

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202292736 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2023.02.10

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

(22) Дата подачи заявки  
2021.04.29

(54) СВЯЗЫВАЮЩИЕ ИЛТ АГЕНТЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/019,068; 63/122,848

(32) 2020.05.01; 2020.12.08

(33) US

(86) PCT/US2021/029866

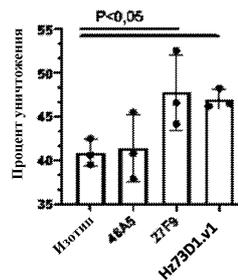
(87) WO 2021/222544 2021.11.04

(71) Заявитель:  
НДЖМ БИОФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,  
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Дьюи Дана Йен Мэй, Эбенс, мл.,  
Аллен Джеймс, Каплан Дэниел Дэвид,  
Лам Чиа-Йин Као, Мондал Калиани,  
Стоун Джоффри Уилльям, Ван Янь  
(US)

(74) Представитель:  
Поликарпов А.В., Соколова М.В.,  
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев  
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,  
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) В настоящем изобретении предложены связывающие агенты, такие как антитела, которые специфически связывают ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4, а также композиции, содержащие связывающие агенты, и способы их применения. В изобретении также предложены родственные полинуклеотиды и векторы, кодирующие связывающие агенты, и клетки, содержащие указанные связывающие агенты.



A1

202292736

202292736

A1

## **СВЯЗЫВАЮЩИЕ ILT АГЕНТЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

### **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ ЗАЯВКУ**

Настоящая заявка заявляет приоритет согласно заявке на патент США № 63/019068, поданной 01 мая 2020 г. и предварительной заявке на патент США № 63/122848, поданной 8 декабря 2020 г., содержание обеих из которых включено в данный документ посредством ссылки во всей их полноте.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

Данное описание подается вместе с копией Перечня последовательностей в машиночитаемом формате (МЧФ). CRF под названием 47702-0094WO1\_SL.txt, созданный 26 апреля 2021 г. и имеющий размер 181988 байт, полностью включен в данный документ посредством ссылки.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ**

**[0001]** Настоящее изобретение в целом относится к агентам, которые связывают белки иммуноглобулин-подобные транскрипты (ILT), в частности к антителам, которые связываются с ILT2 человека, ILT4 человека и как ILT2 человека, так и ILT4 человека, а также к композициям, содержащим связывающие ILT агенты, и способам применения связывающих агентов и композиций.

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

**[0002]** Основой иммунотерапии является манипулирование и/или модулирование иммунной системы, включая как врожденные, так и адаптивные иммунные ответы. Общая цель иммунотерапии заключается в лечении заболеваний путем контроля иммунного ответа на «чужеродный агент», например, на патоген или опухолевые клетки. Однако в некоторых случаях иммунотерапия используется для лечения аутоиммунных заболеваний, которые могут возникать в результате аномального иммунного ответа против белков, молекул и/или тканей, как правило, присутствующих в организме. Иммунотерапия может включать способы индукции или усиления специфических иммунных ответов или ингибирования или ослабления специфических иммунных ответов.

**[0003]** Иммунная система представляет собой очень сложную систему, состоящую из большого количества типов клеток, включая, помимо прочего, Т-клетки, субпопуляции Т-

клеток, В-клетки, натуральные клетки-киллеры, антигенпрезентирующие клетки, дендритные клетки, моноциты и макрофаги. Эти клетки обладают сложными и тонкими системами для контроля их взаимодействий и ответов. Клетки используют как активирующие, так и ингибирующие механизмы и петли обратной связи, чтобы держать ответы под контролем и не допускать негативных последствий неконтролируемого иммунного ответа (например, аутоиммунных заболеваний или цитокинового шторма).

**[0004]** Некоторые ингибирующие механизмы иммунной системы используют белки из семейства лейкоцитарных Ig-подобных рецепторов (LILR). Подсемейство В лейкоцитарных Ig-подобных рецепторов (LILRB) представляет собой группу трансмембранных гликопротеинов I типа с внеклеточными Ig-подобными доменами и цитоплазматическими иммунорецепторными тирозиновыми активирующими мотивами (ITIM). Эта группа содержащих ITIM рецепторов включает 5 членов: LILRB1 (также известный как CD85J, LIR1, ILT2), LILRB2 (также известный как CD85D, LIR2, ILT4), LILRB3 (также известный как CD85A, LIR3, ILT5), LILRB4 (также известный как CD85K, LIR5, ILT3), и LILRB5 (также известный как CD85C, LIR8). Биологические функции и клиническое значение многих из этих LILRB (ILT) все еще исследуются. Известно также подсемейство А LILR (LILRA), которое представляет собой группу трансмембранных гликопротеинов I типа с внеклеточными Ig-подобными доменами и цитоплазматическими иммунорецепторными тирозиновыми активирующими мотивами (ITAM). Эта группа содержащих ITAM рецепторов включает 6 членов: LILRA1 (также известный как CD85I, LIR6), LILRA2 (также известный как CD85H, LIR7, ILT1), LILRA3 (также известный как CD85E, LIR4, ILT6, моноцитарный ингибирующий рецептор HM43/31), LILRA4 (также известный как CD85G, ILT7), LILRA5 (также известный как CD85F, LIR9, ILT11) и LILRA6 (также известный как ILT8). Ингибирующие и активирующие белки семейства LILR, по-видимому, совместно модулируют иммунный гомеостаз.

**[0005]** Концепция иммунного надзора против злокачественного новообразования основана на теории о том, что иммунная система может распознавать опухолевые клетки, вызывать иммунный ответ и подавлять развитие и/или рост опухоли. Однако ясно, что многие раковые/опухолевые клетки развили механизмы и/или используют нормальные ингибирующие механизмы, чтобы уклоняться от иммунной системы, что может способствовать беспрепятственному росту опухолевых клеток. Иммуноterapia злокачественного новообразования/опухоли (иммуноонкология) направлена на разработку принципиально новых агентов, которые могут активировать и/или укреплять иммунную систему для достижения более эффективной атаки против раковых/опухолевых клеток, что

приводит к усиленному уничтожению раковых/опухолевых клеток и/или ингибированию роста злокачественного новообразования/опухоли.

## **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**[0006]** В настоящем изобретении предложены агенты, которые связывают иммуноглобулин-подобный транскрипт 2 (ILT2) и/или иммуноглобулин-подобный транскрипт 4 (ILT4). Хотя члены семейства LILRB упоминаются в публикациях под разными именами, в данном документе будут использоваться термины «ILT2» (LILRB1) и «ILT4» (LILRB2). Агенты включают, но не ограничиваются ими, полипептиды, такие как антитела, которые специфически связывают ILT2, ILT4 или как ILT2, так и ILT4. Как правило, агенты, упоминаемые в данном документе как «связывающие ИЛТ агенты», включают связывающие ИЛТ2 агенты, связывающие ИЛТ4 агенты, и агенты, связывающиеся как с ИЛТ2, так и с ИЛТ4 (называемые «связывающими ИЛТ2/ИЛТ4 агентами»). В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент ингибирует активность ИЛТ2 и/или ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент усиливает иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент реверсирует супрессию активности иммунных клеток. В данном изобретении предложены способы применения связывающего ИЛТ агента, например, в лечении злокачественного новообразования (например, прогрессирующей солидной опухоли). В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент используется в комбинированной терапии, например, в лечении злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент используется в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным терапевтическим агентом, например, в лечении злокачественного новообразования.

**[0007]** В некоторых случаях связывающие ИЛТ агенты, описанные в данном документе, имеют одно или более (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или более) из следующих свойств в любой комбинации или перестановке:

- (1) связывает ИЛТ2 человека;
- (2) связывает ИЛТ4 человека;
- (3) связывает ИЛТ2 макака-резуса;
- (4) связывает ИЛТ2 яванского макака;
- (5) не связывает ИЛТ3, ИЛТ5 и LILRB5;
- (6) не связывает LILRA2, LILRA4, LILRA5, и LILRA6;
- (7) представляет собой антагонист ИЛТ2;
- (8) представляет собой антагонист ИЛТ4;
- (9) ингибирует активность ИЛТ2;

- (10) ингибирует активность ILT4;
- (11) ингибирует сигналинг ILT2 в клетках, которые экспрессируют ILT2;
- (12) ингибирует сигналинг ILT4 в клетках, которые экспрессируют ILT4;
- (13) ингибирует связывание ILT2 с молекулами MHC I;
- (14) ингибирует связывание ILT4 с молекулами MHC I;
- (15) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию миелоидных клеток;
- (16) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию миелоидных клеток;
- (17) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию активности миелоидных клеток;
- (18) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию активности миелоидных клеток;
- (19) восстанавливает активацию FcR в миелоидных клетках;
- (20) усиливает активность NK-клеток;
- (21) усиливает активность цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL);
- (22) усиливает фагоцитоз макрофагов; и
- (23) ингибирует опосредованную MDSC супрессию иммунных клеток.

**[0008]** В изобретении также представлены композиции, содержащие связывающие ILT агенты, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления данное изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим связывающие ILT агенты и фармацевтически приемлемый носитель. Предложены полинуклеотиды и/или векторы, кодирующие связывающие ILT агенты. Также предложены клетки, содержащие полинуклеотиды и/или векторы, описанные в данном документе. Предложены клетки, содержащие или продуцирующие связывающие ILT агенты, описанные в данном документе. Также предложены способы получения связывающих ILT агентов, описанных в данном документе.

**[0009]** В одном аспекте настоящее изобретение относится к связывающим ILT агентам, которые связывают ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают ILT2 человека. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают ILT2 макака-резуса («резуса»). В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты ILT2 яванского макака («супо»). В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают ILT2 человека и ILT2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают ILT2 человека и ILT2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают ILT2 человека, ILT2 макака-резуса и ILT2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, и/или SEQ ID NO:7. В некоторых

вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, и/или SEQ ID NO:21. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают SEQ ID NO:166, SEQ ID NO:167, SEQ ID NO:168, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171, и/или SEQ ID NO:172. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты представляют собой антитела. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты представляют собой фрагменты антител.

**[0010]** В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются с внеклеточным доменом ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают SEQ ID NO:3. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 24-461 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 27-115 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 116-221 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 222-312 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 313-409 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 27-221 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 116-312 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 222-409 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп во внеклеточном домене ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп в одном из Ig-подобных доменов типа C2 ILT2 (например, D1, D2, D3 или D4). В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп в пределах двух или более Ig-подобных доменов типа C2 ILT2 (D1, D2, D3 и/или D4). В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп в D4-стеблевой области ILT2.

**[0011]** В другом аспекте настоящее изобретение относится к связывающим ILT агентам, которые связывают ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают ILT4 человека. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, и/или SEQ ID NO:14. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT

агенты представляют собой антитела. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты представляют собой фрагменты антител.

**[0012]** В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются с внеклеточным доменом ILT4. В некоторых вариантах осуществления агент связывается с SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 22-461 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 27-110 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 111-229 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 230-318 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 330-419 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 27-229 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 111-318 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связываются в пределах аминокислот 230-419 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп во внеклеточном домене ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп в одном из Ig-подобных доменов типа C2 ILT4 (например, D1, D2, D3 или D4). В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп в пределах двух или более Ig-подобных доменов типа C2 ILT4 (D1, D2, D3 и/или D4). В некоторых вариантах осуществления связывающие ILT агенты связывают конформационный эпитоп в D4-стеблевой области ILT4.

**[0013]** В одном аспекте настоящее изобретение относится к связывающим ILT агентам, которые связывают ILT2 человека, ILT4 человека или как ILT2, так и ILT4 человека и имеют по меньшей мере одно или более (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 или 19) следующих свойств: (1) связывает ILT2 макака-резуса; (2) связывает ILT2 яванского макака; (3) не связывает ILT3, ILT5 и LILRB5; (4) не связывает LILRA2, LILRA4, LILRA5, и LILRA6; (5) представляет собой антагонист ILT2; (6) представляет собой антагонист ILT4; (7) ингибирует активность ILT2; (8) ингибирует активность ILT4; (9) ингибирует сигналинг ILT2 в клетках, которые экспрессируют ILT2; (10) ингибирует сигналинг ILT4 в клетках, которые экспрессируют ILT4; (11) ингибирует связывание ILT2 с одной или более молекулами MHC I; (12) ингибирует связывание ILT4 с одной или более молекулами MHC I; (13) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию миелоидных клеток;

(14) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию миелоидных клеток; (15) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию активности миелоидных клеток; (16) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию активности миелоидных клеток; (17) восстанавливает активацию FcR в миелоидных клетках; (18) усиливает активность NK-клеток; и/или (19) усиливает активность CTL. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой моноциты. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой макрофаги. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой толерогенные дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой антигенпрезентирующие клетки (APC). В некоторых вариантах осуществления молекула MHC I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E и/или HLA-G.

**[0014]** В одном аспекте настоящее изобретение относится к агентам, которые специфически связывают ILT2 человека. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к связывающему ILT2 агенту, где связывающий агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFSLTNYGVS (SEQ ID NO:22), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO:23), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность PNWDTYAMDF (SEQ ID NO:24), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность CTSKLHS (SEQ ID NO:26), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPPT (SEQ ID NO:27). В настоящем изобретении также предложен связывающий ILT2 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблице 1.

**[0015]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:125; и/или (b) переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит переменную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ

ID NO:125, и/или вариабельную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:125 и/или вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:125 и вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:126.

**[0016]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 125 и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:125, и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:126.

**[0017]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RVYPNNGDTSYNQKFKV (SEQ ID NO:39), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GATVVESLFAY (SEQ ID NO:40), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDNYGNNFLH (SEQ ID NO:41), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RTSNLES (SEQ ID NO:42), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQSNEDPYT (SEQ ID NO:43). В настоящем изобретении также предложен связывающий ILT2 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблице 2.

**[0018]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:127, и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4

агент содержит переменную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:127, и/или переменную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:127 и/или переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:127 и переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:128.

**[0019]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 127 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:127, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:128.

**[0020]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WINTYIGEPYADDFKG (SEQ ID NO:55), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSDYDGYAMDY (SEQ ID NO:56), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность KSSQSLLYSGNQKNYLA (SEQ ID NO:57), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность WASTRES (SEQ ID NO:58), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQHDSYPT (SEQ ID NO:59). В настоящем изобретении также предложен связывающий ILT2 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблице 3.

**[0021]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:129, и/или (b) переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:129, и/или переменную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:129 и/или переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:129 и переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:130.

**[0022]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 129 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:129, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:130.

**[0023]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDY YMN (SEQ ID NO:70), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFY YGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную

последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В настоящем изобретении также предложен связывающий ILT2/ILT4 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблицах 4А и 4В.

**[0024]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:131, и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:131, и/или вариабельную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:131 и/или вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:131 и вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:132.

**[0025]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:133, и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:133, и/или вариабельную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:133 и/или вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4

агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:133 и вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:134.

**[0026]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 131 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:131, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 133 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:133, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:134.

**[0027]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYYAMDY (SEQ ID NO:88), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В настоящем изобретении также предложен ILT2/ILT4 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблице 5.

**[0028]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с

SEQ ID NO:135, и/или (b) переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:135, и/или переменную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:135 и/или переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:135 и переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:136.

**[0029]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 135 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:135, и/или переменную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:136.

**[0030]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYDVTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В настоящем изобретении также

предложен связывающий ILT2/ILT4 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблицах 6A и 6B.

**[0031]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:137, и/или (b) переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:137, и/или переменную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:137 и/или переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:137 и переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:138.

**[0032]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:139, и/или (b) переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:139, и/или переменную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:139 и/или переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:139 и переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:140.

**[0033]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 137 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:137, и/или вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 139 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:139, и/или вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:140.

**[0034]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В настоящем изобретении также предложен ILT2/ILT4 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблице 7.

**[0035]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариательную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:141, и/или (b) вариательную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий

ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:141, и/или вариабельную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:141 и/или вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:141 и вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:142.

**[0036]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 141 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:141, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:142.

**[0037]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В настоящем изобретении также предложен связывающий ILT2/ILT4 агент, который содержит шесть CDR по любому из определений CDR, представленных в таблицах 8A и 8B.

**[0038]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:143, и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:143, и/или вариабельную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:143 и/или вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:143 и вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:142.

**[0039]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:144, и/или (b) вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:144, и/или вариабельную область легкой цепи, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97% по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:144 и/или вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:144 и вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:145.

**[0040]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 143 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области

легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:143, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:144 и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:144, и/или вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:145.

**[0041]** В еще одном аспекте изобретения в данном документе предложен агент, который конкурирует за связывание с ILT2, ILT4 или ILT2/ILT4 с любым из связывающих ILT агентов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует за связывание как с ILT2, так и с ILT4 человека с любым из связывающих ILT агентов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует за связывание с ILT2 человека с любым из связывающих ILT агентов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует за связывание с ILT4 человека с любым из связывающих ILT агентов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой фрагмент антитела.

**[0042]** В некоторых вариантах осуществления каждого из вышеупомянутых аспектов и вариантов осуществления, а также других аспектов и вариантов осуществления, описанных в данном документе, связывающие ILT агенты представляют собой антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой рекомбинантные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой гуманизированные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой антитела человека. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой химерные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой полные или интактные антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой биспецифические антитела или полиспецифические антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой фрагменты антител, содержащие по меньшей

мере один сайт связывания антигена. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, одноцепочечное антитело, антитело с двойной переменной областью, антитело с одной переменной областью, линейное антитело, диатело, наноантитело, или антитело с V-областью. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой антитела IgG. В некоторых вариантах осуществления антитела представляют собой антитела IgG1, антитела IgG2, антитела IgG3 или антитела IgG4. В некоторых вариантах осуществления каждое антитело содержит легкую каппа-цепь. В некоторых вариантах осуществления каждое антитело содержит легкую цепь лямбда. В некоторых случаях каждое антитело содержит константную область IgG1 человека. В некоторых случаях каждое антитело содержит константную область легкой каппа-цепи человека. В некоторых случаях антитела содержат константную область IgG1 человека и константную область легкой каппа-цепи человека. В некоторых случаях константная область IgG1 человека содержит одну или более мутаций, которые снижают или устраняют эффекторные функции Fc. В некоторых случаях константная область IgG1 человека содержит мутацию N297G, которая снижает эффекторную функцию.

**[0043]** В некоторых вариантах осуществления каждого из вышеупомянутых аспектов и вариантов осуществления, а также других аспектов и вариантов осуществления, описанных в данном документе, каждый из связывающих ИЛТ агентов, присоединен (прямо или косвенно) к удлиняющему период полувыведения фрагменту.

**[0044]** В некоторых вариантах осуществления каждого из вышеупомянутых аспектов и вариантов осуществления, а также других аспектов и вариантов осуществления, описанных в данном документе, связывающие ИЛТ агенты, описанные в данном документе, являются антагонистами ИЛТ2. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты осуществляют ингибируют активность ИЛТ2. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антагонистические антитела. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые ингибируют индуцируемую ИЛТ2 супрессию иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые ингибируют индуцируемую ИЛТ2 супрессию миелоидных клеток.

**[0045]** В некоторых вариантах осуществления каждого из вышеупомянутых аспектов и вариантов осуществления, а также других аспектов и вариантов осуществления, описанных в данном документе, связывающие ИЛТ агенты, описанные в данном документе, являются антагонистами ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты осуществляют ингибируют активность ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антагонистические антитела. В некоторых

вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые ингибируют индуцируемую ИЛТ4 супрессию иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые ингибируют индуцируемую ИЛТ4 супрессию миелоидных клеток.

**[0046]** В некоторых вариантах осуществления каждого из вышеупомянутых аспектов и вариантов осуществления, а также других аспектов и вариантов осуществления, описанных в данном документе, связывающие ИЛТ агенты, описанные в данном документе, являются антагонистами ИЛТ2 и ИЛТ4 человека. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты ингибируют активность ИЛТ2 и активность ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антагонистические антитела. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые ингибируют индуцируемую ИЛТ2 и индуцируемую ИЛТ4 супрессию иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые ингибируют индуцируемую ИЛТ2 и индуцируемую ИЛТ4 супрессию миелоидных клеток.

**[0047]** В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые реактивируют толерогенные дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые ингибируют активность миелоидных супрессорных клеток (MDSC). В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые усиливают активность цитолитических Т-лимфоцитов (CTL). В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые усиливают цитолитическую активность CD8<sup>+</sup> Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые усиливают активность естественных клеток-киллеров (NK). В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты представляют собой антитела, которые усиливают фагоцитоз макрофагов. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты снимают супрессию или активируют сигналинг Fc-рецептора в миелоидных клетках. В некоторых вариантах осуществления связывающие ИЛТ агенты действуют синергически с ингибитором иммунных контрольных точек.

**[0048]** В другом аспекте в изобретении предложены композиции, содержащие связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к ИЛТ, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит рекомбинантное антитело к ИЛТ, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция

содержит антитело к ILT2 27F9. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к ILT4 47C8 или антитело 48A5. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к ILT2/ILT4, выбранное из группы, состоящей из: 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1, и Hz73D1.v1.

**[0049]** В некоторых случаях предложены фармацевтические композиции, которые содержат (a) средство для ингибирования взаимодействия между ILT2 и/или ILT4 и МНС класса I (например, на опухолевых клетках); и (b) фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления средство для ингибирования взаимодействия между ILT2 и/или ILT4 и МНС класса I включает антитело, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH-CDR1, VH-CDR2 и VH-CDR3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3 из любого из 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1, и Hz73D1.v1.

**[0050]** В некоторых вариантах осуществления каждого из вышеупомянутых аспектов, а также в других аспектах и/или вариантах осуществления, описанных в других местах данного документа, связывающий ИЛТ агент выделен. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент является по существу чистым.

**[0051]** В другом аспекте в описании предложены полинуклеотиды, содержащие полинуклеотид, который кодирует связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид кодирует антитело к ILT2, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид кодирует антитело к ILT4, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид кодирует антитело к ILT2/ILT4, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид выделен. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит полинуклеотид, кодирующий связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка содержит полинуклеотид, который кодирует связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка содержит вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка продуцирует связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка продуцирует антитело к ИЛТ, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой моноклональную клеточную линию. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой гибридому.

**[0052]** В другом аспекте в изобретении представлены способы применения связывающих ИЛТ агентов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают применение композиции, содержащей связывающий ИЛТ2 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают применение композиции, содержащей связывающий ИЛТ4 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают применение композиции, содержащей связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают применение фармацевтической композиции, содержащей связывающий ИЛТ2 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают применение фармацевтической композиции, содержащей связывающий ИЛТ4 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают применение фармацевтической композиции, содержащей связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент, описанный в данном документе.

**[0053]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и/или ИЛТ4 с лигандом и/или партнером по связыванию. В некоторых вариантах осуществления предложен способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и/или ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I. В некоторых вариантах осуществления в данном документе описан способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и/или ИЛТ4 с молекулой МНС I в смеси клеток включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, связывающим ИЛТ4 агентом, или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом.

**[0054]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ нарушения, ингибирования или блокирования активности ИЛТ2 и/или ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования активности ИЛТ2 в смеси клеток включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования активности ИЛТ4 в смеси клеток включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ4 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования активности ИЛТ2 и ИЛТ4 в смеси клеток включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе.

**[0055]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I ИЛТ2 и/или ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования

индуцируемой МНС I активности ИЛТ2 в смеси клеток включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности ИЛТ4 в смеси клеток включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ4 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности ИЛТ2 и ИЛТ4 в смеси клеток включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления молекула МНС I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E и/или HLA-G.

**[0056]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии миелоидных клеток включает приведение миелоидных клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, связывающим ИЛТ4 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 супрессии миелоидных клеток включает приведение миелоидных клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ4 супрессии миелоидных клеток включает приведение миелоидных клеток в контакт со связывающим ИЛТ4 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и индуцируемой ИЛТ4 супрессии миелоидных клеток включает приведение миелоидных клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе.

**[0057]** В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или ИЛТ4 супрессии активности миелоидных клеток включает приведение в контакт миелоидной клетки со связывающим ИЛТ2 агентом, связывающим ИЛТ4 агентом, или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 или индуцируемой ИЛТ4 супрессии активности миелоидных клеток включает приведение миелоидных клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления

способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии активности миелоидных клеток восстанавливает активность FcR в миелоидных клетках. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии миелоидной активности усиливает, увеличивает или восстанавливает продукцию хемокинов/цитокинов в миелоидных клетках. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии активности миелоидных клеток усиливает, увеличивает или восстанавливает активность пролиферации миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии активности миелоидных клеток усиливает, увеличивает или восстанавливает фагоцитарную активность миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой моноциты. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой макрофаги. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой толерогенные дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой APC.

**[0058]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ усиления или увеличения активности НК-клеток. В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности НК-клеток включает приведение НК-клетки в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности НК-клеток включает приведение НК-клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе.

**[0059]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ усиления или увеличения активности цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL). В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности CTL включает приведение CTL в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности CTL включает приведение CTL в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе.

