующей Т-клетки;

c) агонист CD86 (SEQ ID NO: 264), CD80 (SEQ ID NO: 265), CD28 (SEQ ID NO: 266), ICOS (SEQ ID NO: 267), лиганд ICOS (SEQ ID NO: 268), TMIGD2 (SEQ ID NO: 269), CD40 (SEQ ID NO: 270), GITR (SEQ ID NO: 271), лиганд 4-1BB (SEQ ID NO: 271), лиганд OX40 (SEQ ID NO: 272), CD70 (SEQ ID NO: 274), CD40L (SEQ ID NO: 275), TNFRSF25 (SEQ ID NO: 264), LIGHT (SEQ ID NO: 277), лиганд GITR (SEQ ID NO: 278), OX-40 (SEQ ID NO: 279), CD27 (SEQ ID NO: 280), CD137 (SEQ ID NO: 281), NKG2D (SEQ ID NO: 282), CD48 (SEQ ID NO: 283), CD226 (SEQ ID NO: 284) или MICA (SEQ ID NO: 285);

d) ингибитор молекулы, ингибирующей Т-клетки;

e) ингибитор PD-1 (SEQ ID NO: 1), PD-L1 (SEQ ID NO: 5), PD-L2 (SEQ ID NO: 8), VISTA (SEQ ID NO: 286), BTNL2 (SEQ ID NO: 287), B7-H3 (SEQ ID NO: 288), B7-H4 (SEQ ID NO: 289), HVEM (SEQ ID NO: 290), HHLA2 (SEQ ID NO: 291), CTLA-4 (SEQ ID NO: 292), LAG-3 (SEQ ID NO: 293), TIM-3 (SEQ ID NO: 138), BTLA (SEQ ID NO: 294), CD160 (SEQ ID NO: 295), CEACAM-1 (SEQ ID NO: 296), LAIR1 (SEQ ID NO: 297), TGFβ (SEQ ID NO: 298), IL-10 (SEQ ID NO: 299), CD96 (SEQ ID NO: 300), TIGIT (SEQ ID NO: 301), NKG2A (SEQ ID NO: 302), CD112 (SEQ ID NO: 303), CD47 (SEQ ID NO: 304), SIRPA (SEQ ID NO: 305) или CD244 (SEQ ID NO: 306);

f) антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3;

g) антитело-антагонист, специфически связывающее TIM-3, которое содержит VH и VL с

i) SEQ ID NO: 145 и 155, соответственно;

ii) SEQ ID NO: 146 и 156, соответственно;

iii) SEQ ID NO: 148 и 157, соответственно;

iv) SEQ ID NO: 147 и 155, соответственно;

v) SEQ ID NO: 149 и 158, соответственно;

vi) SEQ ID NO: 150 и 159, соответственно;

vii) SEQ ID NO: 151 и 160, соответственно;

viii) SEQ ID NO: 152 и 161, соответственно;

ix) SEQ ID NO: 153 и 162, соответственно;

x) SEQ ID NO: 154 и 163, соответственно; или

xi) SEQ ID NO: 172 и 173, соответственно;

h) ингибитор рецептора фактора роста фибробластов (FGFR);

i) вакцину;

j) антитело-агонист, специфически связывающее GITR;

k) антитело-агонист, специфически связывающее OX40;

l) антитело-агонист, специфически связывающее OX40, которое содержит VH и VL с SEQ ID NO: 309 и 310 соответственно;

m) антитело-агонист, специфически связывающее OX40, которое содержит VH и VL с SEQ ID NO: 311 и 312 соответственно;

n) антитело-агонист, специфически связывающее CD137.

20. Способ по п.19, где второй терапевтический агент представляет собой гемцитабин.

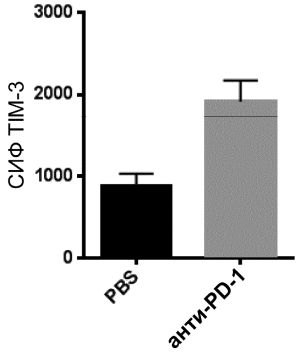
21. Способ по любому из пп.13-20, в котором антитело или его антигенсвязывающий участок и второй терапевтический агент вводят одновременно или раздельно.