**[0060]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ увеличения или усиления фагоцитоза макрофагов. В некоторых вариантах осуществления способ увеличения или усиления фагоцитоза включает приведение макрофага в контакт со

связывающим ILT2 агентом или связывающим ILT2/ILT4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ увеличения или усиления фагоцитоза включает приведение макрофага в контакт со связывающим ILT2/ILT4 агентом, описанным в данном документе.

**[0061]** В некоторых вариантах осуществления предложен способ ингибирования активности миелоидных супрессорных клеток (MDSC). В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования активности MDSC включает приведение MDSC в контакт со связывающим ILT4 агентом, или связывающим ILT2/ILT4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования активности MDSC включает приведение MDSC в контакт со связывающим ILT2/ILT4 агентом, описанным в данном документе.

**[0062]** В некоторых вариантах осуществления каждого из вышеупомянутых аспектов и вариантов осуществления, а также других аспектов и вариантов осуществления, описанных в данном документе, способы могут быть *in vitro*, *ex vivo*, или *in vivo*.

**[0063]** В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ILT2 или ILT4 с молекулой МНС I у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ILT2 или ILT4 с молекулой МНС I у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула МНС I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, и/или HLA-G.

**[0064]** В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности ILT2 и/или ILT4 у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего агента ILT2, связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности ILT2 у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности ILT4 у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности ILT2 и/или

ILT4 у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула MHC I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, и/или HLA-G.

**[0065]** В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ILT2 супрессии миелоидных клеток у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ILT4 супрессии активности миелоидных клеток у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT4 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе.

**[0066]** В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования или снижения активности MDSC у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT4 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в настоящем документе.

**[0067]** В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности NK-клеток у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности NK-клеток у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе.

**[0068]** В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности CTL у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения активности CTL у субъекта включает введение субъекту связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе.

**[0069]** В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения фагоцитоза макрофагов у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ILT2 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения фагоцитоза макрофагов у субъекта включает введение субъекту связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе.

**[0070]** В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего IL2 агента, связывающего IL4 агента, или связывающего IL2/IL4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой мезотелиому, глиобластому, почечно-клеточную карциному (включая злокачественное новообразование, возникающее из светлоклеточного типа и папиллярно-клеточного типа), немелкоклеточный рак легкого, меланому, аденокарциному протоков поджелудочной железы, рак желудка, плоскоклеточную карциному головы и шеи, рак желчных протоков, рак молочной железы, рак яичников, рак шейки матки, эндоцервикальный рак, колоректальный рак или рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой распространенную солидную опухоль.

**[0071]** В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы, рак легкого, рак головы и шеи, рак предстательной железы, рак кожи, рак желудка, рак кишечника, рак яичников, рак шейки матки, рак матки, рак эндометрия, рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак печени, рак почки или рак яичек. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой гемобластоз. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой миелогенный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления миелогенный рак представляет собой острый миелоидный лейкоз (ОМЛ). В некоторых вариантах осуществления миелогенный рак представляет собой хронический миелоидный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой миелодиспластический синдром. Миелодиспластические синдромы (МДС) представляют собой группу злокачественных новообразований, при которых незрелые клетки крови в костном мозге не созревают и, следовательно, не становятся здоровыми клетками крови. В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром развивается в ОМЛ.

**[0072]** В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего IL2 агента, связывающего IL4 агента или связывающего IL2/IL4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ усиления или увеличения иммунного ответа на опухоль или опухолевые клетки у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего IL2 агента, связывающего IL4 агента, или связывающего IL2/IL4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ активации или усиления

стойкого или долговременного иммунного ответа на опухоль или опухолевые клетки у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего IL2 агента, связывающего IL4 агента, или связывающего IL2/IL4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования рецидива опухоли или повторного роста опухоли у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества агента, связывающего IL2, связывающего IL4 агента, или связывающего IL2/IL4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ индукции стойкого или долговременного иммунитета, который ингибирует рецидив опухоли или повторный рост опухоли у субъекта, включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего IL2 агента, связывающего IL4 агента, или связывающего IL2/IL4, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль легкого, немелкоклеточную опухоль легкого, опухоль головы и шеи, колоректальную опухоль, опухоль предстательной железы, опухоль кожи, меланому, опухоль желудка, опухоль, колоректальную опухоль, опухоль яичника, опухоль шейки матки, опухоль матки, опухоль эндометрия, опухоль эндоцервикса, опухоль мочевого пузыря, опухоль головного мозга, опухоль пищевода, опухоль печени, опухоль почки, опухоль почки, мезотелиому, глиобластому, опухоль желчных протоков или опухоль яичка.

**[0073]** В некоторых вариантах осуществления способ активации миелоидных клеток в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего IL2 агента, связывающего IL4 агента, или связывающего IL2/IL4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой первичные дендритные клетки или толерогенные дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой моноциты или макрофаги.

**[0074]** В некоторых вариантах осуществления способ реактивации толерогенных дендритных клеток у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего IL2 агента, связывающего IL4 агента, или связывающего IL2/IL4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления толерогенные дендритные клетки находятся в микроокружении опухоли.

**[0075]** В некоторых вариантах осуществления всех описанных в данном документе способов связывающий ILT агент вводят субъекту в виде части комбинированной терапии. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает по меньшей мере одно дополнительный терапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления

комбинированная терапия включает ингибитор иммунных контрольных точек, например, антитело к PD-1 или антитело к PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб (MK-3475; KEYTRUDA), пидилизумаб (CT-011), ниволумаб (OPDIVO), дурвалумаб (MEDI0680), цемиплимаб (REGN2810), тислелизумаб (BGB-A317), спартализумаб (PDR-001) или STI-A1110.

**[0076]** Также описано применение связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе, в производстве лекарственного препарата для лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления описанный в данном документе связывающий ИЛТ агент предназначен для лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе, предназначен для применения для ингибирования роста опухоли.

**[0077]** В некоторых вариантах осуществления всех вышеупомянутых способов субъект представляет собой человека.

**[0078]** В тех случаях, когда аспекты или варианты осуществления изобретения описаны в терминах группы Маркуша или другой группы альтернатив, настоящее изобретение охватывает не только всю группу, указанную в целом, но также каждого члена группы в отдельности и все возможные подгруппы основной группы, а также в основной группе отсутствует один или более членов группы. Настоящее изобретение также предусматривает явное исключение одного или более членов группы в заявленном изобретении.

## **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

**[0079]** Фиг. 1. Экспрессию ИЛТ2 и ИЛТ4 в различных иммунных клетках оценивали с помощью проточной цитометрии.

**[0080]** Фиг. 2. Ингибирование взаимодействия между ИЛТ2 или ИЛТ4 и молекулами МНС I с помощью антител к ИЛТ.

**[0081]** Фиг. 3. Связывание антител к ИЛТ2/ИЛТ4 с моноцитами.

**[0082]** Фиг. 4А и 4В. Ингибирование взаимодействия между молекулами ИЛТ2 или ИЛТ4 и МНС I с помощью антител к ИЛТ.

**[0083]** Фиг. 5. Ингибирование взаимодействия между ИЛТ2 яванского макака и молекулами МНС I с помощью антител к ИЛТ.

**[0084]** Фиг. 6. Влияние антител к ИЛТ на цитолитическую активность клеток NKL.

**[0085]** Фиг. 7. Влияние антител к ИЛТ на активность первичных NK-клеток человека.

- [0086] Фиг. 8. Влияние антител к ИЛТ на цитолитическую активность первичных НК-клеток.
- [0087] Фиг. 9. Влияние антител к ИЛТ на цитолитическую активность первичных НК-клеток в анализе ADCC с классическими клетками-мишенями, экспрессирующими МНС-I.
- [0088] Фиг. 10. Влияние антител к ИЛТ на активность MDSC в анализе СКЛ-реакции.
- [0089] Фиг. 11А-11С. Влияние антител к ИЛТ на активность MDSC в анализе СКЛ-реакции.
- [0090] Фиг. 12. Влияние антител к ИЛТ на опосредованную ЛПС стимуляцию РВМС человека на основании оценки продукции цитокинов.
- [0091] Фиг. 13. Влияние антител к ИЛТ на опосредованную ЛПС стимуляцию РВМС яванского макака на основании оценки продукции цитокинов.
- [0092] Фиг. 14. Влияние антител к ИЛТ на опосредованную ЛПС стимуляцию толеризованных дендритных клеток на основании оценки продукции цитокинов.
- [0093] Фиг. 15. Влияние антител к ИЛТ на продукцию цитокинов клетками, обработанными HMGB1.
- [0094] Фиг. 16. Влияние антител к ИЛТ на продукцию цитокинов клетками, обработанными агонистом STING.
- [0095] Фиг. 17. Влияние антител к ИЛТ на супрессию опосредованной Т-клетками стимуляции миелоидных клеток.
- [0096] Фиг. 18. Влияние антител к ИЛТ на фагоцитоз макрофагов.
- [0097] Фиг. 19. Влияние антител к ИЛТ на продукцию цитокинов дендритными клетками.
- [0098] Фиг. 20. Влияние антител к ИЛТ на продукцию цитокинов клетками крови человека.
- [0099] Фиг. 21. Влияние антител к ИЛТ на продукцию цитокинов клетками крови яванского макака.
- [00100] Фиг. 22. Влияние антител к ИЛТ на цитолитическую активность Т-клеток.
- [00101] Фиг. 23А-23С. Синергетические эффекты антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 и антитела к PD-1 на активацию Т-клеток и высвобождение цитокинов из Т-клеток.
- [00102] Фиг. 24. Влияние антител к ИЛТ2/ИЛТ4 на поляризацию макрофагов, происходящих из моноцитов, путем анализа маркеров экспрессии с помощью проточной цитометрии.

## **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[00103] В настоящем изобретении предложены новые агенты, включая, но не ограничиваясь ими, полипептиды, такие как антитела, которые связывают иммуноглобулин-подобный транскрипт 2 (ИЛТ2), иммуноглобулин-подобный транскрипт 4

(ILT4) или как ILT2, так и ILT4. Используемый в данном документе термин «связывающие ИЛТ агенты» относится к связывающим ИЛТ2 агентам, связывающим ИЛТ4 агентам, и связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентам. Используемый в данном документе термин «связывающие ИЛТ2/ИЛТ4 агенты» относится к агентам, которые связывают как ИЛТ2, так и ИЛТ4, и могут также называться двойными связывающими ИЛТ2/ИЛТ4 агентами. Связывающие ИЛТ агенты включают, но не ограничиваются ими, полипептиды, антитела (включая их антигенсвязывающие фрагменты), каркасные белки и гетеродимерные молекулы. Связывающие ИЛТ агенты, включают, но не ограничиваются ими, антагонисты активности ИЛТ2 и/или ИЛТ4, ингибиторы активности ИЛТ2 и/или ИЛТ4 и/или агенты, которые ингибируют супрессивную активность ИЛТ2 и/или ИЛТ4. Также предложены родственные полипептиды, полинуклеотиды, векторы, композиции, содержащие агенты, клетки, содержащие родственные полинуклеотиды или векторы, и способы получения указанных агентов. Также предложены способы применения новых связывающих ИЛТ агентов.

## I. Определения

**[00104]** Если в данном документе не указано иное, технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют значения, которые обычно понятны специалистам в данной области техники. Когда это уместно, термины, используемые в единственном числе, также будут охватывать термины во множественном числе и наоборот. В случае, когда какое-либо из приведенных описаний термина противоречит любому документу, включенному в данный посредством ссылки, приоритет имеет описание термина, приведенное ниже.

**[00105]** Термин «связывающий агент», используемый в данном документе, относится к молекуле, которая связывает специфический антиген или мишень (например, ИЛТ2 и/или ИЛТ4). Связывающий агент может содержать белок, пептид, нуклеиновую кислоту, углевод, липид или низкомолекулярное соединение. В некоторых вариантах осуществления связывающий агент содержит полноразмерное антитело. В некоторых вариантах осуществления связывающий агент представляет собой антигенсвязывающий фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления связывающий агент содержит альтернативный белковый каркас или искусственный каркас (например, неиммуноглобулиновый каркас). В некоторых вариантах осуществления связывающий агент представляет собой слитый белок, содержащий антигенсвязывающий сайт. В некоторых вариантах осуществления связывающий агент представляет собой

биспецифическую или полиспецифическую молекулу, содержащую по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт.

**[00106]** Термин «антитело» используется в данном документе в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая, но не ограничиваясь ими, молекулу иммуноглобулина, которая распознает и связывает мишень через по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт, поликлональные антитела, рекомбинантные антитела, моноклональные антитела, химерные антитела, гуманизированные антитела, человеческие антитела, биспецифические антитела, полиспецифические антитела, диатела, триатела, тетратела, одноцепочечные антитела Fv (scFv) и фрагменты антител, если они проявляют желаемую антигенсвязывающую активность.

**[00107]** Термин «интактное антитело» или «полноразмерное антитело» относится к антителу, имеющему структуру, по существу аналогичную структуре нативного антитела. Это включает, например, антитело, содержащее две легкие цепи, каждая из которых содержит переменную область и константную область легкой цепи (CL), и две тяжелые цепи, каждая из которых содержит переменную область и по меньшей мере константные области тяжелой цепи CH1, CH2 и CH3. Как правило, интактное антитело включает шарнирную область (или ее часть) между областями CH1 и CH2.

**[00108]** Термин «фрагмент антитела» или «фрагменты антител», используемый в данном документе, относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть антитела и, как правило, антигенсвязывающий сайт. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничиваются ими, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, молекулы одноцепочечных антител (например, scFv), sc(Fv)<sub>2</sub>, связанные с дисульфидной связью scFv (dsscFv), диатела, триатела, тетратела, миниантитела, антитела с двойным переменным доменом (DVD), антитела с одним переменным доменом (например, антитела верблюдовых) и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

**[00109]** Термин «моноклональное антитело», используемый в данном документе, относится к по существу гомогенной популяции антител, участвующих в высокоспецифичном распознавании и связывании одной антигенной детерминанты или эпитопа. Термин «моноклональное антитело» включает интактные и полноразмерные моноклональные антитела, а также фрагменты антител (например, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv), одноцепочечные антитела (например, scFv), слитые белки, содержащие фрагмент антитела, и любую другую модифицированную молекулу иммуноглобулина, содержащую по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт. Кроме того, «моноклональное антитело» относится к таким антителам, полученным любым количеством способов, включая, помимо

прочего, получение гибридомы, дисплей фаговой библиотеки, рекомбинантную экспрессию и трансгенных животных.

**[00110]** Термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором фрагмент тяжелой и/или легкой цепи получен из первого источника или вида, в то время как часть тяжелой и/или легкой цепи получены из другого источника или вида.

**[00111]** Термин «гуманизованное антитело», используемый в данном документе, относится к антителу, которое содержит переменную область тяжелой цепи человека и переменную область легкой цепи, причем аминокислотные остатки нативной CDR заменены остатками из соответствующих CDR антитела отличного от человека животного (например, мышинового, крысы, кролика или примата, отличного от человека), при этом антитело отличного от человека животного имеет желаемую специфичность, аффинность и/или активность. В некоторых вариантах осуществления один или более аминокислотных остатков каркасной области из переменной области тяжелой или легкой цепи человека заменены соответствующими остатками антитела отличного от человека животного. Кроме того, гуманизованные антитела могут содержать аминокислотные остатки, которых нет в человеческом антителе или в антителе отличного от человека животного. В некоторых вариантах осуществления эти модификации вносятся для дальнейшего улучшения и/или оптимизации характеристик антител. В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело содержит по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина человека (например, CH1, CH2, CH3, Fc и/или шарнирную область).

**[00112]** Термин «человеческое антитело», используемый в данном документе, относится к антителу, имеющему аминокислотную последовательность, которая соответствует антителу, продуцируемому человеком, и/или антителу, которое было получено с использованием любого из способов, известных специалистам в области создания человеческих антител. Эти методы включают, помимо прочего, библиотеки фагового дисплея, библиотеки дрожжевого дисплея, трансгенных животных, продукцию рекомбинантного белка и технологию В-клеточной гибридомы.

**[00113]** Термины «эпитоп» и «антигенная детерминанта» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к той части антигена или мишени, которая может распознаваться и связываться конкретным антителом. Когда антиген или мишень представляет собой полипептид, эпитопы могут быть образованы как из смежных аминокислот, так и из несмежных аминокислот, сформированных укладкой третичной структуры белка. Эпитопы, образованные смежными аминокислотами (также называемые линейными эпитопами), как правило, сохраняются после денатурации белка, тогда как эпитопы, образованные за счет сворачивания в третичную структуру (также называемые

конформационными эпитопами), как правило, не сохраняются после денатурации белка. Эпитоп, как правило, содержит по меньшей мере 3 и, чаще, по меньшей мере 5, 6, 7 или 8–10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Эпитопы можно спрогнозировать с помощью любого из большого количества программных биоинформационных инструментов, доступных в интернете. Рентгеновскую кристаллографию можно использовать для определения характеристик эпитопа на целевом белке путем анализа взаимодействий аминокислотных остатков в комплексе антиген/антитело.

**[00114]** Используемый в данном документе термин «специфически связывается» относится к агенту, который взаимодействует более часто, быстрее, с большей продолжительностью, с большей аффинностью или с некоторой комбинацией вышеперечисленного с конкретным антигеном, эпитопом, белком или целевой молекулой, чем с альтернативными субстанциями. Связывающий агент, который специфически связывает антиген, может быть идентифицирован, например, с помощью иммуноанализов, ELISA, поверхностного плазмонного резонанса (ППР) или других методов, известных специалистам в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления агент, который специфически связывает антиген (например, ILT2 человека), может связывать родственные антигены (например, ILT2 макака-резуса и/или ILT2 яванского макака). В некоторых вариантах осуществления агент, который специфически связывает антиген (например, ILT2 человека), может связывать второй антиген (например, ILT4 человека) и упоминается в данном документе как «двойной связывающий агент». В некоторых вариантах осуществления связывающий агент, который специфически связывает антиген, может связывать целевой антиген с более высокой аффинностью, чем его аффинность к другому антигену. Другой антиген может быть родственным антигеном. В некоторых вариантах осуществления связывающий агент, который специфически связывает антиген, может связывать целевой антиген с аффинностью, которая в по меньшей мере 20 раз выше, по меньшей мере 30 раз выше, по меньшей мере 40 раз выше, по меньшей мере 50 раз выше, по меньшей мере 60 раз выше, по меньшей мере 70 раз выше, по меньшей мере 80 раз выше, по меньшей мере 90 раз выше или в по меньшей мере 100 раз выше, чем его аффинность к другому антигену. В некоторых вариантах осуществления связывающий агент, который специфически связывает конкретный антиген, связывает другой антиген с такой низкой аффинностью, что связывание невозможно обнаружить с помощью анализа, описанного в данном документе или известного в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют с использованием технологии ППР в системе

Biocomp, как описано в данном документе или как известно специалистам в данной области техники.

**[00115]** Термины «полипептид», и «пептид», и «белок» взаимозаменяемо используются в данном документе и относятся к полимерам аминокислот любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и он может быть разделен не аминокислотами. Кроме того, указанные термины включают аминокислотный полимер, который был модифицирован природным путем или путем вмешательства; например, путем образования дисульфидной связи, гликозилирования, липидирования, ацетилирования, фосфорилирования или любой другой манипуляции или модификации. Также в определение включены, например, полипептиды, содержащие один или более аналогов аминокислоты, включая, помимо прочего, неприродные аминокислоты, а также другие модификации, известные в данной области техники. Понятно, что, поскольку полипептиды по данному описанию могут быть основаны на антителах, термин «полипептид» охватывает полипептиды в виде одной цепи и полипептиды из двух или более связанных цепей.

**[00116]** Термины «полинуклеотид» и «нуклеиновая кислота» и «молекула нуклеиновой кислоты» применяются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания, и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть включен в полимер ДНК- или РНК-полимеразы.

**[00117]** В контексте данного документа термины «идентичный» или «процент идентичности» двух или большего количества нуклеиновых кислот или полипептидов относятся к двум или больше последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент нуклеотидов или аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми, при сравнении и выравнивании (внесении гэпов при необходимости) для максимального соответствия, не учитывая какие-либо консервативные аминокислотные замены в качестве части идентичности последовательностей. Процент идентичности можно определять, применяя программное обеспечение или алгоритм для сравнения последовательностей, или путем визуальной оценки. Различные алгоритмы и программное обеспечение, которые можно применять для получения выравниваний аминокислотных или нуклеотидных последовательностей, хорошо известны в данной области техники. К ним относятся, помимо прочего, BLAST, ALIGN, Megalign, BestFit, пакет GCG Wisconsin и их варианты. В некоторых вариантах осуществления две нуклеиновые кислоты или два полипептида по

данному изобретению являются практически идентичными, что означает, что они имеют по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% и, в некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентичности нуклеотидных или аминокислотных остатков при сравнении и выравнивании для максимального соответствия, по определению с помощью алгоритма для сравнения последовательностей или путем визуальной оценки. В некоторых вариантах осуществления идентичность наблюдается в области последовательностей, длина которой составляет по меньшей мере около 10, по меньшей мере около 20, по меньшей мере около 20-40, по меньшей мере около 40-60, по меньшей мере около 60-80 нуклеотидов или аминокислотных остатков или любое целое значение между ними. В некоторых вариантах осуществления идентичность наблюдается в более длинной области, чем 60-80 нуклеотидов или аминокислотных остатков, например, по меньшей мере около 80-100 нуклеотидов или аминокислотных остатков, а в некоторых вариантах осуществления последовательности по существу идентичны по всей длине сравниваемых последовательностей, например, (i) кодирующей области нуклеотидной последовательности или (ii) аминокислотной последовательности.

**[00118]** Фраза «консервативная аминокислотная замена», используемая в данном документе, относится к замене, при которой один аминокислотный остаток заменяется другим аминокислотным остатком, имеющим аналогичную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих аналогичные боковые цепи, были, как правило, определены в данной области техники, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин, гистидин), кислые боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Например, замена аланина на валин считается консервативной заменой. Как правило, консервативные замены в последовательностях полипептидов и/или антител не нарушают связывание полипептида или антитела с целевым сайтом связывания. Способы идентификации консервативных замен нуклеотидов и аминокислот, которые не устраняют связывание, хорошо известны в данной области техники.

**[00119]** В контексте данного документа термин «вектор» означает конструкцию, которая способна доставлять и в большинстве случаев экспрессировать один или более представляющих интерес генов или последовательностей в клетке-хозяине. Примеры

векторов включают, помимо прочего, вирусные векторы, векторы экспрессии «голой» ДНК или РНК, плазмидные, космидные или фаговые векторы, векторы экспрессии ДНК или РНК, связанные с катионными конденсирующими агентами, и векторы экспрессии ДНК или РНК, инкапсулированные в липосомы.

**[00120]** В контексте данного документа термин «выделенный» относится к полипептиду, растворимому белку, антителу, полинуклеотиду, вектору, клетке или композиции, которые находятся в форме, не встречающейся в природе. «Выделенное» антитело по существу не содержит материала клеточного источника, из которого оно получено. В некоторых вариантах осуществления выделенные полипептиды, растворимые белки, антитела, полинуклеотиды, векторы, клетки или композиции представляют собой те, которые были очищены до такой степени, что они больше не находятся в форме, в которой они встречаются в природе. В некоторых вариантах осуществления выделенные полипептид, растворимый белок, антитело, полинуклеотид, вектор, клетка или композиция являются по существу чистыми. Полипептид, растворимый белок, антитело, полинуклеотид, вектор, клетка или композиция могут быть выделены из природного источника (например, ткани) или из такого источника, как сконструированная клеточная линия.

**[00121]** В контексте данного документа термин «по существу чистый» относится к материалу, который является по меньшей мере на 50% чистым (т. е. без примесей), по меньшей мере на 90% чистым, по меньшей мере на 95% чистым, по меньшей мере на 98% чистым или по меньшей мере на 99 % чистым.

**[00122]** Термин «субъект» относится к любому животному (например, млекопитающему), включая, но не ограничиваясь ими, людей, приматов, псовых, кошачьих, кроликов, грызунов и т.п.

**[00123]** В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый», относится к субстанции, утвержденному или одобренному регуляторным органом или перечисленному в Фармакопее США, Европейской Фармакопее или другой общепризнанной фармакопее для применения для животных, включая человека.

**[00124]** В контексте данного документа термины «фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или адъювант» или «приемлемый фармацевтический носитель» относятся к эксципиенту, носителю или адъюванту, которые можно вводить субъекту вместе с по меньшей мере одним терапевтическим агентом, и которые, как правило, безопасны, нетоксичны и не влияют на фармакологическую активность терапевтического агента. Как правило, специалисты в данной области техники и государственные учреждения считают фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель или адъювант неактивным ингредиентом любого состава.

**[00125]** В контексте данного документа термин «фармацевтический состав» или «фармацевтическая композиция» относится к препарату, который находится в такой форме, чтобы биологическая активность агента была достаточной. Фармацевтический состав или композиция, как правило, содержит дополнительные компоненты, такие как фармацевтически приемлемый эксципиент, носитель, адъювант, буферы и т. д.

**[00126]** В контексте данного документа термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество», используемый в данном документе, относится к количеству агента, достаточному для снижения и/или облегчения степени тяжести и/или продолжительности (i) заболевания, нарушения или состояния у субъекта, и/или (ii) симптома у субъекта. Термин также включает количество агента, необходимое для (i) уменьшения или снижения интенсивности развития или прогрессирования данного заболевания, нарушения или состояния, (ii) уменьшения или снижения интенсивности рецидива, развития или манифестации данного заболевания, нарушения или состояния и/или (iii) улучшения или усиления профилактического или терапевтического эффекта(-ов) другого агента или терапии (например, агента, отличного от связывающих агентов, представленных в данном документе).

**[00127]** Термин «терапевтический эффект», используемый в данном документе, относится к эффекту и/или способности агента уменьшать и/или улучшать степень тяжести и/или продолжительность (i) заболевания, нарушения или состояния у субъекта, и/или (ii) симптома у субъекта. Этот термин также охватывает способность агента (i) уменьшать или снижать интенсивность развития или прогрессирования данного заболевания, нарушения или состояния, (ii) уменьшать или снижать интенсивность рецидив, развития или манифестации данного заболевания, нарушения, или состояния, и/или (iii) для улучшения или усиления профилактического или терапевтического эффекта(-ов) другого агента или терапии (например, агента, отличного от связывающих агентов, представленных в данном документе).

**[00128]** В контексте данного документа термины «лечат», или «лечение», или «процесс лечения», или «лечить», или «облегчение», или «облегчат», или «процесс облегчения», или «облегчать» относятся к терапевтическим мерам, направленным, на замедление, уменьшение симптомов и/или остановку прогрессирования патологического состояния или нарушения. Таким образом, те, кто нуждается в лечении, включают тех, кто уже страдает этим нарушением.

**[00129]** Термин «предотвращать» или «профилактика» или «предупреждение», используемый в данном документе, относится к частичному или полному ингибированию

развития, рецидива, манифестации или распространения заболевания, нарушения или состояния или его симптома у субъекта.

**[00130]** В контексте данного документа термин «иммунный ответ» включает ответы как врожденной иммунной системы, так и адаптивной иммунной системы. Он включает клеточноопосредованный и/или гуморальный иммунные ответы. Он включает ответы как Т-клеток, так и В-клеток, а также ответы других клеток иммунной системы, таких как естественные клетки-киллеры (NK), моноциты, макрофаги, дендритные клетки и т. д.

**[00131]** В контексте данного документа употребление «около» или «приблизительно» в отношении величины или параметра включает (и описывает) варианты осуществления, которые непосредственно относятся к этим величине или параметру. Например, описание, в котором употребляется «около X», включает описание «X».

**[00132]** Как используется в настоящем описании и формуле изобретения, формы единственного числа включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное.

**[00133]** Следует понимать, что в тех случаях, когда варианты осуществления описаны в данном документе термином «содержащий», в противном случае аналогичные варианты осуществления, описанные в терминах «состоящий из» и/или «состоящий в основном из», также представлены. Следует понимать, что во всех случаях, когда варианты осуществления описаны в данном документе фразой «состоящий преимущественно из», также предложены иные аналогичные варианты осуществления, описанные в терминах «состоящий из».

**[00134]** Подразумевается, что термин «и/или», используемый в данном документе в таком выражении, как «А и/или В», включает как А, так и В; А или В; А (отдельно) и В (отдельно). Аналогичным образом, термин «и/или», используемый во фразе, такой как «А, В и/или С», предназначен для охвата каждого из следующих вариантов осуществления: А, В, и С; А, В, или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно); и С (отдельно).

## II. Связывающие ИЛТ агенты

**[00135]** Аминокислотные (АК) последовательности ИЛТ2 человека (UniProtKB № Q8NHL6), ИЛТ4 человека (UniProtKB № Q8N423), ИЛТ2 макака-резуса («резуса») (NCBI, идентификационный номер XP\_028694980.1) и яванского макака («супо») ИЛТ2 (внутренняя последовательность имеет 98% идентичности с UniProtKB № A0A2K5VN04) представлены в данном документе как SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:15 и SEQ ID NO:166, соответственно. В контексте данного документа «ссылка» на положение

аминокислот в ILT2 или ILT4 относится к нумерации аминокислотных последовательностей, включая сигнальную последовательность.

**[00136]** Геномный ортолог ILT2 человека обнаружен в геноме обезьяны, однако геномного ортолога ILT4 человека, по-видимому, не существует. Профили экспрессии ортолога ILT2 обезьяны сравнимы с комбинированными профилями экспрессии ILT2 человека и ILT4 человека. Не ограничиваясь какой-либо теорией, считается, что ортолог ILT2 у обезьян может обладать биологическими/функциональными возможностями, эквивалентными комбинации биологических функций ILT2 и ILT4 человека.

**[00137]** ILT2 представляет собой однопроходный трансмембранный белок типа I с расчетной молекулярной массой приблизительно 71 кДа. ILT2 (человека, макака-резуса и яванского макака) характеризуется внеклеточным доменом, состоящим из четырех Ig-подобных доменов типа C2, трансмембранным доменом и длинным цитоплазматическим доменом, содержащим 4 домена ITIM (см., например, Borges *et al.*, 1997, *J. Immunol.*, 159:5192-5196). Четыре Ig-подобных домена типа C2 могут называться в данном документе доменом 1 (D1), доменом 2 (D2), доменом 3 (D3) и доменом 4 (D4). D1 расположен в N-концевой части белка, затем D2, D3, а D4 находится ближе всего к трансмембранной области. Как охарактеризовано в UniProtKB, ILT2 человека представляет собой белок из 650 аминокислот (АК) - сигнальная последовательность представляет собой АК 1-23, внеклеточный домен представляет собой АК 24-461, трансмембранная область представляет собой 462-482 АК, а цитоплазматический домен представляет собой АК 483-650. Во внеклеточном домене D1 представляет собой АК 27-115, D2 представляет собой АК 116-221, D3 представляет собой АК 222-312, D4 представляет собой АК 313-409, а «стеблевая область» представляет собой АК 410-461. В пределах цитоплазматического домена ITIM представляют собой АК 531-536, 560-565, 612-617 и 642-647. ILT2 макака-резуса представляет собой белок из 639 аминокислот (АК), по сравнению со структурной характеристикой ILT2 человека сигнальная последовательность представляет собой АК 1-23, внеклеточный домен представляет собой АК 24-460, трансмембранная область представляет собой АК 461-481, и цитоплазматический домен представляет собой АК 482-639. Во внеклеточном домене D1 представляет собой АК 27-114, D2 представляет собой АК 115-220, D3 представляет собой АК 221-311, D4 представляет собой АК 312-408, а «стеблевая область» представляет собой АК 409-460. В пределах цитоплазматического домена ITIM представляют собой АК 530-535, 559-564, 601-606 и 631-636. ILT2 яванского макака представляет собой белок из 651 аминокислот (АК), по сравнению со структурной характеристикой ILT2 человека сигнальная последовательность представляет собой АК 1-23, внеклеточный домен представляет собой АК 24-461, трансмембранная область

представляет собой АК 462-482, и цитоплазматический домен представляет собой АК 483-651. Во внеклеточном домене D1 представляет собой АК 27-114, D2 представляет собой АК 115-220, D3 представляет собой АК 221-311, D4 представляет собой АК 312-408, а «стеблевая область» представляет собой АК 409-461. В пределах цитоплазматического домена ITIM представляют собой АК 531-536, 561-566, 613-618 и 643-648. ILT2 экспрессируется (в разной степени) на естественных клетках-киллерах (NK), моноцитах, макрофагах, эозинофилах, базофилах, дендритных клетках (DC), субпопуляциях Т-клеток и В-клеток. Известно, что с ILT2 взаимодействуют различные лиганды, включая молекулы HLA класса I (например, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F и HLA-G). ILT2, по-видимому, сильнее связывается с «неклассической» молекулой MHC I HLA-G, чем с классическими молекулами HLA класса I.

**[00138]** ILT4 имеет структуру, очень похожую на ILT2. Он представляет собой однопроходный трансмембранный белок типа I с расчетной молекулярной массой приблизительно 65 кДа. ILT4 характеризуется внеклеточным доменом, состоящим из четырех Ig-подобных доменов типа C2, трансмембранным доменом и длинным цитоплазматическим доменом, содержащим 3 домена ITIM (см., например, Borges *et al.*, 1997, *J. Immunol.*, 159:5192-5196). Как описано для ILT2, четыре Ig-подобных домена типа C2 могут обозначаться в данном документе как D1, D2, D3 и D4. D1 расположен в N-концевой части белка, затем D2, D3, а D4 находится ближе всего к трансмембранной области. Как охарактеризовано в UniProtKB, ILT4 человека представляет собой белок из 598 аминокислот (АК) - сигнальная последовательность представляет собой АК 1-21, внеклеточный домен представляет собой АК 22-461, трансмембранная область представляет собой 462-482 АК, а цитоплазматический домен представляет собой АК 483-598. Во внеклеточном домене D1 представляет собой АК 27-110, D2 представляет собой АК 111-229, D3 представляет собой АК 230-318, D4 представляет собой АК 330-419, а «стеблевая область» представляет собой АК 420-461. В пределах цитоплазматического домена ITIM представляют собой АК 531-536, 560-565, и 590-595. ILT4 экспрессируется на миелоидных клетках, таких как моноциты, макрофаги, дендритные клетки, но не на лимфоидных клетках. Было замечено, что ILT4 связывает различные лиганды, особенно молекулы HLA класса I, белки ANGPTL, ингибиторы миелина и  $\beta$ -амилоид.

**[00139]** Понятно, что домены ILT2 или ILT4 (например, ILT2 человека, ILT2 макака-резуса, ILT2 яванского макака или ILT4 человека) могут быть определены по-разному специалистами в данной области техники, поэтому N-концевые аминокислоты и C-концевые аминокислоты любого домена или области ILT2 или ILT4 могут отличаться на 1, 2, 3, 4, 5 или более аминокислотных остатков.

**[00140]** В настоящем изобретении предложены агенты, которые связывают ILT2, ILT4 или ILT2 и ILT4, т.е. связывающие ILT агенты. Агенты, которые связывают как ILT2, так и ILT4 (связывающие ILT2/ILT4 агенты), могут упоминаться в данном документе как «двойные связывающие агенты». В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает ILT2 или фрагмент ILT2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит внеклеточный домен ILT2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит один или более Ig-подобных доменов типа C2 (например, D1, D2, D3 и/или D4). В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит D1 и D2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит D2 и D3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит D3 и D4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит D1, D2 и D3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит D2, D3 и D4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит один или более Ig-подобных доменов типа C2 и стеблевую область. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 содержит D4-стебель, D3-D4-стебель или D2-D3-D4-стебель.

**[00141]** В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен ILT2 человека содержит аминокислоты 24-461 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D1 ILT2 человека содержит аминокислоты 27-115 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D2 ILT2 человека содержит аминокислоты 116-221 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D3 ILT2 человека содержит аминокислоты 222-312 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D4 ILT2 человека содержит аминокислоты 313-409 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D1-D2 ILT2 человека содержит аминокислоты 27-221 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D2-D3 ILT2 человека содержит аминокислоты 116-312 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D3-D4 ILT2 человека содержит аминокислоты 222-409 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D1-D2-D3 ILT2 человека содержит аминокислоты 27-312 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D2-D3-D4 ILT2 человека содержит аминокислоты 116-409 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D4-стебель ILT2 человека содержит аминокислоты 313-461 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D3-D4-стебель ILT2 человека содержит аминокислоты 222-461 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления D2-D3-D4-стебель ILT2 человека содержит аминокислоты 116-461 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4. В некоторых



вариантах осуществления фрагмент ILT2 макака-резуса содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 макака-резуса содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 макака-резуса содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18 и SEQ ID NO:19. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19 и SEQ ID NO:20. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20 и SEQ ID NO:21. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19 и SEQ ID NO:20. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20 и SEQ ID NO:21.

**[00143]** В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 24-461 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D1 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 27-114 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D2 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 115-220 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D3 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 221-311 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D4 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 312-408 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D1-D2 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 27-220 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D2-D3 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 115-311 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D3-D4 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 221-408 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D1-D2-D3 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 27-311 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D2-D3-D4 ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 115-408 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D4-стебель ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 312-461 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D3-D4-стебель ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 221-461 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления D2-D3-D4-стебель ILT2 яванского макака содержит аминокислоты 115-461 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 яванского макака содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:168. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 яванского макака содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 яванского макака содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:170. В

некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 яванского макака содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:171. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 яванского макака содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:172. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 яванского макака содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169 и SEQ ID NO:170. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:170 и SEQ ID NO:171. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:171 и SEQ ID NO:172. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:170 и SEQ ID NO:171. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT2 человека содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:170, SEQ ID NO:171 и SEQ ID NO:172.

**[00144]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент ILT2 (например, ILT2 человека, ILT2 макака-резуса и/или ILT2 яванского макака). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент, или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в определенной области ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в пределах внеклеточного домена ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменом D1 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменом D2 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменом D3 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменом D4 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент, или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в D4-стеблевой области ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменами D1-D2 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменами D2-D3 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменами D3-D4 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменами D1-D2-D3 ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается с доменами D2-D3-D4 ILT2. В некоторых вариантах

осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп на ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает конформационный эпитоп на ILT2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент не связывается с другими белками LILRB человека (например, ILT3, ILT4, ILT5 или LILRB5). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент не связывает другие белки LILRB человека (например, ILT3, ILT5 или LILRB5). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент не связывает один или более белков LILRA человека (например, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA5 или LILRA6). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент не связывает LILRA2, LILRA4, LILRA5 или LILRA6.

**[00145]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает ILT2 человека. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает ILT2 яванского макака и/или ILT2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает ILT2 человека, ILT2 яванского макака и ILT2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает SEQ ID NO:2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает SEQ ID NO:3. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 24-461 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 27-115 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 116-221 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 222-312 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 313-409 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 27-221 SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 116-312 SEQ ID NO:1. В









**[00150]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает ILT4 или фрагмент ILT4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит внеклеточный домен ILT4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит один или более Ig-подобных доменов типа C2 (например, D1, D2, D3 и/или D4). В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит D1 и D2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит D2 и D3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит D3 и D4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит D1, D2 и D3. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит D2, D3 и D4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит один или более Ig-подобных доменов типа C2 и стеблевую область. В некоторых вариантах осуществления фрагмент ILT4 содержит D4-стебель, D3-D4-стебель или D2-D3-D4-стебель. В некоторых вариантах осуществления внеклеточный домен ILT4 человека содержит аминокислоты 22-461 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D1 ILT4 человека содержит аминокислоты 27-110 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D2 ILT4 человека содержит аминокислоты 111-229 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D3 ILT4 человека содержит аминокислоты 230-318 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D4 ILT4 человека содержит аминокислоты 330-419 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D1-D2 ILT4 человека содержит аминокислоты 27-229 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D2-D3 ILT4 человека содержит аминокислоты 111-318 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D3-D4 ILT4 человека содержит аминокислоты 230-419 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D1-D2-D3 ILT4 человека содержит аминокислоты 27-318 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D2-D3-D4 ILT4 человека содержит аминокислоты 111-419 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D4-стебель ILT4 человека содержит аминокислоты 330-461 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D3-D4-стебель ILT4 человека содержит аминокислоты 230-461 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления D2-D3-D4-стебель ILT4 человека содержит аминокислоты 111-461 SEQ ID NO:8.

**[00151]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в определенной области ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается во внеклеточном домене ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий

ILT2/ILT4 агент связывается в домене D1 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в домене D2 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в домене D3 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в домене D4 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в D4-стеблевой области ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в доменах D1-D2 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в доменах D2-D3 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в доменах D3-D4 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в доменах D1-D2-D3 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывается в доменах D2-D3-D4 ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп на ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает конформационный эпитоп на ILT4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент не связывается с другими белками LILRB человека (например, ILT2, ILT3, ILT5 или LILRB5). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент не связывает другие белки LILRB человека (например, ILT3, ILT5 или LILRB5). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент не связывает один или более белков LILRA человека (например, LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA5 или LILRA6). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент не связывает LILRA2, LILRA4, LILRA5 или LILRA6.

**[00152]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает ILT4 человека. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает фрагмент, содержащий аминокислоты 22-461 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или



некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14.

**[00154]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп, содержащий аминокислоты в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп, содержащий аминокислоты в SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп, содержащий аминокислоты в SEQ ID NO:11. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп, содержащий аминокислоты в SEQ ID NO:12. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп, содержащий аминокислоты в SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент связывает эпитоп, содержащий аминокислоты в SEQ ID NO:14.

**[00155]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент связывает ILT2 человека, ILT4 человека или оба ILT2/ILT4 человека и имеет по меньшей мере одно или более из следующих свойств: (i) связывает ILT2 макака-резуса; (ii) связывает ILT2 яванского макака; (iii) не связывает ILT3, ILT5 и LILRB5; (iv) не связывает LILRA2, LILRA4, LILRA5, и LILRA6; (v) представляет собой антагонист ILT2; (vi) представляет собой антагонист ILT4, (vii) ингибирует активность ILT2; (viii) ингибирует активность ILT4; (ix) ингибирует сигналинг ILT2 в клетках, которые экспрессируют ILT2; (x) ингибирует сигналинг ILT4 в клетках, которые экспрессируют ILT4; (xi) ингибирует связывание ILT2 с молекулами MHC I; (xii) ингибирует связывание ILT4 с молекулами MHC I; (xiii) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию миелоидных клеток; (xiv) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию миелоидных клеток; (xv) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию активности миелоидных клеток; (xvi) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию активности миелоидных клеток; (xvii) восстанавливает активацию FcR в миелоидных клетках; (xviii) усиливает активность NK-клеток; (xix) усиливает активность CTL; и/или (xx) усиливает фагоцитоз макрофагов.

[00156] В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2 агент представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ4 агент представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой антитело к ИЛТ2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой антитело к ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой антитело к ИЛТ2/ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой рекомбинантное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой химерное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой гуманизированное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG3. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG2 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит легкую цепь каппа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область легкой цепи каппа. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область легкой каппа-цепи человека. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит легкую цепь лямбда. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область легкой цепи лямбда. В некоторых вариантах реализации антитело содержит константную область лямбда легкой цепи человека. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой фрагмент антитела, содержащий по меньшей мере один

антигенсвязывающий сайт. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой scFv. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой связанный дисульфидной связью scFv. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой связанный дисульфидной связью sc(Fv)<sub>2</sub>. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело Fab, Fab', или F(ab)<sub>2</sub>. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой диатело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой наноантитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полиспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моновалентное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой двухвалентное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой четырехвалентное антитело.

**[00157]** В некоторых вариантах осуществления антитело выделяют. В некоторых вариантах осуществления антитело по существу чистым.

**[00158]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент (например, связывающий ИТ2 агент, связывающий ИТ4 агент, или связывающий ИТ2/ИТ4 агент) представляет собой поликлональное антитело. Поликлональные антитела могут быть получены любым способом, известным специалистам в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления поликлональные антитела получают путем иммунизации животного (например, кролика, крысы, мыши, козы, осла) представляющим интерес антигеном (например, очищенным пептидным фрагментом, рекомбинантным белком или слитым белком) с использованием множественных подкожных или внутривентральных инъекций. В некоторых вариантах осуществления антиген конъюгирован с носителем, таким как гемоцианин лимфы улитки (KLH), сывороточный альбумин, бычий тиреоглобулин или ингибитор трипсина сои. Антиген (с белком-носителем или без него) разводят в стерильном физиологическом растворе и обычно объединяют с адъювантом (например, полным или неполным адъювантом Фрейнда) для образования стабильной эмульсии. Через некоторое время у иммунизированного животного выделяют поликлональные антитела (например, из крови или асцита). В некоторых вариантах осуществления поликлональные антитела очищают от сыворотки или асцита в соответствии со стандартными способами в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гель-электрофорез и/или диализ.

**[00159]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент (например, связывающий ИТ2 агент, связывающий ИТ4 агент, или связывающий ИТ2/ИТ4 агент) представляет собой моноклональное антитело. Моноклональные антитела могут быть получены любым способом, известным специалистам в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела получают с использованием гибридных методов, известных специалистам в данной области техники. Например, с использованием гибридного метода мышь, крысу, кролика, хомяка или другое подходящее животное-хозяин иммунизируют, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления лимфоциты иммунизируют *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления иммунизирующий антиген представляет собой человеческий белок или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления иммунизирующий антиген представляет собой мышинный белок или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления иммунизирующий антиген представляет собой белок макака-резуса или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления иммунизирующий антиген представляет собой белок яванского макака или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления иммунизирующий антиген представляет собой комбинацию двух или более (например, 2, 3, 4) родственных белков или их фрагментов.

**[00160]** После иммунизации лимфоциты выделяют и сливают с подходящей линией клеток миеломы с использованием, например, полиэтиленгликоля. Гибридные клетки отбирают с использованием специализированных сред, известных в данной области техники, а неслитые лимфоциты и клетки миеломы не выживают в процессе селекции. Гибридомы, продуцирующие моноклональные антитела против выбранного антигена могут быть идентифицированы различными методами, включая, помимо прочего, иммунопреципитацию, иммуноблоттинг и анализы связывания *in vitro* (например, проточную цитометрию, FACS, ELISA, ППР (например, Biacore) и радиоиммуноанализ). После идентификации клеток гибридомы, которые вырабатывают антитела с необходимой специфичностью, аффинностью и/или активностью, клоны можно субклонировать с помощью процедур предельного разведения. В некоторых вариантах осуществления для распределения клеток одноклеточной гибридомы по планшетах используются высокопроизводительные способы. Гибридомы можно размножать либо в культуре *in vitro* стандартными методами, либо *in vivo* в виде асцитных опухолей у животных. Моноклональные антитела могут быть очищены из культуральной среды или асцитной жидкости в соответствии со стандартными методами в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, аффинную хроматографию, ионообменную хроматографию, гель-электрофорез и диализ.

**[00161]** В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела получают с использованием методов рекомбинантной ДНК, известных специалистам в данной области техники. Например, полинуклеотиды, кодирующие антитело, выделяют из зрелых В-клеток или гибридомных клеток, например, с помощью ОТ-ПЦР с использованием олигонуклеотидных праймеров, которые специфически амплифицируют гены, кодирующие тяжелые и легкие цепи антитела, и их последовательность определяют с помощью стандартных методов. Выделенные полинуклеотиды, кодирующие тяжелую и легкую цепи, затем клонируют в подходящие векторы экспрессии, которые продуцируют моноклональные антитела при трансфекции в клетки-хозяева, такие как *E. coli*, обезьяньи клетки COS, клетки яичника китайского хомяка (СНО) или клетки миеломы, которые иначе не продуцируют белки иммуноглобулинов.

**[00162]** В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные моноклональные антитела выделяют из библиотек фагового дисплея, экспрессирующих переменные домены или CDR желаемого вида. Скрининг фаговых библиотек может быть осуществлен различными методами, известными в данной области техники.

**[00163]** В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело модифицируют с использованием технологии рекомбинантной ДНК для получения альтернативных антител. В некоторых вариантах осуществления константные домены легкой цепи и тяжелой цепи мышинового моноклонального антитела заменяют константными областями человеческого антитела для получения химерного антитела. В некоторых вариантах осуществления константные области усекают или удаляют для получения желаемого фрагмента моноклонального антитела. В некоторых вариантах осуществления сайт-направленный мутагенез или мутагенез высокой плотности переменной(-ых) области(-ей) используют для оптимизации специфичности и аффинности моноклонального антитела.

**[00164]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент (например, связывающий ИТ2 агент, связывающий ИТ4 агент, или связывающий ИТ2/ИТ4 агент) представляет собой гуманизованное антитело. В данной области техники известны различные способы получения гуманизованных антител. В некоторых вариантах осуществления гуманизованное антитело содержит один или более аминокислотных остатков, введенных в него из источника, отличного от человеческого. В некоторых вариантах осуществления гуманизацию осуществляют путем замены одной или более нечеловеческих последовательностей CDR на соответствующие последовательности CDR человеческого антитела. В некоторых вариантах осуществления гуманизованные антитела конструируют путем замены всех шести CDR нечеловеческого антитела (например, мышинового антитела) на соответствующие CDR человеческого антитела.

**[00165]** Выбор того, какую переменную область тяжелой цепи и/или переменную область легкой цепи человека использовать для получения гуманизованных антител, можно сделать на основе множества факторов и с помощью множества способов, известных в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления используется метод «наилучшего соответствия», когда последовательность переменной области нечеловеческого (например, грызунов) антитела подвергается скринингу по всей библиотеке известных человеческих последовательностей переменной области. Человеческая последовательность, которая наиболее похожа на нечеловеческую последовательность (например, грызуна), выбирают в качестве человеческого каркаса переменной области для гуманизованного антитела. В некоторых вариантах осуществления в качестве каркаса переменной области выбран конкретный каркас переменной области, полученный из консенсусной последовательности всех человеческих антител конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. В некоторых вариантах осуществления последовательность каркаса переменной области получена из консенсусных последовательностей наиболее распространенных подклассов человека. В некоторых вариантах осуществления в качестве источника последовательностей каркаса переменной области используют гены зародышевой линии человека.