22. Способ по п.21, в котором антитело или его антигенсвязывающий участок и второй терапевтический агент вводят последовательно.

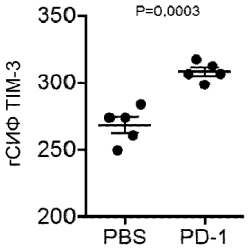
23. Способ по любому из пп.13-18, предусматривающий дополнительную радиационную терапию или хирургию.

24. Антиидиотипическое антитело, связывающееся с антителом или его антигенсвязывающим участком по любому из пп.1-6 или с биспецифическим антителом по п.7.

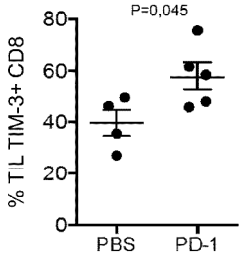
25. Диагностический набор, содержащий антитело по любому из пп.1-6 или биспецифическое антитело по п.7 и инструкцию по применению.



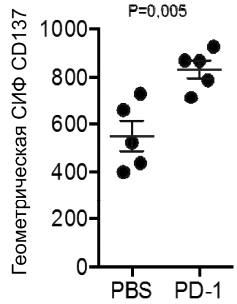
Фиг. 1A



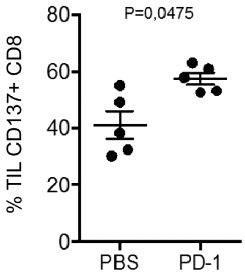
Фиг. 1B



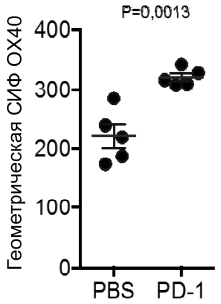
Фиг. 1C



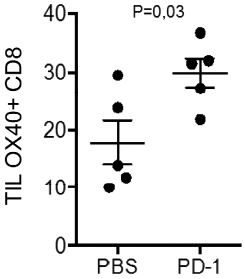
Фиг. 2A



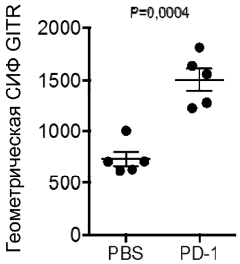
Фиг. 2B



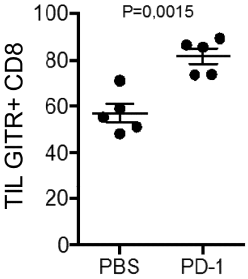
Фиг. 3A



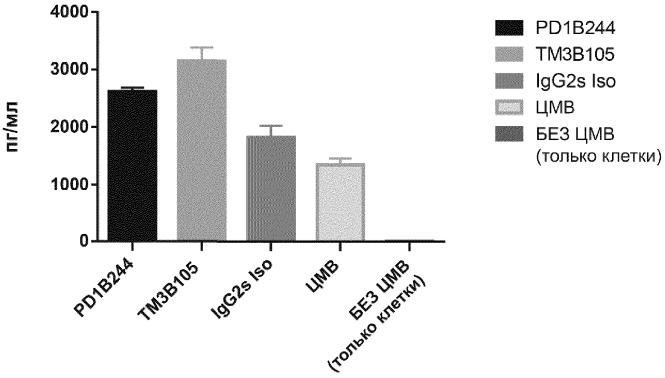
Фиг. 3B



Фиг. 4A



Фиг. 4B



Фиг. 5

Антитело	HCDR1					
	Последовательность					SEQ ID NO:
PD1B114	S	Y	A	I	S	10
PD1B149	S	Y	A	I	S	10
PD1B160	S	Y	A	I	S	10
PD1B162	S	Y	A	I	S	10
PD1B164	S	Y	A	I	S	10
PD1B11	S	Y	A	I	S	10
PD1B183	S	Y	A	I	S	10
PD1B184	S	Y	A	I	S	10
PD1B185	S	Y	A	I	S	10
PD1B187	S	Y	A	I	S	10
PD1B71	S	Y	A	I	S	10
PD1B177	D	Y	V	I	S	11
PD1B70	S	Y	A	I	S	10
PD1B175	S	Y	V	I	H	12
PD1B194	S	Y	A	I	S	10
PD1B195	S	Y	A	I	S	10
PD1B196	S	Y	A	I	S	10
PD1B197	S	Y	V	I	H	12
PD1B198	S	Y	V	I	H	12
PD1B199	D	Y	V	I	S	11
PD1B200	D	Y	V	I	S	11
PD1B201	D	Y	V	I	S	11
Род HCDR1	X_1	Y	X_2	I	X_3	82

Родовая последовательность HCDR1 mAb PD-1:

$X_1YX_2IX_3$ (SEQ ID NO: 82),

где

X_1 представляет собой S или D;

X_2 представляет собой V или A; и

X_3 представляет собой H или S.

Фиг. 6

Антитело	HCDR2																	
	Последовательность																	SEQ ID NO:
PD1B114	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B149	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B160	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B162	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B164	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B11	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B183	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B184	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B185	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B187	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B71	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B177	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15
PD1B70	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B175	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B194	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B195	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B196	G	I	I	P	I	F	D	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	14
PD1B197	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B198	G	I	I	P	I	F	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	13
PD1B199	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15
PD1B200	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15
PD1B201	G	I	I	P	I	Y	G	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	15
Род HCDR2	G	I	I	P	I	X_4	X_5	T	A	N	Y	A	Q	K	F	Q	G	83

Родовая последовательность HCDR2 mAb PD-1:

GIIPIX_4X_5TANYAQKFQG (SEQ ID NO: 83),

где

X_4 представляет собой Y или F; и

X_5 представляет собой G или D.

Фиг. 7

Антитело	HCDR3														
	Последовательность														SEQ ID NO:
PD1B114	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B149	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B160	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B162	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B164	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	N	L	D	Y	16
PD1B11	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B183	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B184	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B185	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B187	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B194	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B195	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
PD1B196	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	S	L	D	Y	17
HCDR3, род 1	P	G	L	A	A	A	Y	D	T	G	X_6	L	D	Y	84

HCDR3 mAb PD-1, род 1

PGLAAAYDTGX_6LDY (SEQ ID NO: 84),

где

X_6 представляет собой N или S.

Фиг. 8

Антитело	HCDR3											
	Последовательность											SEQ ID NO:
PD1B71	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y	18
PD1B177	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y	18
PD1B70	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y	19
PD1B175	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y	19
PD1B197	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y	19
PD1B198	G	Y	V	R	A	T	G	M	L	D	Y	19
PD1B199	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y	18
PD1B200	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y	18
PD1B201	G	T	L	D	R	T	G	H	L	D	Y	18
HCDR3, род 2	G	X_7	X_8	X_9	X_{10}	T	G	X_{11}	L	D	Y	85

HCDR3 mAb PD-1, род 2

G$X_7X_8X_9X_{10}$TGX_{11}LDY (SEQ ID NO; 85),

где

X_7 представляет собой T или Y;

X_8 представляет собой L или V;

X_9 представляет собой D или R;

X_{10} представляет собой R или A; и

X_{11} представляет собой H или M.

Фиг. 9

Антитело	LCDR1											
	Последовательность											SEQ ID NO:
PD1B114	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B149	R	A	S	Q	S	V	R	N	Y	L	A	21
PD1B160	R	A	S	Q	S	V	D	S	Y	L	A	22
PD1B162	R	A	S	Q	S	V	D	S	Y	L	A	22
PD1B164	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B11	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B183	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B184	R	A	S	Q	S	V	R	N	Y	L	A	21
PD1B185	R	A	S	Q	S	V	R	N	Y	L	A	21
PD1B187	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B71	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B177	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B70	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B175	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B194	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B195	R	A	S	Q	S	V	D	S	Y	L	A	22
PD1B196	R	A	S	Q	S	V	R	S	Y	L	A	23
PD1B197	R	A	S	Q	S	V	S	N	Y	L	A	24
PD1B198	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B199	R	A	S	Q	S	V	S	S	Y	L	A	20
PD1B200	R	A	S	Q	S	V	D	N	Y	L	A	25
PD1B201	R	A	S	Q	S	V	S	N	Y	L	A	24
Род LCDR1	R	A	S	Q	S	V	X_{12}	X_{13}	Y	L	A	86

Род LCDR1 mAb PD-1

RASQSV$X_{12}X_{13}$YLA (SEQ ID NO: 86),

где

X_{12} представляет собой S, R или D; и

X_{13} представляет собой S или N.