**[00166]** Другие методы гуманизации включают, но не ограничиваются этим, метод, называемый «супергуманизация», который описывается как прямой перенос CDR в каркас зародышевой линии человека, способ, называемый «оптимизация содержания участков последовательности человека» (HSC), который основан на показателе «человечности антител», способы, основанные на создании больших библиотек гуманизованных вариантов (включая библиотеки фаговых, рибосомных и дрожжевых дисплеев), и способы, основанные на перетасовке каркасных областей.

**[00167]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, связывающий ILT2 агент, связывающий ILT4 агент, или связывающий ILT2/ILT4 агент) представляет собой антитело человека. Человеческие антитела могут быть получены с использованием различных методов, известных в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления антитела человека получают из иммортализованных В-лимфоцитов человека, иммунизированных *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления антитела человека получают из лимфоцитов, выделенных от иммунизированного индивида. В любом случае можно получить и выделить клетки, продуцирующие антитело, направленное против целевого антигена. В некоторых вариантах осуществления человеческое антитело выбирают из фаговой библиотеки, где эта фаговая библиотека экспрессирует человеческие антитела. Альтернативно, технология фагового дисплея

может быть использована для получения человеческих антител и фрагментов антител *in vitro* из репертуара генов варибельной области иммуноглобулина от неиммунизированных доноров-людей. Методы создания и применения фаговых библиотек антител хорошо известны в данной области техники. Как только антитела идентифицированы, для получения человеческих антител с более высокой аффинностью можно использовать стратегии созревания аффинности, известные в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, перетасовку цепей и сайт-направленный мутагенез. В некоторых вариантах осуществления антитела человека продуцируют у трансгенных мышей, которые содержат локусы иммуноглобулина человека. После иммунизации эти мыши способны продуцировать полный репертуар человеческих антител в отсутствие продукции эндогенного иммуноглобулина.

**[00168]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент (например, связывающий ИТ2 агент, связывающий ИТ4 агент, или связывающий ИТ2/ИТ4 агент) представляет собой фрагмент антитела. Используемый в данном документе термин «фрагмент антитела» относится к молекуле, отличной от интактного антитела, которая содержит часть антитела и, как правило, по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт. Примеры фрагментов антител включают, но не ограничиваются ими, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, молекулы одноцепочечных антител (например, scFv), scFv, связанные дисульфидной связью (dsscFv), наноантитела, диатела, триатела, тетратела, минитела, антитела с двойным варибельным доменом (DVD), антитела с одним варибельным доменом (например, антитела верблюдовых) и полиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител

**[00169]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент представляет собой антитело scFv. В некоторых вариантах осуществления scFv представляет собой связанный дисульфидной связью scFv (dsscFv), который представляет собой scFv, содержащий сконструированную дисульфидную связь между варибельной областью легкой цепи и варибельной областью тяжелой цепи scFv. В некоторых вариантах осуществления дисульфидная связь повышает стабильность молекулы scFv. В некоторых вариантах осуществления дисульфидная связь повышает термостабильность молекулы scFv.

**[00170]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент представляет собой Fv. В некоторых вариантах реализации связывающий ИТ агент представляет собой Fab. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент представляет собой F(ab')<sub>2</sub>. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент представляет собой F(ab').

[00171] Фрагменты антител могут быть получены различными способами, включая, но не ограничиваясь этим, протеолитическое расщепление интактного антитела. Фрагменты антител, описанные в данном документе, могут быть получены с использованием рекомбинантных технологий, известных в данной области техники (например, экспрессия *E.coli* или фага).

[00172] В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент (например, связывающий ИТ2 агент, связывающий ИТ4 агент, или связывающий ИТ2/ИТ4 агент) представляет собой биспецифическое антитело. Биспецифические антитела способны распознавать и связывать по меньшей мере два разных антигена или эпитопа. Различные эпитопы могут находиться либо в одной молекуле (например, два эпитопа на ИТ2), либо на разных молекулах (например, один эпитоп на ИТ2 и второй эпитоп на другой мишени). В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет повышенную активность по сравнению с отдельным антителом или комбинацией более чем одного антитела. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет пониженную токсичность по сравнению с отдельным антителом или комбинацией более чем одного антитела. Специалистам в данной области техники известно, что любое терапевтический агент может иметь уникальную фармакокинетику (ФК) (например, время полужизни из кровотока). В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет способность синхронизировать ФК двух активных связывающих агентов, при этом два отдельных связывающих агента имеют разные ФК профили. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет способность объединять действие двух агентов в общей области (например, ткани) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет способность объединять действия двух агентов на общей мишени (например, на определенном типе клеток). В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет способность направлять действия двух агентов на более чем один биологический путь или функцию. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет способность нацеливаться на две разные клетки и сближать их.

[00173] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет пониженную токсичность и/или побочные эффекты. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет меньшую токсичность и/или побочные эффекты по сравнению со смесью двух отдельных антител или антител в виде отдельных агентов. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело имеет повышенный терапевтический индекс. В некоторых вариантах осуществления

биспецифическое антитело имеет повышенный терапевтический индекс по сравнению со смесью двух отдельных антител или антител в виде отдельных агентов.

**[00174]** Многие методы получения биспецифических антител известны специалистам в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит константные области тяжелой цепи с модификациями аминокислот, которые являются частью поверхности взаимодействия между двумя тяжелыми цепями. Эти модификации сделаны для усиления образования гетеродимера и, как правило, уменьшения или устранения образования гомодимера. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело создается с использованием стратегии «выступы-во-впадины» (КИН). В некоторых вариантах реализации биспецифическое антитело содержит вариантные шарнирные области, неспособные образовывать дисульфидные связи между идентичными тяжелыми цепями (например, уменьшают образование гомодимеров). В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит тяжелые цепи с изменениями в аминокислотах, которые приводят к изменению электростатических взаимодействий. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела содержат тяжелые цепи с изменениями в аминокислотах, которые приводят к изменению гидрофобных/гидрофильных взаимодействий.

**[00175]** Биспецифические антитела могут быть интактными антителами или фрагментами антител, содержащими антигенсвязывающими сайты.

**[00176]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой антитело, которое связывает ИЛТ2. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ связывается с ИЛТ2 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ связывает ИЛТ2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ связывается с ИЛТ2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ связывает ИЛТ2 человека и ИЛТ2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ связывает ИЛТ2 человека и ИЛТ2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ связывает ИЛТ2 человека, ИЛТ2 макака-резуса и ИЛТ2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 связывается с эпитопом ИЛТ2. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 связывается с эпитопом ИЛТ2 во внеклеточном домене ИЛТ2 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 связывается с эпитопом ИЛТ2 во внеклеточном домене ИЛТ2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 связывается с эпитопом ИЛТ2 во внеклеточном домене ИЛТ2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 24-461 SEQ



вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:21. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 24-461 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 27-114 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 115-220 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 221-311 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 312-408 SEQ ID NO:166. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:168. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:169. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:170. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:171. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:172. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой конформационный эпитоп. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

**[00177]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент представляет собой антитело, которое связывает ILT4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT связывается с ILT4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом ILT4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом ILT4 во внеклеточном домене ILT4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 22-461 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 27-110 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 111-229 SEQ ID NO:8. В

некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 230-318 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 330-419 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:9. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:10. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:11. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:12. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:13. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 связывается с эпитопом, содержащим аминокислоты в SEQ ID NO:14. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой конформационный эпитоп. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

**[00178]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент представляет собой антитело, которое связывает ILT2 и ILT4. Специалистам в данной области понятно, что антитело, которое связывает ILT2 и ILT4, описанное как двойной связывающий агент, содержит по меньшей мере один сайт связывания антигена, который связывает эпитоп как на ILT2, так и на ILT4, в отличие от биспецифического антитела, которое будет включать один антигенсвязывающий сайт, который связывает эпитоп на ILT2, и второй антигенсвязывающий сайт, который связывает другой эпитоп на ILT4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывает ILT2 человека и ILT4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывает ILT2 человека, ILT4 человека, ILT2 яванского макака и ILT2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывается с эпитопом ILT2 и эпитопом ILT4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывается с эпитопом во внеклеточном домене ILT2 человека и эпитопом во внеклеточном домене ILT4 человека, где эпитоп ILT2 и эпитоп ILT4 являются одинаковыми или по существу одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывает эпитоп ILT2 во внеклеточном домене ILT2 человека, эпитоп ILT4 во внеклеточном домене ILT4 человека, эпитоп ILT2 во внеклеточном домене ILT2 яванского макака и эпитоп ILT2 во внеклеточном домене ILT2 макака-резуса. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту

(например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 24-461 SEQ ID NO:1, и таким же или по существу таким же эпитопом в пределах аминокислот 22-461 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 27-115 SEQ ID NO:1, и таким же или по существу таким же эпитопом в пределах аминокислот 27-110 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 116-221 SEQ ID NO:1, и таким же или по существу таким же эпитопом в пределах аминокислот 111-229 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 222-312 SEQ ID NO:1, и таким же или по существу таким же эпитопом в пределах аминокислот 230-318 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 связывается с эпитопом, содержащим по меньшей мере одну аминокислоту (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) в пределах аминокислот 313-409 SEQ ID NO:1, и таким же или по существу таким же эпитопом в пределах аминокислот 330-419 SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой конформационный эпитоп. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой линейный эпитоп.

**[00179]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой антитело к ILT2, антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой вариант антитела к ILT2, антитела к ILT4 или антитела к ILT2/ILT4, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к ИЛТ содержит от одной до тридцати аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к ИЛТ содержит от одной до двадцати пяти аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к ИЛТ содержит от одной до двадцати аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к ИЛТ содержит от одной до пятнадцати аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к ИЛТ содержит от одной до десяти аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к ИЛТ содержит от одной до пяти аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления вариант антитела к ИЛТ содержит от одной до трех аминокислотных замен. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная замена(-ы) находится в CDR антитела. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная замена(-ы) отсутствует

в CDR антитела. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная замена(-ы) находится в каркасной области антитела. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная замена(-ы) представляет собой консервативную аминокислотную замену.

**[00180]** CDR антитела определяются специалистами в данной области техники с использованием различных способов/систем. Эти системы и/или определения были разработаны и усовершенствованы в течение ряда лет и включают Kabat, Chothia, IMGT, AbM и Contact. Определение Kabat основано на вариабельности последовательности и являются обычно используемыми. Определение Chothia основано на расположении областей структурной петли. Система IMGT основана на изменчивости последовательности и расположении в структуре вариабельного домена. Определение AbM является компромиссом между Kabat и Chothia. Определение Contact основано на анализе доступных кристаллических структур антител. Иллюстративная система представляет собой комбинацию Kabat и Chothia. Программное обеспечение (например, abYsis) доступно и известно специалистам в данной области техники для анализа последовательности антител и определения CDR.

**[00181]** Конкретные последовательности CDR, определенные в данном документе, обычно основаны на комбинации определений Kabat и Chothia (иллюстративное определение). Однако следует понимать, что ссылка на CDR или CDR вариабельной области тяжелой цепи и/или CDR или CDR вариабельной области легкой цепи конкретного антитела будет охватывать все определения CDR, известные специалистам в данной области техники.

**[00182]** В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT, описанное в данном документе, содержит шесть CDR из антитела 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1 или Hz73D1.v1 на основании определения Kabat. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT, описанное в данном документе, содержит шесть CDR из антитела 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1, или Hz73D1.v1 на основании определения Chothia. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT, описанное в данном документе, содержит шесть CDR из антитела 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1, или Hz73D1.v1 на основании определения AbM. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT, описанное в данном документе, содержит шесть CDR из антитела 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1 или Hz73D1.v1 на основании определения IMGT. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT, описанное в данном документе, содержит шесть CDR антитела 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1, или Hz73D1.v1 на основании определения Contact. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT, описанное в данном документе,

содержит шесть CDR из антитела 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1, или Hz73D1.v1 на основании иллюстративного определения.

**[00183]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент представляет собой антитело к ILT (например, антитело к ILT2, антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4), которое содержит один, два, три, четыре, пять, и/или шесть CDR любого из описанных в данном документе антител. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 1, и/или (ii) переменную область легкой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области легкой цепи из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 2, и/или (ii) переменную область легкой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области легкой цепи из таблицы 2. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 3, и/или (ii) переменную область легкой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области легкой цепи из таблицы 3. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 4A или таблицы 4B, и/или (ii) переменную область легкой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области легкой цепи из таблицы 4A или таблицы 4B. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 5, и (ii) переменную область легкой цепи, содержащую три CDR переменной области легкой цепи из таблицы 5. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 6A или таблицы 6B, и/или (ii) переменную область легкой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области легкой цепи из таблицы 6A или таблицы 6B. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 7, и/или (ii) переменную область легкой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области легкой цепи из таблицы 7. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 содержит (i) переменную область тяжелой цепи, содержащую одну, две и/или три CDR переменной области тяжелой цепи из таблицы 8A или таблицы 8B,



вариабельную область легкой цепи, содержащую три CDR вариабельной области легкой цепи из таблицы 8А. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 содержит (i) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую три CDR вариабельной области тяжелой цепи из таблицы 8В, и (ii) вариабельную область легкой цепи, содержащую три CDR вариабельной области легкой цепи из таблицы 8В.

Таблица 1: Последовательности антитела к ILT2 27F9

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GFSLTNYGVS (SEQ ID NO:22)	GFSLTNY (SEQ ID NO:28)	GFSLTNYG VS (SEQ ID NO:22)	NYGVS (SEQ ID NO:31)	TNYGVS (SEQ ID NO:32)
CDR2 вариабельной области тяжелой цепи	IIWGDGSTNYHS ALIS (SEQ ID NO:23)	WGDGS (SEQ ID NO:29)	IIWGDGSTN (SEQ ID NO:30)	IIWGDGSTNYHS ALIS (SEQ ID NO:23)	WLGIIWGDG STN (SEQ ID NO:33)
Вариабельная область тяжелой цепи CDR3	PNWDTYAMDF (SEQ ID NO:24)	PNWDTYA MDF (SEQ ID NO:24)	PNWDTYA MDF (SEQ ID NO:24)	PNWDTYAMDF (SEQ ID NO:24)	AKPNWDTYA MD (SEQ ID NO:34)
Вариабельная область легкой цепи CDR1	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25)	RASQDISNF LN (SEQ ID NO:25)	RASQDISNF LN (SEQ ID NO:25)	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25)	SNFLNWY (SEQ ID NO:35)
CDR2 вариабельной области легкой цепи	CTSKLHS (SEQ ID NO:26)	CTSKLHS (SEQ ID NO:26)	CTSKLHS (SEQ ID NO:26)	CTSKLHS (SEQ ID NO:26)	LLIYCTSKLH (SEQ ID NO:36)

CDR3 вариабельной области легкой цепи	QQGNTLPPT (SEQ ID NO:27)	QQGNTLPP T (SEQ ID NO:27)	QQGNTLPP T (SEQ ID NO:27)	QQGNTLPPT (SEQ ID NO:27)	QQGNTLPP (SEQ ID NO:37)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи 27F9 (SEQ ID NO:125)</p> <p>QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVSWVRQPPGKGLEWLGIIWGDGST NYH SALISRLSISKDNSKSQVFLKLNSLQADDTATYYCAKPNWDTYAMDFWGQGTSVTV SS</p>					
<p>Вариабельная область легкой цепи 27F9 (SEQ ID NO:126)</p> <p>DIQMTQTTSSLASLGDRVTISCRASQDISNFLN WYQQKPDGTVKLLIYCTSKLHSGV PS RFSGSGSETDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPPTFGGGTKLEII</p>					

Таблица 2: Последовательности антитела к ILT4 47C8

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38)	GYSFTGY (SEQ ID NO:44)	GYSFTGYM H (SEQ ID NO:38)	GYMH (SEQ ID NO:47)	TGYMH (SEQ ID NO:48)
CDR2 вариабельной области тяжелой цепи	RVYPNNGDTSY NQFKV (SEQ ID NO:39)	YPNNGD (SEQ ID NO:45)	RVYPNNGDT S (SEQ ID NO:46)	RVYPNNGDTSY NQFKV (SEQ ID NO:39)	WIGRVYPN NGDTS (SEQ ID NO:49)
CDR3 вариабельной области тяжелой цепи	GATVVESLFAY (SEQ ID NO:40)	GATVVESLFA Y (SEQ ID NO:40)	GATVVESLFA Y (SEQ ID NO:40)	GATVVESLFAY (SEQ ID NO:40)	ARGATVVE SLFA (SEQ ID NO:50)
CDR1 вариабельной области легкой цепи	RASESVDNYGN NFLH (SEQ ID NO:41)	RASESVDNY GNNFLH (SEQ ID NO:41)	RASESVDNY GNNFLH (SEQ ID NO:41)	RASESVDNYGN NFLH (SEQ ID NO:41)	DNYGNNFL HWY (SEQ ID NO:51)

Вариабельная область легкой цепи CDR2	RTSNLES (SEQ ID NO:42)	RTSNLES (SEQ ID NO:42)	RTSNLES (SEQ ID NO:42)	RTSNLES (SEQ ID NO:42)	LLIYRTSNLE (SEQ ID NO:52)
Вариабельная область легкой цепи CDR3	QQSNEDPYT (SEQ ID NO:43)	QQSNEDPYT (SEQ ID NO:43)	QQSNEDPYT (SEQ ID NO:43)	QQSNEDPYT (SEQ ID NO:43)	QQSNEDPYT (SEQ ID NO:53)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи 47C8 (SEQ ID NO:127)</p> <p>EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVVKQSHGKSLEWIGRVYPNNGDTSY</p> <p>NQKFKVKAILTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARGATVVESLFAIWGQGTLVTVSA</p>					
<p>Вариабельная область легкой цепи 47C8 (SEQ ID NO:128)</p> <p>DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNNFLHWYQQKPGQPPKLLIYRTSNLES</p> <p>GIPARFSGSGSRDFTLTINPVEADDVATYYCQQSNEDPYTFGGGTKLEIK</p>					

Таблица 3: Последовательности антитела к ILT4 48A5

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54)	GYTFTNY (SEQ ID NO:60)	GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54)	NYGMN (SEQ ID NO:63)	TNYGMN (SEQ ID NO:64)
CDR2 вариабельной области тяжелой цепи	WINTYIGEPIY ADDFKG (SEQ ID NO:55)	NTYIGE (SEQ ID NO:61)	WINTYIGEPI (SEQ ID NO:62)	WINTYIGEPIY ADDFKG (SEQ ID NO:55)	WMGWINTY IGEPI (SEQ ID NO:65)
Вариабельная область тяжелой цепи	RSDYDGYAMD Y (SEQ ID NO:56)	RSDYDGYAMD Y (SEQ ID NO:56)	RSDYDGYAMD Y (SEQ ID NO:56)	RSDYDGYAMD Y (SEQ ID NO:56)	ARRSDYDGYAMD (SEQ ID NO:66)

CDR3					
Вариабельная область легкой цепи CDR1	KSSQSLLYSGN QKNYLA (SEQ ID NO:57)	KSSQSLLYSGN QKNYLA (SEQ ID NO:57)	KSSQSLLYSGN QKNYLA (SEQ ID NO:57)	KSSQSLLYSGN QKNYLA (SEQ ID NO:57)	LYSGNQKN YLAWY (SEQ ID NO:67)
Вариабельная область легкой цепи CDR2	WASTRES (SEQ ID NO:58)	WASTRES (SEQ ID NO:58)	WASTRES (SEQ ID NO:58)	WASTRES (SEQ ID NO:58)	LLIYWASTR E (SEQ ID NO:68)
Вариабельная область легкой цепи CDR3	QQHDSYPT (SEQ ID NO:59)	QQHDSYPT (SEQ ID NO:59)	QQHDSYPT (SEQ ID NO:59)	QQHDSYPT (SEQ ID NO:59)	QQHDSYP (SEQ ID NO:69)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи 48A5 (SEQ ID NO:129)</p> <p>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYI GEPIY</p> <p>ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNPKNEDMATYFCARRSDYDGYAMDYWGQGTS VTVSS</p>					
<p>Вариабельная область легкой цепи 48A5 (SEQ ID NO:130)</p> <p>DIVMSQSPSSLAVSVGERVTMSCKSSQSLLYSGNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYW ASTR</p> <p>ESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYCQQHDSYPTFGGGSRLK</p>					

Таблица 4А: Последовательности антител к ILT2/ILT4 47H6

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70)	GYTFTDY (SEQ ID NO:76)	GYTFTDYY MN (SEQ ID NO:70)	DYYMN (SEQ ID NO:79)	TDYYMN (SEQ ID NO:80)
CDR2 вариабельной области	DFNPNNGGTTY NQKFEG (SEQ ID NO:71)	NPNNGG (SEQ ID NO:77)	DFNPNNGGT T	DFNPNNGGTTY NQKFEG (SEQ ID NO:71)	WIGDFNPNN GGTT

тяжелой цепи			(SEQ ID NO:78)		(SEQ ID NO:81)
CDR3 вариабел ьной области тяжелой цепи	GRFYYGSLYSFD Y (SEQ ID NO:72)	GRFYYGSLY SFDY (SEQ ID NO:72)	GRFYYGSLY SFDY (SEQ ID NO:72)	GRFYYGSLYSFD Y (SEQ ID NO:72)	ARGRFYYGS LYSFD (SEQ ID NO:82)
CDR1 вариабел ьной области легкой цепи	RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73)	RASGNIHNY LA (SEQ ID NO:73)	RASGNIHNY LA (SEQ ID NO:73)	RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73)	HNYLAWY (SEQ ID NO:83)
Вариабел ьная область легкой цепи CDR2	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	LLVYNAKTL A (SEQ ID NO:84)
Вариабел ьная область легкой цепи CDR3	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSI (SEQ ID NO:85)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи 47H6 (SEQ ID NO:131)  EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYIMNWVKQSHGKSLEWIGDFNPNN  GGTTY  NQKFEGKATLTVDKSSNTAYMDLRSLTSEDSAVYYCARGRFYYGSLYSFDYWGQG  TTLTVSS</p>					
<p>Вариабельная область легкой цепи 47H6 (SEQ ID NO:132)  DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGGKSPHLLVYNAKTLAD  GVPS  RFSGSGSGTQYSLKINNLQPEDFGSYQCQHFWTSITFGAGTKLDLK</p>					

Таблица 4B: Anti-ILT2/ILT4 Antibody Hz47H6.v2 Sequences

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабел ьной области	GYTFTDYIMN (SEQ ID NO:70)	GYTFTDY (SEQ ID NO:76)	GYTFTDYY MN (SEQ ID NO:70)	DYYMN (SEQ ID NO:79)	TDYYMN (SEQ ID NO:80)

тяжелой цепи					
CDR2 вариабел ьной области тяжелой цепи	DFNPNNAGTTY NQKFEG (SEQ ID NO:118)	NPNNAG (SEQ ID NO:119)	DFNPNNAGT T (SEQ ID NO:120)	DFNPNNAGTTY NQKFEG (SEQ ID NO:118)	WIGDFNPNN AGTT (SEQ ID NO:121)
CDR3 вариабел ьной области тяжелой цепи	GRFYYGSLYSFD Y (SEQ ID NO:72)	GRFYYGSLY SFDY (SEQ ID NO:72)	GRFYYGSLY SFDY (SEQ ID NO:72)	GRFYYGSLYSFD Y (SEQ ID NO:72)	ARGRFYYGSLYSFD LYSFD (SEQ ID NO:82)
CDR1 вариабел ьной области легкой цепи	RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73)	RASGNIHNY LA (SEQ ID NO:73)	RASGNIHNY LA (SEQ ID NO:73)	RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73)	HNYLAWY (SEQ ID NO:83)
Вариабел ьная область легкой цепи CDR2	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	NAKTLAD (SEQ ID NO:74)	LLIYNAKTLA (SEQ ID NO:122)
Вариабел ьная область легкой цепи CDR3	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSIT (SEQ ID NO:75)	QHFWTSI (SEQ ID NO:85)
Вариабельная область тяжелой цепи Hz47H6.v2 (SEQ ID NO:133) QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEWIGDFNP NAGTTYN QKFEGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRFYYGSLYSFDYWGQGTL VTVSS					
Вариабельная область легкой цепи Hz47H6.v2 (SEQ ID NO:134) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLADG VPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFWTSITFGPGTKVDIK					

Таблица 5: Последовательности антител к ILT2/ILT4 51A1

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86)	GFTFNTY (SEQ ID NO:92)	GFTFNTYAM H (SEQ ID NO:86)	TYAMH (SEQ ID NO:95)	NTYAMH (SEQ ID NO:96)
CDR2 вариабельной области тяжелой цепи	RIRSKSSNYAT YYADSVKD (SEQ ID NO:87)	RSKSSNYA (SEQ ID NO:93)	RIRSKSSNYA TY (SEQ ID NO:94)	RIRSKSSNYAT YYADSVKD (SEQ ID NO:87)	WVARIRSKSSN YATY (SEQ ID NO:97)
Вариабельная область тяжелой цепи CDR3	DGIYYYYGTM YYAMDY (SEQ ID NO:88)	DGIYYYYGTM YYAMDY (SEQ ID NO:88)	DGIYYYYGTM YYAMDY (SEQ ID NO:88)	DGIYYYYGTM YYAMDY (SEQ ID NO:88)	VRDGIYYYYGT MYAMD (SEQ ID NO:98)
Вариабельная область легкой цепи CDR1	RASESVDYYG NSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYY GNSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYY GNSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYYG NSFMY (SEQ ID NO:89)	DYYGNSFMY WY (SEQ ID NO:99)
Вариабельная область легкой цепи CDR2	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100)
Вариабельная область легкой цепи CDR3	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPW (SEQ ID NO:101)
Вариабельная область тяжелой цепи 51A1 (SEQ ID NO:135) EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKS SNYAT					

YYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRDGIYYYYGTMYYYAM DYWGGQGTSTVSS
Вариабельная область легкой цепи 51A1 (SEQ ID NO:136) NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGNSFMWYQQKPGQPPKLLIYFASN LES GVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEAADAASYCQQNNEPWTFGGGTKLEIK

Таблица 6А: Последовательности антител к ILT2/ILT4 64A12

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86)	GFTFNTY (SEQ ID NO:92)	GFTFNTYAM H (SEQ ID NO:86)	TYAMH (SEQ ID NO:95)	NTYAMH (SEQ ID NO:96)
CDR2 вариабельной области тяжелой цепи	RIRSKSSNYAT YYADSVKD (SEQ ID NO:87)	RSKSSNYA (SEQ ID NO:93)	RIRSKSSNYA TY (SEQ ID NO:94)	RIRSKSSNYAT YYADSVKD (SEQ ID NO:87)	WVARIRSKSSN YATY (SEQ ID NO:97)
Вариабельная область тяжелой цепи CDR3	DGIYYYYDTMY YYAMDY (SEQ ID NO:102)	DGIYYYYDTM YYYAMDY (SEQ ID NO:102)	DGIYYYYDTM YYYAMDY (SEQ ID NO:102)	DGIYYYYDTMY YYAMDY (SEQ ID NO:102)	VRDGIYYYYDT MYYYAMD (SEQ ID NO:104)
Вариабельная область легкой цепи CDR1	RASESVDYYG NSFIY (SEQ ID NO:103)	RASESVDYY GNSFIY (SEQ ID NO:103)	RASESVDYY GNSFIY (SEQ ID NO:103)	RASESVDYYG NSFIY (SEQ ID NO:103)	DYYGNSFIYW Y (SEQ ID NO:105)
Вариабельная область легкой цепи CDR2	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100)
Вариабельная	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT	QQNNEDPWT	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPW

область легкой цепи CDR3	(SEQ ID NO:91)	(SEQ ID NO:91)	(SEQ ID NO:101)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи 64A12 (SEQ ID NO:137)</p> <p>EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKS SNYAT</p> <p>YYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNLLKTEDTAMYYCVRDGIYYYYDTMYYYAM DYWGQGTSVTVSS</p>			
<p>Вариабельная область легкой цепи 64A12 (SEQ ID NO:138)</p> <p>NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGNSFIYWYQQKPGQPPKLLIYFASNLE S</p> <p>GVPARFSGSGSRDFTLTIDPVEAADAASYCQQNEDPWTFGGGKLEIK</p>			

Таблица 6В: Последовательности антител к ILT2/ILT4 Hz64A12

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86)	GFTFNTY (SEQ ID NO:92)	GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86)	TYAMH (SEQ ID NO:95)	NTYAMH (SEQ ID NO:96)
CDR2 вариабельной области тяжелой цепи	RIRSKSSNYAT YYADSVKD (SEQ ID NO:87)	RSKSSNYA (SEQ ID NO:93)	RIRSKSSNYATY (SEQ ID NO:94)	RIRSKSSNYAT YYADSVKD (SEQ ID NO:87)	WVARIRSKSSNYATY (SEQ ID NO:97)
Вариабельная область тяжелой цепи CDR3	DGIYYYYDTMY YYAMDY (SEQ ID NO:102)	DGIYYYYDTMY YYAMDY (SEQ ID NO:102)	DGIYYYYDTMY YYAMDY (SEQ ID NO:102)	DGIYYYYDTMY YYAMDY (SEQ ID NO:102)	ARDGIYYYYDTMY YYAMDY (SEQ ID NO:123)
Вариабельная область легкой цепи CDR1	RASESVDYYG NSFIY (SEQ ID NO:103)	RASESVDYYG NSFIY (SEQ ID NO:103)	RASESVDYYG NSFIY (SEQ ID NO:103)	RASESVDYYG NSFIY (SEQ ID NO:103)	DYYGNSFIWY (SEQ ID NO:105)
Вариабельная область легкой цепи CDR1	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES	FASNLES	FASNLES (SEQ ID NO:90)	LLIYFASNLE

область легкой цепи CDR2		(SEQ ID NO:90)	(SEQ ID NO:90)		(SEQ ID NO:100)
Вариабельная область легкой цепи CDR3	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPW (SEQ ID NO:101)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи Hz64A12 (SEQ ID NO:139)</p> <p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKS SNYAT YYADSVKDRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIYYDYDTMYYAM DYWGQGLVTVSS</p>					
<p>Вариабельная область легкой цепи Hz64A12 (SEQ ID NO:140)</p> <p>NIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDYYGNSFIYWYQQKPGQPPKLLIYFASNL ES GVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQNNEDPWTFGGGTKVEIK</p>					

Таблица 7: Последовательности антител к ILT2/ILT4 73C4

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70)	GYTFTDY (SEQ ID NO:76)	GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70)	DYYMN (SEQ ID NO:79)	TDYYMN (SEQ ID NO:80)
CDR2 вариабельной области тяжелой цепи	NVNPNGGTS YNQKFKG (SEQ ID NO:106)	NPNGG (SEQ ID NO:77)	NVNPNGGTS (SEQ ID NO:108)	NVNPNGGTS YNQKFKG (SEQ ID NO:106)	WIGNVNPNGGTS (SEQ ID NO:109)
Вариабельная область тяжелой цепи CDR3	REIFYFGTIYY YAMDY (SEQ ID NO:107)	REIFYFGTIY YYAMDY (SEQ ID NO:107)	REIFYFGTIY YYAMDY (SEQ ID NO:107)	REIFYFGTIYY YAMDY (SEQ ID NO:107)	ARREIFYFGTI YYYAMD (SEQ ID NO:110)
Вариабельная	RASESVDYYG NSFMY	RASESVDYY GNSFMY	RASESVDYY GNSFMY	RASESVDYYG NSFMY	DYYGNSFMY WY

область легкой цепи CDR1	(SEQ ID NO:89)	(SEQ ID NO:89)	(SEQ ID NO:89)	(SEQ ID NO:89)	(SEQ ID NO:99)
Варибельная область легкой цепи CDR2	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100)
Варибельная область легкой цепи CDR3	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPW (SEQ ID NO:101)
<p>Варибельная область тяжелой цепи 73C4 (SEQ ID NO:141)</p> <p>AVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYFTDYMNWVKQSHGKSLEWIGNVNPNNGGTSY</p> <p>NQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARREIFYGTIYYYAMDYWGQGTSVTVSS</p>					
<p>Варибельная область легкой цепи 73C4 (SEQ ID NO:142)</p> <p>DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGNSFMWYQQKPRPPNLLIYFASNLES</p> <p>GVPARFSGSGSRRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNNEDPWTFGGGTKLEIK</p>					

Таблица 8А: Последовательности антител к ILT2/ILT4 73D1

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 варибельной области тяжелой цепи	GYTFTDYIN (SEQ ID NO:111)	GYTFTDY (SEQ ID NO:76)	GYTFTDYIN (SEQ ID NO:111)	DYYIN (SEQ ID NO:115)	TDYYIN (SEQ ID NO:116)
CDR2 варибельной области тяжелой цепи	NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112)	NPNDGG (SEQ ID NO:113)	NVNPNDGGTT (SEQ ID NO:114)	NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112)	WIGNVNPNDGGTT (SEQ ID NO:117)
CDR3 варибельной области легкой цепи	REIFYFGTIYY YAMDY	REIFYFGTIYY YAMDY	REIFYFGTIYY YAMDY	REIFYFGTIYY YAMDY	ARREIFYFGTI YYYAMD

льной области тяжелой цепи	(SEQ ID NO:107)	(SEQ ID NO:107)	(SEQ ID NO:107)	(SEQ ID NO:107)	(SEQ ID NO:110)
CDR1 вариабельной области легкой цепи	RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89)	DYYGNSFMYWY (SEQ ID NO:99)
Вариабельная область легкой цепи CDR2	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100)
Вариабельная область легкой цепи CDR3	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPW (SEQ ID NO:101)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи 73D1 (SEQ ID NO:143)</p> <p>AVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQSHGKSLQWIGNVNPNDGGTTY NQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARREIFYGTIYYYAMDYWGQGTSVTVSS</p>					
<p>Вариабельная область легкой цепи 73D1 (SEQ ID NO:142)</p> <p>DIVLTQSPASLAIVSLGQRATISCRASESVDYYGNSFMYWYQQKPRPPNLLIYFASNLES GVPARFSGSGSRRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNNEDPWTFGGGTKLEIK</p>					

Таблица 8В: Последовательности антител к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1

	Иллюстративные	Chothia	AbM	Kabat	Контакт
CDR1 вариабельной области тяжелой цепи	GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111)	GYTFTDY (SEQ ID NO:76)	GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111)	DYYIN (SEQ ID NO:115)	TDYYIN (SEQ ID NO:116)
CDR2 вариабельной области легкой цепи	NVNPNDGGTTY YNQKFKG	NPNDGG	NVNPNDGGT	NVNPNDGGTTY YNQKFKG	WMGNVNPNDGGTT

льной области тяжелой цепи	(SEQ ID NO:112)	(SEQ ID NO:113)	(SEQ ID NO:114)	(SEQ ID NO:112)	(SEQ ID NO:124)
CDR3 вариабельной области тяжелой цепи	REIFYFYGTIYY YAMDY (SEQ ID NO:107)	REIFYFYGTIYY YAMDY (SEQ ID NO:107)	REIFYFYGTIYY YAMDY (SEQ ID NO:107)	REIFYFYGTIYY YAMDY (SEQ ID NO:107)	ARREIFYFYGTIYY YAMDY (SEQ ID NO:110)
CDR1 вариабельной области легкой цепи	RASESVDYYG NSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYYG NSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYYG NSFMY (SEQ ID NO:89)	RASESVDYYG NSFMY (SEQ ID NO:89)	DYYGNSFMY WY (SEQ ID NO:99)
Вариабельная область легкой цепи CDR2	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	FASNLES (SEQ ID NO:90)	LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100)
Вариабельная область легкой цепи CDR3	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91)	QQNNEDPW (SEQ ID NO:101)
<p>Вариабельная область тяжелой цепи Hz73D1.v1 (SEQ ID NO:144)</p> <p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGNVNPNDGGTTY NQKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARREIFYFYGTIYYAMDIYWGQGTLVTVSS</p>					
<p>Вариабельная область легкой цепи Hz73D1.v1 (SEQ ID NO:145)</p> <p>DIQLTQSPSFLSASVGRVTITCRASESVDYYGNSFMYWYQQKPGKAPKLLIYFASNLES GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQNNEDPWTFGGGTKVEIK</p>					

**[00184]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, связывающий ILT2 агент, связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела, описанного в данном документе. В

некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент содержит: (a) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи; и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи из антитела, описанного в данном документе.

**[00185]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, антитело к ILT2, антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4) содержит один или более (например, 1, 2, 3, 4 и т.д.) аминокислотные замены в CDR из антитела, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные замены представляют собой консервативные замены. В некоторых вариантах осуществления CDR содержит одну аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления CDR содержит две аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления CDR содержит три аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления CDR содержит четыре аминокислотные замены. В некоторых вариантах осуществления CDR представляет собой CDR1 вариательной области тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления CDR представляет собой CDR2 вариательной области тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления CDR представляет собой CDR3 вариательной области тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления CDR представляет собой CDR1 вариательной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления CDR представляет собой CDR2 вариательной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления CDR представляет собой CDR3 вариательной области легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления замены осуществляют как часть процесса гуманизации. В некоторых вариантах осуществления замены осуществляют как часть процесса гуманизации зародышевой линии. В некоторых вариантах осуществления замены осуществляют как часть процесса созревания аффинности. В некоторых вариантах осуществления замены осуществляют как часть процесса оптимизации.

**[00186]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, связывающий ILT2 агент, связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент) содержит одну или более CDR вариательной области тяжелой цепи или CDR вариательной области легкой цепи, которые были модифицированы для уменьшения дезамидирования в последовательности CDR. Дезамидирование представляет собой химическую реакцию, в которой амидная функциональная группа в боковой цепи аминокислоты аспарагина (Asp или N) или глутамина (Gln или Q) удаляли или превращали в другую функциональную

группу. Как правило, аспарагин превращается в аспарагиновую кислоту или изоаспарагиновую кислоту, а глутамин превращается в глутаминовую кислоту или полиглутаминовую кислоту. В некоторых случаях дезамидирование может изменить структуру, функцию и/или стабильность полипептида, что может привести к снижению биологической активности. В некоторых вариантах осуществления CDR1, CDR2 и/или CDR3 вариабельной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, модифицированы для уменьшения дезамидирования. В некоторых вариантах осуществления CDR1, CDR2 и/или CDR3 вариабельной области легкой цепи антитела, описанного в данном документе, модифицированы для уменьшения дезамидирования.

**[00187]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, связывающий ILT2 агент, связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент) содержит одну или более CDR вариабельной области тяжелой цепи или CDR вариабельной области легкой цепи, которые были модифицированы для уменьшения изомеризации. Изомеризация — это химический процесс, посредством которого соединение превращается в любую из его изомерных форм, т. е. в формы с одинаковым химическим составом, но с другой структурой или конфигурацией и, возможно, с другими физическими и химическими свойствами. Исследования продемонстрировали, что изомеризация аспартата (Asp или D) в CDR может влиять на связывание и/или стабильность антител. В некоторых вариантах осуществления CDR1, CDR2 и/или CDR3 вариабельной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, модифицированы для уменьшения изомеризации. В некоторых вариантах осуществления CDR1, CDR2 и/или CDR3 вариабельной области легкой цепи модифицированы для уменьшения изомеризации.

**[00188]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, связывающий ILT2 агент, связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент) содержит одну или более CDR вариабельной области тяжелой цепи или CDR вариабельной области легкой цепи, которые были модифицированы для уменьшения окисления. Окисление представляет собой химический процесс, при котором кислород присоединяется к атому, например, метионин превращается в сульфоксид метионина путем присоединения кислорода к атому серы. Окисление одной или более аминокислот потенциально может повлиять на физические и химические свойства белка. Исследования продемонстрировали, что окисление метионина (Met или M) в CDR может влиять на связывание и/или стабильность антител. В некоторых вариантах осуществления CDR1, CDR2 и/или CDR3 вариабельной области тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, модифицированы для уменьшения окисления (например, окисления метионина). В некоторых вариантах осуществления CDR1, CDR2 и/или CDR3 вариабельной области

легкой цепи антитела, описанного в данном документе, модифицированы для уменьшения окисления (например, окисления метионина).

**[00189]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 27F9, его гуманизированной версии или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из антитела 27F9. В других вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 27F9. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, CDR3 вариабельной области тяжелой цепи; и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 27F9. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент представляет собой гуманизованную версию антитела 27F9. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент представляет собой вариант антитела 27F9 или гуманизованное 27F9.

**[00190]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFSLTNYGVS (SEQ ID NO:22), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO:23), и CDR3 вариабельного области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность PNWDTYAMDF (SEQ ID NO:24), и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность CTSKLHS (SEQ ID NO:26), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPPT (SEQ ID NO:27); (b) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFSLTNY (SEQ ID NO:28), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WGDGS (SEQ ID NO:29), и CDR3 вариабельной



LLIYCTSKLH (SEQ ID NO:36), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPP (SEQ ID NO:37).

**[00191]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:22), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:23), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность ADGRGAMDY (SEQ ID NO:24), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO:26), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO:27). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFSLTNYGVS (SEQ ID NO:22), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность ПWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO:23), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность PNWDTYAMDF (SEQ ID NO:24). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность CTSKLHS (SEQ ID NO:26), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPPT (SEQ ID NO:27). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:22), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность YISTGIITVYYADTVKG (SEQ ID NO:23), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность ADGRGAMDY (SEQ ID NO:24), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную

последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO:26), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO:27).

**[00192]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи антитела 27F9 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 125, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи антитела 27F9 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:126.

**[00193]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:125. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:125. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:126.

**[00194]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:125, и варибельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:125, и варибельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит варибельную область тяжелой цепи,

имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:125, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:125, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:126.

**[00195]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 47C8, его гуманизированной версии или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи и CDR3 переменной области тяжелой цепи из антитела 47C8. В других вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 47C8. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи, CDR3 переменной области тяжелой цепи; и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 47C8. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент представляет собой гуманизованную версию антитела 47C8. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент представляет собой вариант антитела 47C8 или гуманизованное антитело 47C8.

**[00196]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RVYPNNGDTSYNQKFKV (SEQ ID NO:39), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GATVVESLFAY (SEQ ID NO:40), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASEVDNYGNNFLH (SEQ ID NO:41), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RTSNLES (SEQ ID NO:42), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность



последовательность ARGATVVESLFA (SEQ ID NO:50), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность DNYGNNFLHWY (SEQ ID NO:51), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LLIYRTSNLE (SEQ ID NO:52), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQSNEPYPY (SEQ ID NO:53).

**[00197]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RVYPNNGDTSYNQKFKV (SEQ ID NO:39), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GATVVESLFA (SEQ ID NO:40), и (б) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDNYGNNFLH (SEQ ID NO:41), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RTSNLES (SEQ ID NO:42), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQSNEPYPY (SEQ ID NO:43). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RVYPNNGDTSYNQKFKV (SEQ ID NO:39), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GATVVESLFA (SEQ ID NO:40). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDNYGNNFLH (SEQ ID NO:41), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RTSNLES (SEQ ID NO:42), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQSNEPYPY (SEQ ID NO:43). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RVYPNNGDTSYNQKFKV (SEQ ID NO:39), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную

последовательность GATVVESLFAY (SEQ ID NO:40), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDNYGNNFLH (SEQ ID NO:41), CDR2 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RTSNLES (SEQ ID NO:42), и CDR3 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQSNEPDT (SEQ ID NO:43).

**[00198]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменную область тяжелой цепи антитела 47C8 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 127, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменную область легкой цепи антитела 47C8 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:128.

**[00199]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:127. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:127. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:128.

**[00200]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:127, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область

тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:127, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:127, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:127, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:128.

**[00201]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 48A5, его гуманизированной версии или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи и CDR3 переменной области тяжелой цепи из антитела 48A5. В других вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 48A5. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи, CDR3 переменной области тяжелой цепи; и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 48A5. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент представляет собой гуманизованную версию антитела 48A5. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент представляет собой вариант антитела 48A5 или гуманизованное антитело 48A5.

**[00202]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WINTYIGEPYADDFKG (SEQ ID NO:55), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSDYDGYAMDY (SEQ ID NO:56), и переменную область легкой цепи, содержащую



последовательность QQHDSYPT (SEQ ID NO:59); или (е) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность TNYGMN (SEQ ID NO:64), CDR2 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WMGWINTYIGEPY (SEQ ID NO:65), и CDR3 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность ARRSYDGYAMD (SEQ ID NO:66), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LYSGNQKNYLAWY (SEQ ID NO:67), CDR2 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LLIYWASTRE (SEQ ID NO:68), и CDR3 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQHDSYP (SEQ ID NO:69).

**[00203]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54), CDR2 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WINTYIGEPYADDFKG (SEQ ID NO:55), и CDR3 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSYDGYAMDY (SEQ ID NO:56), и (б) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность KSSQSLLYSGNQKNYLA (SEQ ID NO:57), CDR2 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность WASTRES (SEQ ID NO:58), и CDR3 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQHDSYPT (SEQ ID NO:59). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54), CDR2 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WINTYIGEPYADDFKG (SEQ ID NO:55), и CDR3 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSYDGYAMDY (SEQ ID NO:56). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность KSSQSLLYSGNQKNYLA (SEQ ID NO:57), CDR2 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность WASTRES (SEQ ID NO:58), и CDR3 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQHDSYPT (SEQ ID NO:59). В некоторых

вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WINTYIGEPYADDFKG (SEQ ID NO:55), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSDYDGYAMDY (SEQ ID NO:56), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность KSSQSLLYSGNQKNYLA (SEQ ID NO:57), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность WASTRES (SEQ ID NO:58), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQHDSYPT (SEQ ID NO:59).

**[00204]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела 48A5 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 129, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела 48A5 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:130.

**[00205]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:129. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:129. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:130.

**[00206]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:129, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:129, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:129, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:129, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:130.

**[00207]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент (например, двойной связывающий агент) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 47H6, его гуманизированной версии (например, H<sub>z</sub>47H6.v2) или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи и CDR3 переменной области тяжелой цепи из антитела 47H6 или антитела H<sub>z</sub>47H6.v2. В других вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 47H6 или антитела H<sub>z</sub>47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи, CDR3 переменной области тяжелой цепи; и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 47H6. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи, CDR3 переменной области тяжелой цепи; и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1

вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела Hz47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой гуманизованную версию антитела 47H6. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела 47H6. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела Hz47H6.v2.

**[00208]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYSLSYFDY (SEQ ID NO:72), и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи CDR1, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75); (b) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDY (SEQ ID NO:76), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NPNGG (SEQ ID NO:77) или аминокислотную последовательность NPNNAG (SEQ ID NO:119), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYSLSYFDY (SEQ ID NO:72), и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи CDR1, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75); (c) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTT (SEQ ID NO:78) или аминокислотную последовательность DFNPNNAGTT (SEQ ID NO:120), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYSLSYFDY

(SEQ ID NO:72), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75); (d) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DYYMN (SEQ ID NO:79), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75); или (e) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность TDYYMN (SEQ ID NO:80), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WIGDFNPNGGTT (SEQ ID NO:81) или аминокислотную последовательность WIGDFNPNNAGTT (SEQ ID NO:121), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность ARGRFYYGSLYSFD (SEQ ID NO:82), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность HNYLAWY (SEQ ID NO:83), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LLVYNAKTLA (SEQ ID NO:84) или аминокислотную последовательность LLIYNAKTLA (SEQ ID NO:122), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSI (SEQ ID NO:85).

**[00209]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и

(b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118) и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления

связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFDYDMN (SEQ ID NO:70), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYSLSYFDY (SEQ ID NO:72), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75).

**[00210]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела 47H6 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 131, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела 47H6 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:132.

**[00211]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:131. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:131. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:132.

**[00212]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:131, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:131, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:131, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:131, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:132.

**[00213]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела H<sub>z</sub>47H6.v2 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 133, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела H<sub>z</sub>47H6.v2 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:134.

**[00214]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления

связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:133. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:134.

**[00215]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:133, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:133, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:133, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:133, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:134.

**[00216]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и легкую цепь, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:148, и при этом легкая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%

идентичности с последовательностью SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления агент, связывающий ILT2/ILT4, содержит тяжелую цепь, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYSGLYSFDY (SEQ ID NO:72), и легкую цепь, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:148, а легкая цепь имеет по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислоты SEQ ID NO:148, и (б) легкую цепь, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75), при этом легкая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислоты SEQ ID NO:148, и (б) легкую цепь, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) тяжелую цепь, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYSGLYSFDY (SEQ ID NO:72), при этом тяжелая цепь имеет по

меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:148, и (b) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (a) тяжелую цепь, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149.

**[00217]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:148. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:148, и легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:148. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:148, и легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной

последовательностью SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:148 и/или легкую цепь с SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:148. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее легкую цепь SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:148 и легкую цепь с SEQ ID NO:149.

**[00218]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент (например, двойной связывающий агент) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 51A1, его гуманизированной версии или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из антитела 51A1. В других вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 51A1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, CDR3 вариабельной области тяжелой цепи; и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 51A1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой гуманизированную версию антитела 51A1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела 51A1 или гуманизированное антитело 51A1.

**[00219]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит:

(а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 вариабельного области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYYYAMDY (SEQ ID NO:88), и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTY (SEQ ID NO:92), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSKSSNYA (SEQ ID NO:93), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYYYAMDY (SEQ ID NO:88), и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (с) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATY (SEQ ID NO:94), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYYYAMDY (SEQ ID NO:88), и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (д) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность TYAMH (SEQ ID NO:95), CDR2 вариабельной

области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYYGTMYYYAMDY (SEQ ID NO:88), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); или (е) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NTYAMH (SEQ ID NO:96), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WVARIRSKSSNYATY (SEQ ID NO:97), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность VRDGIYYYYGTMYYYAMD (SEQ ID NO:98), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность DYYGNSFMYWY (SEQ ID NO:99), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPW (SEQ ID NO:101).

**[00220]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYYGTMYYYAMDY (SEQ ID NO:88), и/или (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность

RIRSKSSNYATYYADSVKD(SEQ ID NO:87) и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYYAMDY (SEQ ID NO:88). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYYAMDY (SEQ ID NO:88), и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91).