Фиг. 10

Антитело	LCDR2							
	Последовательность							SEQ ID NO:
PD1B114	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B149	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B160	D	A	S	D	R	A	T	27
PD1B162	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B164	D	A	S	Y	R	A	T	28
PD1B11	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B183	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B184	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B185	D	A	S	D	R	A	T	27
PD1B187	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B71	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B177	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B70	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B175	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B194	D	A	S	Y	R	A	T	28
PD1B195	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B196	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B197	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B198	D	A	S	S	R	A	T	29
PD1B199	D	A	S	T	R	A	T	30
PD1B200	D	A	S	N	R	A	T	26
PD1B201	D	A	S	N	R	A	T	26
Род LCDR2	D	A	S	X_{14}	R	A	T	87

Род LCDR2 mAb PD-1

$DASX_{14}RAT$ (SEQ ID NO: 87),

где

X_{14} представляет собой N, D, Y, S или T.

Фиг. 11

Антитело	LCDR3									
	Последовательность									SEQ ID NO:
PD1B114	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B149	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B160	Q	Q	R	G	N	W	P	L	T	33
PD1B162	Q	Q	R	E	Y	W	P	L	T	34
PD1B164	Q	Q	R	D	Y	W	P	L	T	35
PD1B11	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B183	Q	Q	R	G	Y	W	P	L	T	36
PD1B184	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B185	Q	Q	R	W	N	W	P	L	T	37
PD1B187	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B71	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B177	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B70	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B175	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	31
PD1B194	Q	Q	R	D	Y	W	P	L	T	35
PD1B195	Q	Q	R	E	Y	W	P	L	T	34
PD1B196	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B197	Q	Q	R	A	Y	W	P	L	T	38
PD1B198	Q	Q	R	A	E	W	P	L	T	39
PD1B199	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
PD1B200	Q	Q	R	S	A	W	P	L	T	40
PD1B201	Q	Q	R	N	Y	W	P	L	T	32
Род LCDR3	Q	Q	R	X_{15}	X_{16}	W	P	L	T	88

Род LCDR3 mAb PD-1:

$QQRX_{15}X_{16}WPLT$ (SEQ ID NO: 88),

где

X_{15} представляет собой S, N, G, E, D, W, E или A; и

X_{16} представляет собой N, Y, E или A.

Фиг. 12

Название mAb	HCDR1						
	Последовательность						SEQ ID NO:
TM3B103	N	Y	W	M	S		90
TM3B105	S	Y	A	M	S		91
TM3B109	S	Y	A	M	S		91
TM3B108	G	Y	W	M	H		92
TM3B113	D	Y	W	M	S		93
Род HCDR1	X_{17}	Y	X_{18}	M	X_{19}		164

Род HCDR1 mAb TIM3:

$X_{17}YX_{18}MX_{19}$ (SEQ ID NO: 164),

где

X_{17} представляет собой N, S, G или D;

X_{18} представляет собой W или A; и

X_{19} представляет собой S или H.

Фиг. 13

mAb	HCDR2																	
	Последовательность																	SEQ ID NO:
TM3B103	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	99
TM3B105	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	99
TM3B109	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	99
TM3B108	A	I	S	Y	S	G	S	S	T	Y	Y	A	D	S	V	K	G	100
TM3B113	V	I	K	Y	S	G	G	S	K	Y	Y	A	D	S	V	K	G	101
Род HCDR2	X_{20}	I	X_{21}	X_{22}	S	G	G	S	X_{23}	Y	Y	A	D	S	V	K	G	165

Род HCDR2 mAb TIM-3

$X_{20}IX_{21}X_{22}SGGSX_{23}YYADSVKG$ (SEQ ID NO: 165),

где

X_{20} представляет собой A или V;

X_{21} представляет собой S или K;

X_{22} представляет собой G или Y; и

X_{23} представляет собой T или K.

Фиг. 14

mAb	HCDR3										
	Последовательность										SEQ ID NO:
TM3B103	D	H	W	D	P	N	F	L	D	Y	107
TM3B105	S	P	-	-	Y	A	P	L	D	Y	108
TM3B109	N	E	E	P	D	D	R	L	D	Y	109
TM3B108	G	T	N				W	L	D	Y	110
TM3B113	E	L	E			G	V	F	D	Y	111
Род HCDR3	X_{24}	X_{25}	X_{26}	X_{27}	X_{28}	X_{29}	X_{30}	X_{31}	D	Y	166

$X_{24}X_{25}X_{26}X_{27}X_{28}X_{29}X_{30}X_{31}$DY (SEQ ID NO: 166),

где

X_{24} представляет собой D, S, N, G или E;

X_{25} представляет собой H, P, E, T или L;

X_{26} представляет собой W, E, N или удален;

X_{27} представляет собой D, P или удален;

X_{28} представляет собой P, Y, D или удален;

X_{29} представляет собой N, A, D, G или удален;

X_{30} представляет собой F, P, R, W или V; и

X_{31} представляет собой L или F.

Фиг. 15

mAb	LCDR1																	
	Последовательность																	SEQ ID NO:
TM3B103	R	A	S	Q	S	V	S	S	-					S	Y	L	A	117
TM3B105	R	A	S	Q	S	V	N	-						D	Y	L	A	118
TM3B109	K	S	S	Q	S	V	L	A	S	S	N	N	K	N	Y	L	A	119
TM3B108	R	A	S	Q	S	V	S	S						S	Y	L	A	117
TM3B113	R	A	S	Q	S	V	S	N						S	T	L	A	120
Род LCDR1	X_{32}	X_{33}	S	Q	S	V	X_{34}	X_{35}	X_{36}	X_{37}	X_{38}	X_{39}	X_{40}	X_{41}	X_{42}	L	A	167

$X_{32}X_{33}SQSVX_{34}X_{35}X_{36}X_{37}X_{38}X_{39}X_{40}X_{41}X_{42}LA$ (SEQ ID NO: 167),

где

X_{32} представляет собой R или K;

X_{33} представляет собой A или S;

X_{34} представляет собой S, N или L;

X_{35} представляет собой S, A, N или удален;

X_{36} представляет собой S или удален;

X_{37} представляет собой S или удален;

X_{38} представляет собой N или удален;

X_{39} представляет собой N или удален;

X_{40} представляет собой K или удален;

X_{41} представляет собой S, D или N; и

X_{42} представляет собой Y или T.

Фиг. 16

mAb	LCDR2							
	Последовательность							SEQ ID NO:
TM3B103	G	A	S	S	R	A	T	126
TM3B105	D	A	S	N	R	A	T	127
TM3B109	W	A	S	T	R	E	S	128
TM3B108	G	A	S	S	R	A	T	126
TM3B113	T	A	S	S	R	A	T	129
Род LCDR2	X_{43}	A	S	X_{44}	R	X_{45}	X_{46}	168

Род LCDR2 mAb TIM-3

$X_{43}ASX_{44}RX_{45}X_{46}$ (SEQ ID NO: 168),

где

X_{43} представляет собой G, D, W или T;

X_{44} представляет собой S, N или T;

X_{45} представляет собой A или E; и

X_{46} представляет собой T или S.

Фиг. 17

mAb	LCDR3									
	Последовательность									SEQ ID NO:
TM3B103	Q	Q	Y	G	S	S	P	L	T	135
TM3B105	Q	Q	G	G	H	A	P	I	T	136
TM3B109	Q	Q	Y	Y	S	T	P	L	T	137
TM3B108	Q	Q	Y	G	S	S	P	L	T	138
TM3B113	Q	Q	S	Y	T	S	P	W	T	139
Род LCDR3	Q	Q	X_{47}	X_{48}	X_{49}	X_{50}	P	X_{51}	T	169

$QQX_{47}X_{48}X_{49}X_{50}PX_{51}T$ (SEQ ID NO: 169),

где

X_{47} представляет собой Y, G или S;