**[00221]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи антитела 51A1 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 135, и варибельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи антитела 51A1 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, при по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:136.

**[00222]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит варибельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей

мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:135. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:135. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:136.

**[00223]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:135, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:135, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:135, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:135, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:136.

**[00224]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент (например, двойной связывающий агент) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 64A12, его гуманизированной версии (например, H<sub>z</sub>64A12) или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи и CDR3 переменной области тяжелой цепи из антитела 64A12 или H<sub>z</sub>64A12. В других вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 64A12 или H<sub>z</sub>64A12. В некоторых вариантах

осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, CDR2 переменной области тяжелой цепи, CDR3 переменной области тяжелой цепи; и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, CDR2 переменной области легкой цепи и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 64A12 или H<sub>z</sub>64A12. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой гуманизованную версию антитела 64A12. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела 64A12. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела H<sub>z</sub>64A12.

**[00225]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (b) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTY (SEQ ID NO:92), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSKSSNYA (SEQ ID NO:93), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (c) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную

последовательность RIRSKSSNYATY (SEQ ID NO:94), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (d) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность TYAMH (SEQ ID NO:95), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); или (e) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NTYAMH (SEQ ID NO:96), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WVARIRSKSSNYATY (SEQ ID NO:97), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность VRDGIYYYDTMYYYAMD (SEQ ID NO:104), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность DYYGNSFIYWY (SEQ ID NO:105), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPW (SEQ ID NO:101).

**[00226]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность

DGIYYDVTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий IL2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87) и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYDVTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102). В некоторых вариантах осуществления связывающий IL2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий IL2/ILT4 агент содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYDVTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91).

**[00227]** В некоторых вариантах осуществления связывающий IL2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела 64A12 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%,

по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 137, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела 64A12 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:138.

**[00228]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:137. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:137. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138.

**[00229]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:137, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:137, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:137, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:137, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138.

**[00230]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела Hz64A12 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 139, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела Hz64A12 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:140.

**[00231]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:139. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:140.

**[00232]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:139, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:139, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:139, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности

последовательности с SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:140.

**[00233]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и легкую цепь, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:152, и при этом легкая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и легкую цепь, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:152, а легкая цепь имеет по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) тяжелую

цепь, содержащую аминокислоты SEQ ID NO:152, и (b) легкую цепь, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом легкая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности последовательности SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислоты SEQ ID NO:152, и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (a) тяжелую цепь, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYYAMDY (SEQ ID NO:102), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:152, и (b) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYDTMYYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и (b) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее

тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153.

**[00234]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:152, и легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:152, и легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:152 и/или легкую цепь с SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:152. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее легкую цепь SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления

связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:152 и легкую цепь с SEQ ID NO:153.

**[00235]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент (например, двойной связывающий агент) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 73C4, его гуманизированной версии или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из антитела 73C4. В других вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 73C4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, CDR3 вариабельной области тяжелой цепи; и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 73C4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой гуманизованную версию антитела 73C4. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела 73C4 или гуманизованное антитело 73C4.

**[00236]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (b) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDY (SEQ ID NO:76), CDR2 вариабельной

область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NPNNGG (SEQ ID NO:77), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (с) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTS (SEQ ID NO:108), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); (d) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DYYMN (SEQ ID NO:79), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); или (е) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность TDYYMN (SEQ ID NO:80), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WIGNVNPNNGGTS (SEQ ID NO:109), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность VRDGIYYYGTMYYYAMD (SEQ ID NO:110), и варибельную область легкой цепи,

содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность DYYGNSFMYWY (SEQ ID NO:99), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPW (SEQ ID NO:101).

**[00237]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность

REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMV (SEQ ID NO:89), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91).

**[00238]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела 73C4 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 141, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела 73C4 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:142.

**[00239]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:141. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

**[00240]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:141, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область

тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:141, и вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:141, и вариабельную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:141, и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

**[00241]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент (например, двойной связывающий агент) содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и/или CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 73D1, его гуманизированной версии (например, Hz73D1) или их вариантов. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи из антитела 73D1 или антитела Hz73D1.v1. В других вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 73D1 или антитела Hz73D1.v1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, CDR3 вариабельной области тяжелой цепи; и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, CDR2 вариабельной области легкой цепи и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 73D1 или антитела Hz73D1.v1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой гуманизированную версию антитела 73D1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела 73D1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой вариант антитела Hz73D1.v1.

**[00242]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFDYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную



легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMV (SEQ ID NO:89), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91); или (е) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность TDYYIN (SEQ ID NO:116), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WIGNVNPNDGGTT (SEQ ID NO:117) или аминокислотную последовательность WMGNVNPNDGGTT (SEQ ID NO:124), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность ARREIFYGTIYYYAMD (SEQ ID NO:110), и вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность DYYGNSFMVWY (SEQ ID NO:99), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность LLIYFASNLE (SEQ ID NO:100), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPW (SEQ ID NO:101).

**[00243]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (б) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMV (SEQ ID NO:89), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит

вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91).

**[00244]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащая CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), или ее вариант, содержащий 1, 2, 3 или 4 аминокислотные замены; CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), или ее вариант, содержащий 1, 2, 3 или 4 аминокислотные замены; и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107) или ее вариант, содержащий 1, 2, 3 или 4 аминокислотные замены; и (b) вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), или ее вариант, содержащий 1, 2, 3 или 4 аминокислотные замены; CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90) или ее вариант, содержащий 1, 2, 3 или 4 аминокислотные замены; и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91) или ее вариант, содержащий 1, 2, 3 или 4 аминокислотные замены.

**[00245]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела 73D1 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 143, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела 73D1 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:142.

**[00246]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:143. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

**[00247]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:143, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:143, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:143, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности

последовательности с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

**[00248]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи антитела Hz73D1.v1 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 144, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела Hz73D1.v1 и имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:145.

**[00249]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:144. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99% идентичности последовательности с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:144. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145.

**[00250]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:144, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 90% идентичности последовательности с SEQ ID NO:144, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 90%

идентичности последовательности с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:144, и переменную область легкой цепи, имеющую по меньшей мере 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:144, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145.

**[00251]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом переменная область тяжелой цепи имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:143, и при этом переменная область легкой цепи имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную

последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом вариабельная область тяжелой цепи имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:144, и при этом вариабельная область легкой цепи имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:145.

**[00252]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и легкую цепь, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:156, и при этом легкая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах реализации агент, связывающий ILT2/ILT4, содержит тяжелую цепь, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и легкую цепь, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ

ID NO:156, а легкая цепь имеет по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислоты SEQ ID NO:156, и (б) легкую цепь, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91), при этом легкая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислоты SEQ ID NO:156, и (б) легкую цепь, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) тяжелую цепь, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYAMDY (SEQ ID NO:107), при этом тяжелая цепь имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:156, и (б) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит: (а) тяжелую цепь, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и тяжелую цепь CDR3 варибельной области цепи, включающую аминокислотную последовательность REIFYFGTIYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (б) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой

антитело, содержащее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157.

**[00253]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:156. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, имеющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:156, и легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:156. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:156, и легкую цепь, которая имеет по меньшей мере 90% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:156 и/или легкую цепь с SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:156. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой

антитело, содержащее легкую цепь SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь с SEQ ID NO:156 и легкую цепь с SEQ ID NO:157.

**[00254]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело 73D1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело Hz73D1.v1.

**[00255]** В данном документе предложены агенты, которые конкурируют с одним или более связывающими агентами, описанными в данном документе, за связывание с ILT2, ILT4 или как с ILT2, так и с ILT4. В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует с одним или более антителами, описанными в данном документе, за связывание с ILT2, ILT4 или как с ILT2, так и с ILT4. В некоторых вариантах осуществления агент, который конкурирует с одним или более антителами, описанными в данном документе, представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления агент связывается с тем же эпитопом, что и одно из описанных в данном документе антител. В некоторых вариантах осуществления агент связывается с эпитопом, перекрывающимся с эпитопом, связанным с одним из описанных в данном документе антител. Ожидается, что антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые конкурируют или связываются с тем же эпитопом, что и антитела, описанные в данном документе, будут демонстрировать сходные функциональные свойства.

**[00256]** В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует за связывание с ILT2, ILT4 человека или как с ILT2, так и с ILT4 с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует за связывание с ILT2 человека с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменную область тяжелой цепи, включающую

аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91).

**[00257]** В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует за связывание с ILT2, ILT4 человека или как с ILT2, так и с ILT4 с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит: (a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления агент конкурирует за связывание с ILT4 человека с эталонным антителом, при этом эталонное антитело содержит: (a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность

NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75).

**[00258]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, связывающий ILT2 агент, связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент), описанный в данном документе, содержит антитело, в котором по меньшей мере одна или более константных областей антитела были изменены или удалены. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит одну или более модификаций одной или более из трех константных областей тяжелой цепи (CH1, CH2 или CH3) и/или константной области легкой цепи (CL). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит одну или более модификаций шарнирной области. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи модифицированного антитела содержит по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи модифицированного антитела содержит более одной константной области человека. В некоторых вариантах осуществления модификации константной области включают добавления, делеции или замены одной или более аминокислот в одной или нескольких областях. В некоторых вариантах осуществления одна или более областей частично или полностью удалены из константных областей модифицированного антитела. В некоторых вариантах осуществления весь домен CH2 был удален из антитела (конструкции  $\Delta$ CH2). В некоторых вариантах осуществления одна или более областей частично или полностью удалены из шарнирной области модифицированного антитела. В некоторых вариантах осуществления удаленная константная область заменена коротким аминокислотным спейсером, который обеспечивает некоторую молекулярную гибкость, обычно придаваемую отсутствующей константной областью. В некоторых вариантах осуществления удаленная шарнирная область заменена коротким аминокислотным спейсером, который обеспечивает некоторую молекулярную гибкость, обычно придаваемую отсутствующей шарнирной областью. В некоторых вариантах осуществления модифицированное антитело содержит домен CH3, непосредственно слитый с шарнирной областью антитела. В некоторых вариантах осуществления модифицированное антитело содержит пептидный спейсер, встроенный между шарнирной областью и модифицированными доменами CH2 и/или CH3.

**[00259]** В данной области техники известно, что константная(-ые) область(-и) антитела опосредует несколько эффекторных функций, и эти эффекторные функции могут варьироваться в зависимости от изотипа антитела. Например, связывание компонента C1 комплемента с областью Fc антител IgG или IgM (связанных с антигеном) активирует систему комплемента. Активация комплемента важна для опсонизации и лизиса клеточных

патогенов. Активация комплемента также стимулирует воспалительную реакцию и может быть связана с аутоиммунной гиперчувствительностью. Кроме того, область Fc антитела может связываться с Fc-рецептором (FcR) на поверхности клетки. Существует ряд Fc-рецепторов, специфичных для различных классов антител, включая IgG (гамма-рецепторы), IgE (эпсилон-рецепторы), IgA (альфа-рецепторы) и IgM (мю-рецепторы). Связывание антител с Fc-рецепторами на поверхности клеток запускает ряд важных и разнообразных биологических реакций, включая поглощение и разрушение частиц, покрытых антителами, клиренс иммунных комплексов, лизис покрытых антителами клеток-мишеней клетками-киллерами (так называемая антителозависимая клеточная цитотоксичность или ADCC), высвобождение медиаторов воспаления, плацентарный перенос и контроль продукции иммуноглобулина.

**[00260]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент содержит вариант области Fc. Аминокислотные последовательности области Fc IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека известны специалистам в данной области техники (например, репрезентативной областью IgG1 человека является SEQ ID NO:158). В некоторых случаях в нативных антителах были идентифицированы области Fc с вариациями аминокислот. В некоторых вариантах осуществления вариант области Fc сконструирован с заменами в определенных положениях аминокислот по сравнению с нативной областью Fc. Варианты областей Fc хорошо известны в данной области техники и включают, но не ограничиваются ими, SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:160, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:162, и SEQ ID NO:163.

**[00261]** В некоторых вариантах осуществления модифицированное антитело обеспечивает измененные эффекторные функции, которые, в свою очередь, влияют на биологический профиль антитела. Например, в некоторых вариантах осуществления делеция или инактивация (через точечные мутации или другими способами) константной области снижает связывание модифицированного антитела с Fc-рецептором во время его циркуляции. В некоторых вариантах осуществления модификации константной области увеличивают время полужизни антитела в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления модификации константной области снижают время полужизни антитела в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления модификации константной области снижают или устраняют ADCC и/или комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC) антитела. В некоторых вариантах осуществления специфические аминокислотные замены в области Fc IgG1 человека соответствующими остатками IgG2 или IgG4 снижают эффекторные функции (например, ADCC и CDC) в модифицированном антителе. В некоторых вариантах осуществления модифицированное антитело не имеет одной или более эффекторных функций. В некоторых вариантах осуществления модифицированное

антитело не имеет каких-либо обнаруживаемых эффекторных функций (например, «лишенные эффекторной функции» антитела). В некоторых вариантах осуществления модифицированное антитело не имеет активности ADCC и/или активности CDC. В некоторых вариантах осуществления модифицированное антитело не связывается с Fc-рецептором и/или факторами комплемента. В некоторых вариантах осуществления модифицированное антитело не имеет эффекторной(-ых) функции(-й). В некоторых вариантах осуществления модификации константной области увеличивают или усиливают ADCC и/или CDC антитела. В некоторых вариантах осуществления константная область модифицирована для устранения дисульфидных связей или олигосахаридных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления константная область модифицирована для добавления/замены одной или более аминокислот для получения одного или более сайтов связывания цитотоксина, олигосахарида или углевода.

**[00262]** Модификации константной области антител, описанные в данном документе, могут быть выполнены с использованием хорошо известных биохимических методов или методов молекулярной инженерии. В некоторых вариантах осуществления варианты антител получают путем внесения соответствующих изменений нуклеотидов в кодирующую ДНК и/или путем синтеза желаемого антитела или полипептида. Используя эти методы инженерии для модификации антитела, можно нарушить активность или эффекторную функцию, обеспечиваемую конкретной последовательностью или областью, при существенном сохранении структуры, связывающей активности и других желаемых характеристик модифицированного антитела.

**[00263]** Настоящее изобретение дополнительно охватывает дополнительные варианты и эквиваленты, которые по существу гомологичны рекомбинантным, моноклональным, химерным, гуманизированным и человеческим антителам или их фрагментам антител, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления желательно улучшить аффинность связывания антитела. В некоторых вариантах осуществления желательно модулировать биологические свойства антитела, включая, помимо прочего, специфичность, термостабильность, уровень экспрессии, эффекторную(-ые) функцию(-и), гликозилирование, иммуногенность и/или растворимость. Специалистам в данной области техники будет понятно, что аминокислотные замены могут изменять посттрансляционные процессы антитела, такие как изменение числа или положения сайтов гликозилирования или изменение характеристик мембранного закрепления.

**[00264]** Вариации могут быть получены заменой, делецией или вставкой одного или более нуклеотидов в полинуклеотид, кодирующий антитело или полипептид, что приводит к изменению аминокислоты или аминокислотной последовательности по сравнению с

нативной последовательностью антитела или полипептида. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные замены являются результатом замены одной аминокислоты другой аминокислотой, имеющей сходные структурные и/или химические свойства, такой как замена лейцина серином (т.е. консервативные аминокислотные замены). В некоторых вариантах осуществления замена, делеция или вставка включают менее 25 аминокислотных замен, менее 20 аминокислотных замен, менее 15 аминокислотных замен, менее 10 аминокислотных замен, менее 5 аминокислотных замен, менее 4 замены аминокислот, менее 3 замен аминокислот или менее 2 аминокислотных замен относительно исходной молекулы. В некоторых вариантах осуществления биологически полезные и/или релевантные варианты аминокислотной последовательности определяются путем систематического внесения вставок, делеций или замен в последовательности и тестирования полученных вариантов белков на активность по сравнению с исходным антителом.

**[00265]** В некоторых вариантах осуществления варианты могут включать добавление аминокислотных остатков на амино- и/или карбоксильном конце антитела или полипептида. Длина дополнительных аминокислотных остатков может составлять от одного остатка до ста и более остатков. В некоторых вариантах осуществления вариант содержит N-концевой метионильный остаток. В некоторых вариантах осуществления вариант содержит дополнительный полипептид/белок для получения слитого белка. В некоторых вариантах осуществления вариант сконструирован так, чтобы его можно было обнаружить, и он может содержать обнаруживаемую метку и/или белок (например, флуоресцентную метку, флуоресцентный белок или фермент).

**[00266]** В некоторых вариантах осуществления цистеиновый остаток, не участвующий в поддержании надлежащей конформации антитела, заменяется или удаляется для модулирования характеристик антитела, например, для улучшения окислительной стабильности и/или предотвращения aberrантного дисульфидного сшивания. И наоборот, в некоторых вариантах осуществления один или более цистеиновых остатков добавляются для получения дисульфидной связи(-ей) для улучшения стабильности.

**[00267]** В некоторых вариантах осуществления антитело по настоящему изобретению является «деиммунизированным». Деиммунизация антител, как правило, заключается во введении специфических аминокислотных мутаций (например, замен, делеций, добавлений), которые приводят к удалению Т-клеточных эпитопов (известных или предполагаемых) без значительного снижения аффинности связывания или других желаемых активностей антитела.

**[00268]** Варианты антител или полипептидов, описанные в данном документе, могут быть получены с использованием способов, известных в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, сайт-направленный мутагенез, аланин-сканирующий мутагенез и ПЦР-мутагенез.

**[00269]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент (например, связывающий ИЛТ2 агент связывающий ИЛТ4 агент, или связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент), описанный в данном документе, химически модифицирован. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой (i) антитело к ИЛТ2, (ii) антитело к ИЛТ4 или (iii) антитело к ИЛТ2/ИЛТ4, которое химически модифицировано путем гликозилирования, ацетилирования, пэгилирования, фосфорилирование, амидирование, дериватизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитического расщепления и/или связывания с клеточным лигандом или другим белком. Любая из многочисленных химических модификаций может быть осуществлена известными способами. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент представляет собой фрагмент антитела (например, scFv, Fv, Fab, F(ab')<sub>2</sub> или F(ab')), где фрагмент антитела присоединен (прямо или косвенно) к увеличивающему время полужизни фрагменту, включая, но не ограничиваясь ими, полиэтиленгликоль (ПЭГ), ПЭГ-миметик, ХТЕН®, сывороточный альбумин, полисиаловую кислоту, N-(2-гидроксипропил)метакриламид или декстран.

**[00270]** Настоящее изобретение охватывает связывающие ИЛТ агенты, построенные на неиммуноглобулиновых остовах, при этом агенты связывают тот же самый эпитоп или по существу тот же самый эпитоп, что и описанное в данном документе антитело к ИЛТ. В некоторых вариантах осуществления неиммуноглобулиновый связывающий агент представляет собой агент, который конкурирует с (i) антителом к ИЛТ2, (ii) антителом к ИЛТ4 и/или (iii) антителом к ИЛТ2/ ИЛТ4, описанными в данном документе, в анализе конкурентного связывания. В некоторых вариантах осуществления альтернативные связывающие ИЛТ агенты содержат каркасный белок. Как правило, каркасные белки могут быть отнесены к одной из трех групп на основе архитектуры их остова: (1) каркасы, состоящие из  $\alpha$ -спиралей; (2) небольшие каркасы с небольшим количеством вторичных структур или нерегулярной архитектурой  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -складчатостей; и (3) каркасы, состоящие преимущественно из  $\beta$ -складчатостей. Каркасные белки включают, но не ограничиваются ими, антикалины, которые основаны на липокалиновом каркасе; аднектины, которые основаны на 10-м домене человеческого фибронектина типа 3; аффитела, которые основаны на В-домене в Ig-связывающей области белка А *Staphylococcus aureus*; дарпины, которые основаны на белках с доменом из анкириновых

повторов; финомеры, основанные на домене SH3 протеинкиназы Fyn человека; аффитины, основанные на Sac7d из *Sulfolobus acidocaldarius*; аффилины, которые основаны на человеческом  $\gamma$ -В-кристаллине или человеческом убиквитине; авимеры, основу которых составляют А-домены мембранных рецепторных белков; кноттины (минибелки с цистиновыми узлами), которые основаны на стабильной 30-аминокислотной антипараллельной белковой складке  $\beta$ -цепи; и каркасы ингибиторов Кунитц-домена, которые основаны на структуре, содержащей три дисульфидные связи и три петли.

**[00271]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, приведенные в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFSLTNYGVS (SEQ ID NO:22), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность IIWGDGSTNYHSALIS (SEQ ID NO:23), CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность PNWDTYAMDF (SEQ ID NO:24), CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность CTSKLHS (SEQ ID NO:26), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPPT (SEQ ID NO:27). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи из антитела 27F9.

**[00272]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи, приведенные в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RVYPNNGDTSYNQKFKV (SEQ ID NO:39), CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GATVVESLFAY (SEQ ID NO:40), CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDNYGNNFLH (SEQ ID NO:41), CDR2

вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RTSNLES (SEQ ID NO:42), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQSNEPDYPT (SEQ ID NO:43). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 47C8.

**[00273]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, приведенные в таблице 3. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WINTYIGEPYADDFKG (SEQ ID NO:55), CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSDYDGYAMDY (SEQ ID NO:56), CDR1 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность KSSQSLLYSGNQKNYLA (SEQ ID NO:57), CDR2 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность WASTRES (SEQ ID NO:58), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQHDSYPT (SEQ ID NO:59). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи из антитела 48A5.

**[00274]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, показанные в таблице 4A или таблице 4B. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), CDR1 вариабельной области

легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи из антитела 47H6 или антитела Hz47H6.v2.

**[00275]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, приведенные в таблице 5. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYAMDY (SEQ ID NO:88), CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), легкой цепи CDR2 варибельной области, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи из антитела 51A1.

**[00276]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, показанные в таблице 6A или таблице 6B. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую

аминокислотную последовательность DGIYYYYDTMYYYYAMDY (SEQ ID NO:102), CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 64A12.

**[00277]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи, приведенные в таблице 7. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYIMN (SEQ ID NO:70), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYYAMDY (SEQ ID NO:107), CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), легкой цепи CDR2 переменной области, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент включает сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи из антитела 73C4.

**[00278]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи, показанные в таблице 8A или таблице 8B. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYIMN (SEQ ID NO:111), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDDGGTTYNQKFKG

(SEQ ID NO:112), CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASEVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), легкой цепи CDR2 варибельной области, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент содержит сконструированный каркасный белок, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи из антитела 73D1 или антитела Hz73D1.v1.

**[00279]** В некоторых вариантах осуществления композиция содержит связывающий ILT агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит связывающий ILT2 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит связывающий ILT4 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит связывающий ILT2/ILT4 агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к ILT2, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит моноклональное антитело к ILT2, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к ILT4, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит моноклональное антитело к ILT4, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело к ILT2/ILT4, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит моноклональное антитело к ILT2/ILT4, описанное в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит антитело, выбранное из группы, состоящей из: антитела 27F9, антитела 47C8, антитела 48A5, антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела 73D1, или их гуманизированных версий.

**[00280]** В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит связывающий ILT агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит связывающий ILT2 агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит связывающий ILT4 агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит

связывающий ILT2/ILT4 агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к ILT2, описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит моноклональное антитело к ILT2, описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к ILT4, описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит моноклональное антитело к ILT4, описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело к ILT2/ILT4, описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит моноклональное антитело к ILT2/ILT4, описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело, выбранное из группы, состоящей из: антитела 27F9, антитела 47C8, антитела 48A5, антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела 73D1, или их гуманизированных версий, и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело Hz73D1.v1 и фармацевтически приемлемый носитель.

**[00281]** В некоторых вариантах осуществления выделяют связывающий ILT агент. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент является по существу чистым.

**[00282]** Вообще говоря, взаимодействия антиген-антитело являются нековалентными и обратимыми, образованными комбинацией водородных связей, гидрофобных взаимодействий, электростатических и ван-дер-ваальсовых сил. При описании силы комплекса антиген-антитело обычно используются термины аффинность и/или avidность. Связывание антитела с его антигеном является обратимым процессом, и аффинность связывания обычно выражается в виде равновесной константы диссоциации ( $K_D$ ).  $K_D$  представляет собой отношение скорости диссоциации антитела ( $k_{off}$ ) (насколько быстро оно диссоциирует от своего антигена) к скорости ассоциации антитела ( $k_{on}$ ) (насколько быстро оно связывается со своим антигеном). В некоторых вариантах осуществления значения  $K_D$  определяют путем измерения скоростей  $k_{on}$  и  $k_{off}$  взаимодействия специфического антитела/антигена с последующим использованием отношения этих значений для расчета значения  $K_D$ . Значения  $K_D$  можно использовать для оценки и ранжирования силы

взаимодействий отдельных антител/антигенов. Чем ниже  $K_D$  антитела, тем выше аффинность антитела к своей мишени. В некоторых вариантах осуществления аффинность измеряют с использованием технологии ППР (например, с использованием системы Вiasore). Авидность дает меру общей силы комплекса антитело-антиген. Она зависит от трех основных параметров: (i) аффинности антитела к мишени, (ii) валентности антитела и антигена и (iii) структурного расположения взаимодействующих частей.

**[00283]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с константой диссоциации ( $K_D$ ) 1 мкМ или менее, 100 нМ или менее, 40 нМ или менее, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее, 1 нМ или менее, 0,1 нМ или менее, 50 пМ или менее, 10 пМ или менее или 1 пМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  около 20 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  10 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  5 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  3 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  2 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  1 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  0,5 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  0,1 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  50 пМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  25 пМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  10 пМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  1 пМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  от 0,01 нМ до 2,5 нМ. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  от 0,1 нМ до 5 нМ. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент связывает ИЛТ2, ИЛТ4 или как ИЛТ2, так и ИЛТ4 с  $K_D$  от 1 нМ до 5 нМ. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации связывающего агента для ИЛТ2 и/или ИЛТ4 представляет собой константу диссоциации, определенную с использованием белка ИЛТ (например, ИЛТ2 или ИЛТ4),

иммобилизованного на чипе Biacore, и связывающего агента, протекающего через чип. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации связывающего агента для ILT2 и/или ILT4 представляет собой константу диссоциации, определяемую с использованием связывающего агента, захваченного антителом к IgG человека на чипе Biacore, и растворимого ILT2 или ILT4, протекающего через чип.

**[00284]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент связывает ILT2, ILT4 или оба ILT2 и ILT4 с полумаксимальной эффективной концентрацией (EC50) 1 мкМ или менее, 100 нМ или менее, 40 нМ или менее, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее, 1 нМ или менее, или 0,1 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент связывает ILT2, ILT4 или как ILT2, так и ILT4 с EC50 1 мкМ или менее, 100 нМ или менее, 40 нМ или менее, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее, 1 нМ или менее, или 0,1 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент связывает ILT2 яванского макака или макака-резуса с EC50 40 нМ или менее, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее, 1 нМ или менее, или 0,1 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент связывает ILT2 и/или ILT4 с EC50 от 0,1 нМ до около 3 нМ, от 0,1 нМ до 2 нМ, от 0,1 нМ до 1 нМ, от 0,5 нМ до 3 нМ, от 0,5 нМ до 2 нМ, или от 0,5 нМ до 1 нМ.

**[00285]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент связывает ILT2 и ILT4 человека и имеет по меньшей мере одним или более из следующих свойств: (i) связывает ILT2/4 макака-резуса; (ii) связывает ILT2/4 яванского макака; (iii) не связывает ILT3, ILT5 и LILRB5; (iv) не связывает LILRA2, LILRA4, LILRA5, и LILRA6; (v) представляет собой антагонист ILT2; (vi) представляет собой антагонист ILT4, (vii) ингибирует активность ILT2; (viii) ингибирует активность ILT4; (ix) ингибирует сигналинг ILT2 в клетках, которые экспрессируют ILT2; (x) ингибирует сигналинг ILT4 в клетках, которые экспрессируют ILT4; (xi) ингибирует связывание ILT2 с молекулами MHC I; (xii) ингибирует связывание ILT4 с молекулами MHC I; (xiii) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию миелоидных клеток; (xiv) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию миелоидных клеток; (xv) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию активности миелоидных клеток; (xvi) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию активности миелоидных клеток; (xvii) восстанавливает активацию FcR в миелоидных клетках; (xviii) усиливает активность NK-клеток; (xix) усиливает активность CTL; и/или (xx) усиливает фагоцитоз макрофагов.

**[00286]** Связывающие ILT агенты (например, связывающие ILT2 агенты, связывающие ILT4 агенты или связывающие ILT2/ILT4 агенты), описанные в данном документе, могут быть получены любым подходящим способом, известным в данной области техники. Такие

способы варьируются от способов прямого синтеза белка до конструирования последовательности ДНК, кодирующей полипептидные последовательности, и экспрессии этих последовательностей в подходящем хозяине. В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК конструируют с использованием рекомбинантной технологии путем выделения или синтеза последовательности ДНК, кодирующей представляющий интерес белок дикого типа. Необязательно последовательность может быть подвергнута мутагенезу с помощью сайт-специфического мутагенеза для получения ее функциональных вариантов. В некоторых вариантах осуществления последовательность ДНК, кодирующая представляющий интерес полипептид, конструируется путем химического синтеза с использованием синтезатора олигонуклеотидов. Олигонуклеотиды могут быть сконструированы на основе аминокислотной последовательности желаемого полипептида и выбора тех кодонов, которые предпочтительны в клетке-хозяине, в которой будет продуцироваться представляющий интерес рекомбинантный полипептид. Для синтеза полинуклеотидной последовательности, кодирующей выделенный представляющий интерес полипептид, можно применять стандартные способы. Например, полная аминокислотная последовательность может быть использована для конструирования гена с обратной трансляцией. Кроме того, можно синтезировать олигомер ДНК, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую конкретный выделенный полипептид. Например, можно синтезировать и затем лигировать несколько небольших олигонуклеотидов, кодирующих части желаемого полипептида. Отдельные олигонуклеотиды, как правило, содержат 5'- или 3'-липкие концы для комплементарной сборки.

**[00287]** После сборки (путем синтеза, сайт-направленного мутагенеза или другого метода) полинуклеотидные последовательности, кодирующие конкретный представляющий интерес полипептид, могут быть вставлены в вектор экспрессии и функционально связаны с последовательностью контроля экспрессии, подходящей для экспрессии белка в желаемом хозяине. Надлежащая сборка может быть подтверждена секвенированием нуклеотидов, картированием рестрикционными ферментами и/или по экспрессии биологически активного полипептида в подходящем хозяине.

**[00288]** В некоторых вариантах осуществления рекомбинантные векторы экспрессии используются для амплификации и экспрессии ДНК, кодирующей связывающие ИТ агенты, описанные в данном документе. Например, рекомбинантные векторы экспрессии могут представлять собой реплицируемые конструкции ДНК, которые содержат синтетические или полученные из кДНК фрагменты ДНК, кодирующие полипептидную цепь связывающего ИТ агента, такого как антитело к ИТ2/ИТ4, или его

антигенсвязывающий фрагмент, функционально связанные с подходящими транскрипционными и/или трансляционными регуляторными элементами, полученными из генов млекопитающих, микроорганизмов, вирусов или насекомых. Единица транскрипции обычно включает совокупность (1) генетического элемента или элементов, играющих регулируемую роль в экспрессии генов, например, промоторов и/или энхансеров транскрипции, (2) структурной или кодирующей последовательности, которая транскрибируется в мРНК и транслируется в белок, и (3) соответствующих последовательностей инициации и терминации транскрипции и трансляции. Регуляторные элементы могут включать последовательность оператора для управления транскрипцией. Дополнительно могут быть включены способность к репликации в организме хозяине, обычно обеспечиваемая точкой начала репликации, и ген селекции для облегчения распознавания трансформантов. Области ДНК называются «функционально связанными», когда они функционально связаны друг с другом. Например, ДНК сигнального пептида (секреторного лидера) является функционально связанной с ДНК полипептида, если она экспрессируется в качестве предшественника, который участвует в секреции полипептида; промотор или энхансер является функционально связанным с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности; или сайт связывания рибосом является функционально связанным с кодирующей последовательностью, если он расположен таким образом, чтобы облегчить трансляцию. В некоторых вариантах осуществления структурные элементы, предназначенные для применения в системах экспрессии дрожжей, включают лидерную последовательность, обеспечивающую внеклеточную секрецию транслируемого белка клеткой-хозяином. В некоторых вариантах осуществления в ситуациях, когда рекомбинантный белок экспрессируется без лидерной или транспортной последовательности, полипептид может включать N-концевой остаток метионина. Этот остаток необязательно может быть впоследствии отщеплен от экспрессированного рекомбинантного белка с получением конечного продукта.

**[00289]** Выбор последовательности контроля экспрессии и вектора экспрессии, как правило, зависит от выбора хозяина. Можно применять широкий спектр комбинаций «хозяин/экспрессионный вектор». Пригодные векторы экспрессии для эукариотических хозяев включают, например, векторы, содержащие регулирующие экспрессию последовательности из SV40, вируса папилломы крупного рогатого скота, аденовируса и цитомегаловируса. Пригодные экспрессионные векторы для бактериальных хозяев включают известные бактериальные плазмиды, такие как плазмиды из *E. coli*, включая

pCR1, pBR322, pMB9 и их производные, и плазмиды более широкого спектра хозяев, такие как M13 и другие фаги с нитчатой одноцепочечной ДНК.

**[00290]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT агент (например, связывающий ILT2 агент, связывающий ILT4 агент или связывающий ILT2/ILT4 агент) по настоящему изобретению экспрессируется из одного или более векторов. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи экспрессируется одним вектором, а переменная область легкой цепи экспрессируется вторым вектором. В некоторых вариантах осуществления переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи экспрессируются одним вектором. В некоторых вариантах осуществления вектор кодирует переменную область тяжелой цепи связывающего ILT агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор кодирует переменную область легкой цепи связывающего ILT агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор кодирует переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи связывающего ILT агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи экспрессируется одним вектором, а полипептид легкой цепи экспрессируется вторым вектором. В некоторых вариантах осуществления полипептид тяжелой цепи и полипептид легкой цепи экспрессируются одним вектором. В некоторых вариантах осуществления вектор кодирует полипептид тяжелой цепи связывающего ILT агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор кодирует полипептид легкой цепи связывающего ILT агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор кодирует полипептид тяжелой цепи и полипептид легкой цепи связывающего ILT агента, описанного в данном документе.

**[00291]** Клетки-хозяева, подходящие для экспрессии связывающего ILT агента (например, связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента) или белка ILT2 или ILT4 или его фрагмента для применения в качестве антигена или иммуногена включают прокариоты, дрожжевые клетки, клетки насекомых или клетки высших эукариот под контролем соответствующих промоторов. Прокариоты включают грамотрицательные или грамположительные организмы, например, *E. coli* или *Bacillus*. Клетки высших эукариот включают известные клеточные линии млекопитающих, как описано в данном документе. Также можно применять бесклеточные системы трансляции. Подходящие клонирующие векторы и векторы экспрессии для применения с бактериальными, грибковыми, дрожжевыми и клеточными хозяевами млекопитающих, а также способы продукции белков, включая продукцию антител, хорошо известны в данной области техники.

**[00292]** Для экспрессии рекомбинантных полипептидов можно использовать различные системы культивирования млекопитающих. Экспрессия рекомбинантных белков в клетках млекопитающих может быть желательной, поскольку эти белки, как правило, правильно уложены, должным образом модифицированы и биологически функциональны. Примеры подходящих линий клеток-хозяев млекопитающих включают, но не ограничиваясь этим, COS-7 (полученные из почек обезьяны), L-929 (полученные из фибробластов мыши), C127 (полученные из опухоли молочной железы мыши), 3T3 (полученные из фибробластов мыши), СНО (полученные из яичников китайского хомячка), клеточные линии HeLa (полученные из клеток рака шейки матки человека), ВНК (полученные из фибробластов почек хомяка) и НЕК-293 (полученные из почек эмбрионов человека) и их варианты. Векторы экспрессии млекопитающих могут содержать нетранскрибируемые элементы, такие как точка начала репликации, подходящий промотор и энхансер, связанные с экспрессируемым геном, и другие 5'- или 3'-фланкирующие нетранскрибируемые последовательности, а также 5'- или 3'-нетранслируемые последовательности, такие как необходимые сайты связывания рибосомы, сайт полиаденилирования, донорный и акцепторный сайты сплайсинга и последовательности терминации транскрипции.

**[00293]** Экспрессия рекомбинантных белков в системах культивирования клеток насекомых (например, в бакуловирусной системе) также обеспечивает надежный способ получения правильно уложенных и биологически функциональных белков. Бакуловирусные системы для продукции гетерологичных белков в клетках насекомых хорошо известны специалистам в данной области техники.

**[00294]** Таким образом, в данном изобретении предложены клетки, содержащие связывающие ИЛТ агенты, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют связывающие ИЛТ агенты, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело, которое связывает ИЛТ2 человека. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело, которое связывает ИЛТ4 человека. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело, которое связывает ИЛТ2 и ИЛТ4 человека. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело, которое связывает ИЛТ2 человека и ИЛТ2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ИЛТ2, обозначенное как 27F9. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ИЛТ4, обозначенное как 47C8. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ИЛТ4, обозначенное как 48A5. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ИЛТ2/ИЛТ4, обозначенное как 47H6. В

некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют гуманизованное антитело к ILT2/ILT4, обозначенное как Hz47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ILT2/ILT4, обозначенное как 51A1. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ILT2/ILT4, обозначенное как 64A12. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют гуманизованное антитело к ILT2/ILT4, обозначенное как Hz64A12. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ILT2/ILT4, обозначенное как 73C4. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют антитело к ILT2/ILT4, обозначенное как 73D1. В некоторых вариантах осуществления клетки продуцируют гуманизованное антитело к ILT2/ILT4, обозначенное как Hz73D1.v1. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой прокариотическую клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой эукариотическую клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой клетку млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой гибридную клетку.

**[00295]** Белки, продуцируемые клеткой-хозяином, могут быть очищены любым подходящим способом. Стандартные методы включают хроматографию (например, ионообменную, аффинную и колоночную хроматографию с распределением по размеру), центрифугирование, дифференциальную растворимость или любой другой стандартный метод очистки белка. Аффинные метки, такие как гексагистидин (His<sub>6</sub>; SEQ ID NO: 173), связывающий мальтозу домен, последовательность оболочки вируса гриппа и глутатион-S-трансфераза, могут быть присоединены к белку для облегчения очистки путем пропускания через соответствующую аффинную колонку. Методы аффинной хроматографии, используемые для очистки иммуноглобулинов, могут включать, но не ограничиваться ими, хроматографию с белком А, белком G и белком L. Выделенные белки могут быть физически охарактеризованы с использованием методов, которые включают, помимо прочего, протеолиз, эксклюзионную хроматографию (ЭХ), масс-спектрометрию (МС), ядерный магнитный резонанс (ЯМР), изоэлектрическое фокусирование (ИЭФ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и рентгеноструктурную кристаллографию. Чистоту выделенных белков можно определить с использованием способов, известных специалистам в данной области техники, включая, но не ограничиваясь ими, ДСН-ПААГ-электрофорез, ЭХ, капиллярный гель-электрофорез, IEF и капиллярное изоэлектрическое фокусирование (сIEF).

**[00296]** В некоторых вариантах осуществления супернатанты из систем экспрессии, которые секретируют рекомбинантный белок в культуральную среду, сначала концентрируют с использованием имеющегося в продаже фильтра для концентрирования

белка, например, устройства для ультрафильтрации Amicon® или Millipore Pellicon®. После стадии концентрирования концентрат может быть нанесен на подходящую матрицу для очистки. В некоторых вариантах осуществления используется анионообменная смола, например, матрица или субстрат, имеющие боковые диэтиламиноэтиловые (ДЭАЭ) группы. Матрицы могут быть акриламидными, агарозными, декстрановыми, целлюлозными или других типов, которые обычно используются при очистке белков. В некоторых вариантах осуществления используется стадия катионного обмена. Подходящие катионообменники включают различные нерастворимые матрицы, включающие сульфопропильные или карбоксиметильные группы. В некоторых вариантах осуществления используется гидроксиапатитная среда, включая, но не ограничиваясь этим, керамический гидроксиапатит (СНТ). В некоторых вариантах осуществления для дополнительной очистки рекомбинантного белка применяют одну или более стадий ВЭЖХ с обращенной фазой с использованием гидрофобной среды ОФ-ВЭЖХ, например, силикагеля, имеющего боковые метильные или другие алифатические группы. В некоторых вариантах осуществления хроматографию гидрофобного взаимодействия (НГ) используют для разделения рекомбинантных белков на основе их гидрофобности. НГ является подходящим методом разделения для очистки белков при сохранении биологической активности благодаря использованию условий и матриц, которые работают в менее денатурирующих условиях, чем некоторые другие методы. Некоторые или все вышеперечисленные стадии очистки в различных сочетаниях могут быть использованы для получения гомогенного рекомбинантного белка.

**[00297]** Связывающие ИЛТ агенты (например, связывающие ИЛТ2 агенты, связывающие ИЛТ4 агенты или связывающие ИЛТ2/ИЛТ4 агенты) по настоящему изобретению могут быть проанализированы на их физические/химические свойства и/или биологическую активность с помощью различных анализов, известных в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 тестируют на его способность связывать ИЛТ2 (например, ИЛТ2 человека и/или ИЛТ2 яванского макака / макака-резуса). В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 тестируют на его способность связывать ИЛТ4 (например, ИЛТ4 человека). В некоторых вариантах реализации антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 тестируют на его способность связывать ИЛТ2 и ИЛТ4 (например, ИЛТ2 человека, ИЛТ4 человека и ИЛТ2 яванского макака / макака-резуса). Анализы связывания включают, но не ограничиваются ими, ППР (например, Вiасоре), ELISA и FACS. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 тестируют на его способность ингибировать, снижать или блокировать связывание ИЛТ2 с антигенами МНС класса I. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 тестируют на его способность ингибировать,

уменьшать или блокировать связывание ILT4 с антигенами МНС класса I. В некоторых вариантах осуществления антитело против ILT2/ILT4 тестируют на его способность ингибировать, снижать или блокировать связывание ILT2 и ILT4 с антигенами МНС класса I. Кроме того, антитела можно оценивать на растворимость, стабильность, термостабильность, вязкость, уровни экспрессии, качество экспрессии и/или эффективность очистки.

**[00298]** В некоторых вариантах осуществления моноклональные антитела, полученные против ILT2, ILT4, или ILT2 и ILT4, группируются на основе эпитопа, который распознает каждое отдельное антитело, процесс, известный как «эпитоп-специфическая сортировка». Как правило, антитела тестируют парным комбинаторным способом, и антитела, которые конкурируют друг с другом, сортируют в группы. Например, в анализе специфической сортировки предварительной смеси первое антитело иммобилизуют на поверхности, а предварительно смешанный раствор второго антитела и антигена пропускают через иммобилизованное первое антитело. В тандеме антиген иммобилизуют на поверхности, и два антитела окружают иммобилизованный антиген и конкурируют за связывание. Используя эти методы, можно идентифицировать антитела, которые блокируют друг друга. Конкурентный профиль блокировки создается для каждого антитела по отношению к другим антителам. Результаты блокирования определяют, в какую группу помещается каждое антитело. Высокопроизводительные методы эпитоп-специфической сортировки известны в данной области техники и позволяют проводить скрининг и определять характеристики большого количества антител за короткий период времени. Антитела, которые связывают сходные эпитопы, часто имеют сходные функции и/или возможности. И наоборот, антитела, связывающие разные эпитопы, могут иметь разную функциональную активность.

**[00299]** В некоторых вариантах осуществления эпитопная группа содержит по меньшей мере одно антитело из группы, состоящей из: 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, 51A1, 64A12, 73C4 и 73D1. В некоторых вариантах осуществления эпитопная группа содержит по меньшей мере антитела 27F9 и 73D1. В некоторых вариантах осуществления эпитопная группа содержит по меньшей мере антитела 27F9, 73C4 и 73D1. В некоторых вариантах осуществления эпитопная группа содержит по меньшей мере антитела 48A5 и 47H6.

**[00300]** Картирование эпитопов представляет собой процесс идентификации сайта связывания или эпитопа на целевом белке/антигене, где связывается антитело (или другой связывающий агент). В данной области техники известны различные способы картирования эпитопов на белках-мишенях. Эти способы включают (i) мутагенез, включая, но не ограничиваясь этим, мутагенез дробовиком, сайт-направленный мутагенез и

аланиновое сканирование; (ii) сканирование домена или фрагмента; (iii) сканирование пептидов (например, технология Pepscan); (iv) методы дисплея, включая, но не ограничиваясь ими, фаговый дисплей, микробный дисплей и дисплей на рибосомах/мРНК; (v) методы, включающие протеолиз и масс-спектроскопию; (vi) методы, включающие амидный обмен водорода/дейтерия; и (vii) структурный анализ, включая, но не ограничиваясь этим, рентгеноструктурную кристаллографию и ЯМР.

**[00301]** В некоторых вариантах осуществления очищенные антитела к ИЛТ (например, антитела к ИЛТ2, антитела к ИЛТ4 или антитела к ИЛТ2/ИЛТ4) характеризуются анализами, включая, помимо прочего, N-концевое секвенирование, анализ аминокислот, ВЭЖХ, масс-спектрометрию, дифференциальную сканирующую флуориметрию (DSF), nanoDSF, капиллярное изоэлектрическое фокусирование (cIEF), ионообменную хроматографию и расщепление папаином.

**[00302]** Анализы *in vitro*, с помощью которых характеризуют функцию иммунных клеток, включают, помимо прочего, анализы активации клеток (например, анализы пролиферации клеток), анализы цитотоксических Т-клеток (CTL), анализы супрессии Т-клеток, анализы MDSC, анализы естественных клеток-киллеров (NK), анализы смешанной лимфоцитарной реакции (СКЛ-реакция), анализы продукции цитокинов/хемокинов, анализы связывания FcR, анализы фагоцитоза и анализы миграции клеток. В некоторых вариантах осуществления предложены анализы для идентификации антител к ИЛТ, которые влияют на активность ИЛТ. «Влияние или воздействие на активность ИЛТ» может включать, например, ингибирование, снижение, блокирование, антагонизм, супрессию и/или интерференцию в активность ИЛТ2, активность ИЛТ4 или активность ИЛТ2 и ИЛТ4. Поскольку ИЛТ2 и ИЛТ4, как правило, действуют как негативные регуляторные/ингибирующие молекулы, в некоторых вариантах осуществления, ингибирование, снижение, блокирование, антагонизм, супрессия и/или интерференция в активность ИЛТ2 и/или ИЛТ4 приводит к блокаде индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии биологической функции. Специалисты в данной области техники могут называть эту способность «отпуская тормоза», например, антитела к ИЛТ, описанные в данном документе, блокируют сигналинг ИЛТ2 и/или ИЛТ4, которые в противном случае посылали бы супрессивный сигнал. Как только «тормоза» отпущены, иммунная система способна дать ответ или более сильный ответ, например, на опухоль.

**[00303]** Как описано в данном документе, ИЛТ2 экспрессируется на миелоидных клетках, таких как моноциты, макрофаги, дендритные клетки (DC) и APC, а также на NK-клетках, В-клетках и CD8<sup>+</sup> Т-клетках (CTL). Активность ИЛТ2 или сигнальная активность ИЛТ2 включает, но не ограничивается ими, супрессию миелоидных клеток, супрессию

активности миелоидных клеток, супрессию опухоль-ассоциированных миелоидных клеток, супрессию NK-клеток и супрессию цитолитических Т-клеток (CTL). В некоторых вариантах осуществления ингибирование, снижение, блокирование, антагонизм, супрессия и/или интерференция в активность ИЛТ2 приводят к высвобождению индуцируемой ИЛТ2 супрессии сигнала активации. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 ингибирует сигналинг ИЛТ2. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 ингибирует сигналинг ИЛТ2, тем самым реверсируя индуцируемый ИЛТ2 супрессивный эффект. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 ингибирует индуцируемый ИЛТ2 сигнал экстинции. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 повышает активность миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 повышает активность APC. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 повышает активность макрофагов. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 усиливает фагоцитоз макрофагов. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 повышает активность NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ2 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 повышает активность CTL.

**[00304]** ИЛТ4 экспрессируется на миелоидных клетках, таких как моноциты, макрофаги, дендритные клетки (DC), миелоидные супрессорные клетки (MDSC) и APC, а также нейтрофилы и эозинофилы. Активность ИЛТ4 или сигнальная активность ИЛТ4 включает, но не ограничивается ими, супрессию миелоидных клеток, супрессию активности миелоидных клеток и супрессию опухоль-ассоциированных миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления ингибирование, снижение, блокирование, антагонизм, супрессия и/или интерференция в активность ИЛТ4 приводят к высвобождению индуцируемой ИЛТ4 супрессии сигнала активации. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 ингибирует сигналинг ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 ингибирует сигналинг ИЛТ4, тем самым реверсируя индуцируемый ИЛТ4 супрессивный эффект. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 ингибирует индуцируемый ИЛТ4 сигнал экстинции. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 повышает активность миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 повышает активность макрофагов. В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 снижает количество MDSC. В некоторых вариантах осуществления антитело к

ILT4 или антитело к ILT2/ILT4 снижает супрессию со стороны MDSC. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4 индуцирует переключение MDSC на активированные макрофаги.

**[00305]** В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и активирует миелоидные клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и активирует APC. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и активирует дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и активирует первичные дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и повышает активность NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и повышает активность CTL.

**[00306]** В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT4 и активирует миелоидные клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT4 и активирует APC. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT4 и активирует дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT4 и активирует первичные дендритные клетки.

**[00307]** В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4 и активирует миелоидные клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4 и активирует APC. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4 и активирует дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4 и повышает активность миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4 и повышает

активность NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4 и повышает активность CTL. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4 нарушает сигнальный путь ILT2 и сигнальный путь ILT4 и снижает активность MDSC.