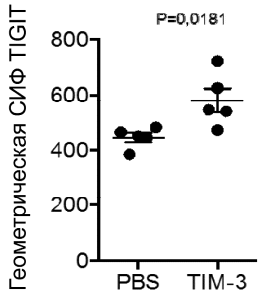
X_{48} представляет собой G или Y;

X_{49} представляет собой S, H или T;

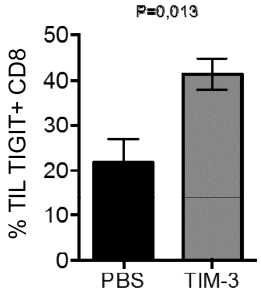
X_{50} представляет собой S, A или T; и

X_{51} представляет собой L, I или W.

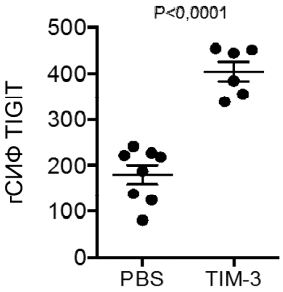
Фиг. 18



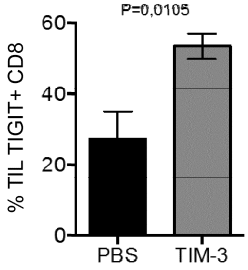
Фиг. 19A



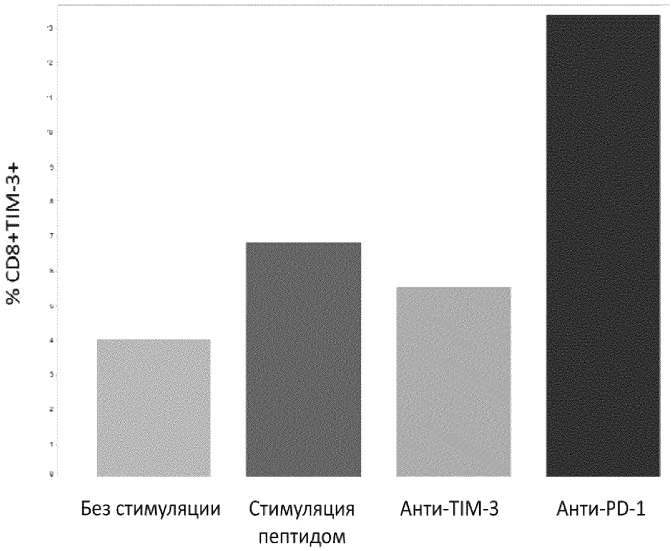
Фиг. 19B



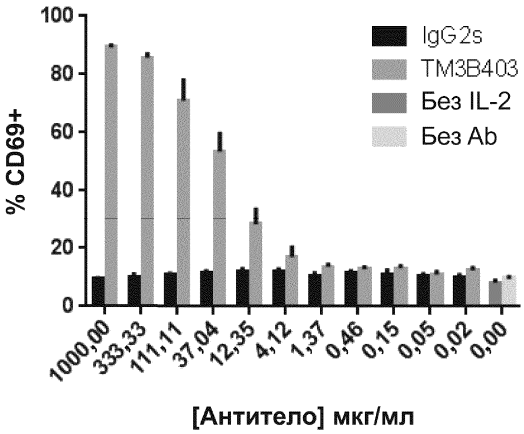
Фиг. 20A



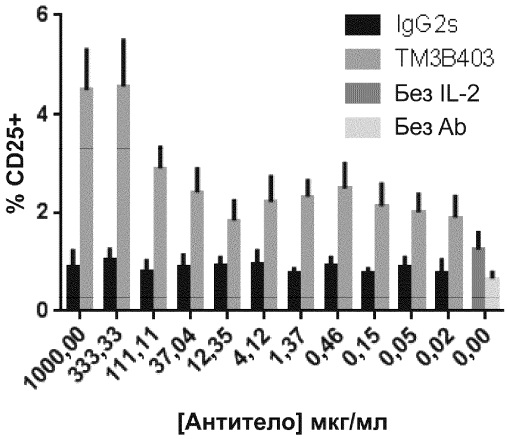
Фиг. 20B



Фиг. 21



Фиг. 22A



Фиг. 22B