**[00308]** В некоторых вариантах осуществления термины «ингибирующий», «снижающий», «блокирующий», «антагонистический», «супрессирующий» и «интерферирующий» относятся к уровням и/или активности в отсутствие лечения связывающим ИТ агентом. В некоторых вариантах осуществления термины «ингибирующий», «снижающий», «блокирующий», «антагонистический», «супрессирующий» и «интерферирующий» относятся к уровням и/или активности до лечения связывающим ИТ агентом.

**[00309]** В некоторых вариантах осуществления термины «активация», «стимулирование», «повышение» и «усиление» относятся к уровням и/или активности в отсутствие лечения связывающим ИТ агентом. В некоторых вариантах осуществления термины «активация», «стимулирование», «повышение» и «усиление» относятся к уровням и/или активности до лечения связывающим ИТ агентом.

**[00310]** В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2, которое ингибирует активность ILT2, представляет собой антитело 27F9. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4, которое ингибирует активность ILT4, представляет собой антитело 47C8. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT4, которое ингибирует активность ILT4, представляет собой антитело 48A5. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело 47H6. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело Hz47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело 51A1. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело 64A12. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело Hz64A12. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело 73C4. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело 73D1. В некоторых вариантах осуществления антитело к ILT2/ILT4, которое ингибирует активность ILT2 и ILT4, представляет собой антитело Hz73D1.v1

**[00311]** В настоящем изобретении также предложены конъюгаты, содержащие антитело к ILT2, антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4, описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело присоединено ко второй молекуле. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгировано с цитотоксическим агентом или фрагментом. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгировано с цитотоксическим агентом с образованием ADC (конъюгата антитело-лекарственное средство). В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой химиотерапевтический агент, включая, помимо прочего, метотрексат, адриамицин/доксорубин, мелфалан, митомицин С, хлорамбуцил, дуокармицин, даунорубин, пирролобензодиазепины (PBD) или другие интеркалирующие агенты. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой ингибитор микротрубочек, включая, помимо прочего, ауристатины, майтанзиноиды (например, DM1 и DM4) и тубулизины. В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой ферментативно активный токсин бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения или его фрагменты, включая, но не ограничиваясь ими, дифтерийную А-цепь, несвязывающиеся активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина, А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модекцина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, диантиновые белки, белки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *Sapaonaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трихотецены. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгировано с одним или более низкомолекулярными токсинами, такими как калихеамицины, майтанзиноиды, трихотецины и CC1065. Производное любого из этих токсинов может быть использовано до тех пор, пока производное сохраняет цитотоксическую активность исходной молекулы.

**[00312]** Конъюгаты, содержащие антитело к ILT (например, антитело к ILT2, антитело к ILT4 или антитело к ILT2/ILT4), описанное в данном документе, могут быть получены с использованием любого подходящего метода, известного в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты получают с использованием различных бифункциональных связывающих белок агентов, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол) пропионат (SPDP), иминотиолан (IT), бифункциональные производные имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидил суберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидосоединения (такие как бис (п-азидобензоил) гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-

(п-дiazонийбензоил)-этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол).

**[00313]** В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ (например, антитело к ИЛТ2, антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4), описанное в настоящем документе, конъюгировано с обнаруживаемым веществом или молекулой, которая позволяет использовать антитело для диагностики и/или обнаружения. В некоторых вариантах осуществления меченое антитело к ИЛТ используют для мониторинга иммунных клеток в опухоли или в микроокружении опухоли. В некоторых вариантах осуществления меченое антитело к ИЛТ используют для мониторинга иммунных клеток в опухоли или в микроокружении опухоли после лечения. Обнаруживаемое вещество может включать, но не ограничиваться ими, ферменты, такие как пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза и ацетилхолинэстераза; простетические группы, такие как биотин и флаavin(ы); флуоресцентные материалы, такие как умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат (FITC), родамин, тетраметилродаминизотиоцианат (TRITC), дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансилхлорид, цианин (Cy3) и фикоэритрин; биолюминесцентные материалы, такие как люцифераза; радиоактивные вещества, такие как  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{153}\text{Gd}$ ,  $^{159}\text{Gd}$ ,  $^{68}\text{Ge}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{121}\text{I}$ ,  $^{115}\text{In}$ ,  $^{113}\text{In}$ ,  $^{112}\text{In}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{140}\text{La}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{99}\text{Mo}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{103}\text{Pd}$ ,  $^{149}\text{Pm}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{75}\text{Se}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{113}\text{Sn}$ ,  $^{117}\text{Sn}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{133}\text{Xe}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{69}\text{Yb}$ ,  $^{175}\text{Yb}$ ,  $^{65}\text{Zn}$ ; позитронно-активные металлы; и магнитные ионы металлов.

**[00314]** В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ (например, антитело к ИЛТ2, антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4), описанное в данном документе, используется в иммуноанализе. Иммуноанализы известны специалистам в данной области техники и включают, но не ограничиваются ими, ELISA, ППР (например, Biacore), FACS и иммуногистохимию (ИГХ). В некоторых вариантах осуществления антитело к ИЛТ, описанное в данном документе, используется на образце ткани или образце опухоли.

**[00315]** Антитело к ИЛТ (например, антитело к ИЛТ2, антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4), описанное в данном документе, также может быть конъюгировано со вторым антителом с образованием гетероконъюгата антитела.

**[00316]** Антитело к ИЛТ (например, антитело к ИЛТ2, антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4), как описано в данном документе, может быть прикреплено к твердой подложке. Такие твердые подложки включают, но не ограничиваются этим, стекло, целлюлозу, полиакриламид, нейлон, полистирол, поливинилхлорид или полипропилен. В некоторых вариантах осуществления в иммуноанализах используют иммобилизованные антитела к

ИТ. В некоторых вариантах осуществления для очистки целевого антигена используют иммобилизованные антитела к ИТ.

### III. Полинуклеотиды

**[00317]** В некоторых вариантах осуществления изобретение охватывает полинуклеотиды, содержащие полинуклеотиды, кодирующие полипептид (например, связывающий ИТ агент), описанный в данном документе. Термин «полинуклеотиды, кодирующие полипептид» охватывает полинуклеотид, который включает только кодирующие последовательности для полипептида, а также полинуклеотид, который включает дополнительные кодирующие и/или не кодирующие последовательности. Полинуклеотиды по настоящему изобретению могут быть в форме РНК или в форме ДНК. ДНК включает кДНК, геномную ДНК и синтетическую ДНК; и может быть двухцепочечной или одноцепочечной, и если одноцепочечная может быть кодирующей цепью или не кодирующей (антисмысловой) цепью.

**[00318]** В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи и/или переменную область легкой цепи связывающего ИТ2 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи связывающего ИТ2 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область легкой цепи связывающего ИТ2 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи связывающего ИТ2 агента, описанного в данном документе, и полинуклеотид, кодирующий переменную область легкой цепи связывающего ИТ2 агента. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи и/или переменную область легкой цепи связывающего ИТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область легкой цепи связывающего ИТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи связывающего ИТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи и/или переменную область легкой цепи связывающего ИТ4 агента, описанного в данном документе, и полинуклеотид, кодирующий переменную область легкой цепи связывающего ИТ4 агента, описанного в данном документе.









содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:144, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145.

**[00323]** В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий более одной аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из: SEQ ID NO:146-157. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:146, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:147. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:150, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:151. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:154, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:155. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит полинуклеотид, кодирующий (i) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156, и (ii) полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157.

**[00324]** Настоящее изобретение также обеспечивает варианты полинуклеотидов, описанных в данном документе, где вариант кодирует, например, фрагмент, аналог и/или производное полипептида. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к полинуклеотиду, включающему полинуклеотид, нуклеотидная последовательность которого на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, а в некоторых вариантах осуществления, на по меньшей

мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или на по меньшей мере 99% идентична полинуклеотиду, кодирующему описанный в данном документе полипептид.

**[00325]** В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включает полинуклеотид, нуклеотидная последовательность которого на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, а в некоторых вариантах осуществления, на по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или на по меньшей мере 99% идентична полинуклеотиду, кодирующему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO:125-157. Также предложен полинуклеотид, который содержит полинуклеотид, который гибридизуется с полинуклеотидом, кодирующим аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO:125-157. В некоторых вариантах осуществления гибридизация проводится в условиях высокой жесткости, как известно специалистам в данной области техники.

**[00326]** Используемая в данном документе фраза «полинуклеотид, имеющий нуклеотидную последовательность, по меньшей мере, на 95% идентичную полинуклеотидной последовательности» означает, что нуклеотидная последовательность полинуклеотида идентична эталонной последовательности, за исключением того, что полинуклеотидная последовательность может включать до пяти точечных мутаций на каждые 100 нуклеотидов эталонной нуклеотидной последовательности. Другими словами, для получения полинуклеотида, имеющего нуклеотидную последовательность, по меньшей мере, на 95% идентичную эталонной нуклеотидной последовательности, до 5% нуклеотидов в эталонной последовательности могут быть удалены или заменены другим нуклеотидом, или количество нуклеотидов до 5% всех нуклеотидов в эталонной последовательности могут быть вставлены в эталонную последовательность. Специалистам в данной области техники понятно, что соответствующие расчеты могут быть сделаны для других формулировок о «% идентичности», например, 90% идентичности или 85% идентичности. Мутации эталонной последовательности могут происходить в 5'-или 3'-концевых положениях эталонной нуклеотидной последовательности или в любом месте между этими концевыми положениями, с введением либо индивидуально среди нуклеотидов в эталонной последовательности, либо в одной или более смежных группах в эталонной последовательности.

**[00327]** Полинуклеотидные варианты могут содержать изменения в кодирующих областях, некодирующих областях или в обоих типах областей. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида содержит изменения, которые приводят к молчащим заменам, добавлениям или делециям, но не изменяют свойства или активности

кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида содержит молчащие замены, которые не приводят к изменению аминокислотной последовательности полипептида (из-за вырожденности генетического кода). В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида содержит один или более мутантных кодонов, содержащих одну или более (например, 1, 2 или 3) замен в кодоне, которые изменяют аминокислоту, кодируемую этим кодоном. Способы введения одной или более замен в кодон известны в данной области техники, включая, помимо прочего, ПЦР-мутагенез и сайт-направленный мутагенез. Варианты полинуклеотидов могут быть получены по разным причинам, например, для оптимизации экспрессии кодонов для конкретного хозяина (например, замена кодонов в мРНК человека на кодоны, предпочтительные для бактериального хозяина, такого как *E. coli*). В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида содержит по меньшей мере одну молчащую мутацию в некодирующей или кодирующей области последовательности.

**[00328]** В некоторых вариантах осуществления получают вариант полинуклеотида для модулирования или изменения экспрессии (или уровней экспрессии) кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления получают вариант полинуклеотида для увеличения экспрессии кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления получают вариант полинуклеотида для снижения экспрессии кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида имеет сниженную экспрессию кодируемого полипептида по сравнению с исходной полинуклеотидной последовательностью. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида имеет сниженную экспрессию кодируемого полипептида по сравнению с исходной полинуклеотидной последовательностью.

**[00329]** В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит кодирующую последовательность полипептида, слитую в той же рамке считывания с полинуклеотидом, который способствует экспрессии и секреции полипептида из клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, который способствует экспрессии и секреции, представляет собой лидерную последовательность, которая функционирует как секреторная последовательность для контроля транспорта полипептида. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет лидерную последовательность, расщепленную клеткой-хозяином с образованием «зрелой» формы полипептида.

**[00330]** В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит кодирующую последовательность полипептида, слитую в той же рамке считывания с последовательностью маркера или метки. Например, в некоторых вариантах осуществления маркерная последовательность представляет собой гексагистидиновую

метку (HIS-метка; SEQ ID NO:173), которая позволяет эффективно очищать полипептид, слитый с маркером. В некоторых вариантах осуществления маркерная последовательность представляет собой гемагглютининовую (НА) метку, полученную из белка гемагглютинина гриппа, когда используется хозяин-млекопитающее. В некоторых вариантах осуществления маркерная последовательность представляет собой метку FLAG™. В некоторых вариантах осуществления маркер можно использовать в комбинации с другими маркерами или метками.

**[00331]** В некоторых вариантах осуществления выделяют полинуклеотид. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид является по существу чистым.

**[00332]** Также предложены векторы и клетки, содержащие каждый из описанных в данном документе полинуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит молекулу полинуклеотида, кодирующую связывающий ИЛТ агент (например, связывающий ИЛТ2 агент, связывающий ИЛТ4 агент или связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент), описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вектор содержит молекулу полинуклеотида, кодирующую полипептид, который является частью связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит вектор, содержащий молекулу полинуклеотида, кодирующую связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит вектор, содержащий молекулу полинуклеотида, кодирующую полипептид, который является частью связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит молекулу полинуклеотида, кодирующую связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один полинуклеотид, кодирующий связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит первый полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе, и второй полинуклеотид, кодирующий переменную область легкой цепи связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит полинуклеотид, кодирующий переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит первый полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе, и второй полинуклеотид, кодирующий легкую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В

некоторых вариантах осуществления клетка содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один или более векторов, кодирующих связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит вектор, кодирующий связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит первый вектор, кодирующий переменную область тяжелой цепи связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе, и второй вектор, кодирующий переменную область легкой цепи связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один вектор, кодирующий переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит первый вектор, кодирующий тяжелую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе, и второй вектор, кодирующий легкую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один вектор, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе.

#### IV. Способы получения связывающих агентов

**[00333]** В данном изобретении предложены способы получения связывающих ИЛТ агентов (например, связывающих ИЛТ2 агентов, связывающих ИЛТ4 агентов, или связывающих ИЛТ2/ИЛТ4 агентов), описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ включает получение клетки, содержащей один или более полинуклеотидов, кодирующих тяжелую цепь и/или легкую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе, культивирование клетки в условиях, обеспечивающих экспрессию связывающего агента, и выделение связывающего агента. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает очистку связывающего агента. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает составление связывающего агента в виде фармацевтической композиции.

**[00334]** В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих тяжелую цепь и легкую цепь связывающего ИЛТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит первый полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь связывающего ИЛТ агента и второй полинуклеотид, кодирующий легкую цепь связывающего ИЛТ агента. В других вариантах осуществления клетка содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь

связывающего ИТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий связывающий ИТ агент, описанный в данном документе, транзистентно трансфицируют в клетку. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий связывающий ИТ агент, описанный в данном документе, стабильно трансфицируют в клетку.

**[00335]** В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один или более векторов, кодирующих переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи связывающего ИТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит первый вектор, кодирующий переменную область тяжелой цепи связывающего ИТ агента, и второй вектор, кодирующий переменную область легкой цепи связывающего ИТ агента. В других вариантах осуществления клетка содержит вектор, кодирующий переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи связывающего ИТ агента. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит один или более векторов, кодирующих тяжелую цепь и легкую цепь связывающего ИТ агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит первый вектор, кодирующий тяжелую цепь связывающего ИТ агента и второй вектор, кодирующий легкую цепь связывающего ИТ агента. В других вариантах осуществления клетка содержит вектор, кодирующий тяжелую цепь и легкую цепь связывающего ИТ агента, описанного в данном документе.

**[00336]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент (например, связывающий ИТ2 агент, связывающий ИТ4 агент или связывающий ИТ2/ИТ4 агент) представляет собой фрагмент антитела, содержащий по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт, и способ включает получение клетки, содержащей полинуклеотид, кодирующий фрагмент антитела к ИТ, инкубирование клетки в условиях, которые обеспечивают экспрессию фрагмента антитела, и выделение фрагмента антитела. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит полинуклеотид, кодирующий фрагмент антитела, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит вектор, кодирующий фрагмент антитела, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ включает очистку фрагмента антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, одноцепочечное антитело, антитело с двойной переменной областью, диатело или наноантитело.

**[00337]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИТ агент представляет собой scFv, и способ включает получение клетки, содержащей scFv, инкубацию клетки в условиях, обеспечивающих экспрессию scFv, и выделение scFv. В некоторых вариантах

осуществления клетка содержит вектор, описанный в данном документе, кодирующий scFv. В некоторых вариантах осуществления клетка содержит описанный в данном документе полинуклеотид, кодирующий scFv. В некоторых вариантах осуществления способ включает очистку scFv.

**[00338]** В некоторых вариантах осуществления клетка, используемая для получения связывающего ИЛТ агента, представляет собой бактериальную клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка, используемая для получения связывающего ИЛТ агента, представляет собой клетку дрожжей. В некоторых вариантах осуществления клетка, используемая для получения связывающего ИЛТ агента, представляет собой клетку млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления клетка, используемая для получения связывающего ИЛТ агента, представляет собой клетку СНО. В некоторых вариантах осуществления клетка, используемая для получения связывающего ИЛТ агента, представляет собой клетку НЕК-293.

#### V. Способы применения и фармацевтические композиции

**[00339]** Связывающие ИЛТ агенты (например, связывающие ИЛТ2 агенты, связывающие ИЛТ4 агенты или связывающие ИЛТ2/ИЛТ4 агенты) по настоящему изобретению применимы в различных применениях, включая, но не ограничиваясь ими, методы терапевтического лечения, например, лечение злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления способы терапевтического лечения включают иммунотерапию злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе, применим для активации, стимуляции, увеличения и/или усиления иммунного ответа на злокачественное новообразование или раковые клетки. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе, применим для активации, стимуляции, увеличения и/или усиления иммунного ответа на опухоль или опухолевые клетки. Указанные способы применения могут представлять собой *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo* способы.

**[00340]** В настоящем изобретении предложены способы нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к

нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой МНС I активности ИЛТ2. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой ИЛТ2 супрессии миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой ИЛТ2 супрессии активности миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I восстанавливает сигнальную активность FcR в миелоидных клетках. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой моноцит. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой макрофаг. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой дендритную клетку. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой APC. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к повышению активности НК-клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к повышению активности CTL. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула МНС I представляет собой классическую молекулу МНС I. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула МНС I представляет собой неклассическую молекулу МНС I. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула МНС I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, и/или HLA-G.

**[00341]** В настоящем изобретении предложены способы нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах

осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой МНС I активности ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой ИЛТ4 супрессии миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой ИЛТ4 супрессии активности миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I восстанавливает сигнальную активность FcR в миелоидных клетках. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой моноцит. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой макрофаг. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой дендритную клетку. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой APC. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула МНС I представляет собой классическую молекулу МНС I. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула МНС I представляет собой неклассическую молекулу МНС I. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов молекула МНС I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, и/или HLA-G.

**[00342]** В настоящем изобретении предложены способы нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой МНС I

активности ИЛТ2 и/или ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к нарушению, ингибированию или блокированию индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии активности миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I восстанавливает сигнальную активность FcR в миелоидных клетках. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой моноцит. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой макрофаг. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой дендритную клетку. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой APC. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к повышению активности NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и ИЛТ4 с одной или более молекулами МНС I включает приведение клеток в контакт со связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом, описанным в данном документе, при этом способ приводит к повышению активности CTL.

**[00343]** В настоящем изобретении предложены способы нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и/или ИЛТ4 с молекулами МНС I у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания ИЛТ2 и/или ИЛТ4 с молекулами МНС I у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности ИЛТ2 и/или ИЛТ4 у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой ИЛТ2 и/или индуцируемой ИЛТ4 супрессии

миелоидных клеток у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего IL2/IL4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой IL2 и/или индуцируемой IL4 супрессии активности миелоидных клеток у субъекта включает введение субъекту эффективного количества связывающего IL2/IL4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой IL2 и/или индуцируемой IL4 супрессии активности антигенпрезентирующих клеток у субъекта восстанавливает активность FcR в миелоидных клетках. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой моноцит. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой макрофаг. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой дендритную клетку. В некоторых вариантах осуществления миелоидная клетка представляет собой APC.

**[00344]** В настоящем изобретении предложены способы активации иммунного ответа у субъекта с использованием связывающего IL2/IL4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы стимуляции иммунного ответа у субъекта с использованием связывающего IL2/IL4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы увеличения иммунного ответа у субъекта с использованием связывающего IL2/IL4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложены способы усиления иммунного ответа у субъекта с использованием связывающего IL2/IL4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления активация, стимулирование, увеличение и/или усиление иммунного ответа включает стимуляцию миелоидных клеток. В некоторых вариантах осуществления активация, стимулирование, увеличение и/или усиление иммунного ответа включает стимуляцию моноцитов. В некоторых вариантах осуществления активация, стимулирование, увеличение и/или усиление иммунного ответа включает стимуляцию макрофагов. В некоторых вариантах осуществления активация, стимулирование, увеличение и/или усиление иммунного ответа включает стимуляцию дендритных клеток. В некоторых вариантах осуществления активация, стимулирование, увеличение и/или усиление иммунного ответа включает стимуляцию APC. В некоторых вариантах осуществления активация, стимуляция, повышение и/или усиление иммунного ответа включают повышение клеточноопосредованного иммунитета. В некоторых вариантах осуществления активация, стимуляция, повышение и/или усиление иммунного ответа включают повышение

активности эффекторных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения активация, стимуляция, повышение и/или усиление иммунного ответа включают повышение CTL активности. В некоторых вариантах осуществления активация, стимуляция, повышение и/или усиление иммунного ответа включают повышение активности NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления активация, стимуляция, повышение и/или усиление иммунного ответа включает повышение активности NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления активация, стимуляция, повышение и/или усиление иммунного ответа включают ингибирование или снижение супрессивной активности Treg. В некоторых вариантах осуществления активация, стимуляция, повышение и/или усиление иммунного ответа включают ингибирование или снижение супрессивной активности MСK. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ является результатом антигенной стимуляции. В некоторых вариантах осуществления антигенная стимуляция представляет собой опухолевую клетку. В некоторых вариантах осуществления антигенная стимуляция представляет собой злокачественное новообразование.

**[00345]** В изобретении также предложены способы нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 и/или ILT4 в клетке, включающие приведение клетки в контакт с эффективным количеством связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 в клетке включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством антитела 27F9, антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела 73D1 или их гуманизированных версий. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT4 в клетке включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством антитела 47C8, антитела 48A5, антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела 73D1 или их гуманизированных версий. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 и сигналинга ILT4 в клетке включает приведение в контакт клетки с эффективным количеством антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела 73D1 или их гуманизированных версий. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 и ILT4 в клетке включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством антитела Hz47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 и ILT4 в клетке включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством антитела Hz64A12. В некоторых вариантах осуществления способ нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 и ILT4 в клетке включает приведение клетки в контакт с эффективным количеством

антитела Hz73D1.v1. В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложено применение связывающего ILT2 агента, описанного в данном документе, в производстве или получении лекарственного средства для нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 в клетке. В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложено применение связывающего ILT4 агента, описанного в данном документе, в производстве или получении лекарственного средства для нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT4 в клетке. В некоторых вариантах осуществления в данном изобретении предложено применение связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе, в производстве или получении лекарственного препарата для нарушения и/или ингибирования сигналинга ILT2 и сигналинга ILT4 в клетке. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой миелоидную клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой моноцит. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой макрофаг. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой дендритную клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой антигенпрезентирующую клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой НК-клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой CTL. В некоторых вариантах осуществления способ представляет собой способ *in vivo*, в котором стадия приведение в контакт клетки с агентом включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT агента. В некоторых вариантах осуществления способ представляет собой способ *in vitro* или *ex vivo*.

**[00346]** В настоящем изобретении также предложены способы ингибирования роста опухоли с применением связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение связывающего ILT2 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение антитела 27F9 или его гуманизированной версии. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение связывающего ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение антитела 47C8 или антитела 48A5 или их гуманизированных версий. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела

73D1 или их гуманизированных версий. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение антитела Hz47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение антитела Hz64A12. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает применение антитела Hz73D1.v1. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает приведение смеси клеток в контакт со связывающим ИЛТ агентом *in vitro*. Например, иммортализованную клеточную линию или линию раковых клеток, смешанную с иммунными клетками (например, миелоидной клеткой), культивируют в среде, к которой добавляют тестируемый агент, связывающий ИЛТ2 и/или ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления опухолевые клетки выделяют из образца пациента, такого как, например, биопсия ткани, плевральный выпот или образец крови, смешивают с иммунными клетками (например, миелоидные клетки) и культивируют в среде, к которой добавлен тестируемый агент, связывающий ИЛТ2 и/или ИЛТ4. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает применение связывающего ИЛТ2 агента, описанного в данном документе, в производстве или получении лекарственного средства для ингибирования роста опухоли опухолевой клетки. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает применение связывающего ИЛТ4 агента, описанного в данном документе, в производстве или получении лекарственного средства для ингибирования роста опухоли опухолевой клетки. В некоторых вариантах осуществления изобретение обеспечивает применение связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента, описанного в данном документе, в производстве или получении лекарственного средства для ингибирования роста опухоли опухолевой клетки. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2 агент повышает, стимулирует и/или усиливает активность эффекторных иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2 агент ингибирует рост опухолевых клеток за счет повышения, стимуляции и/или усиления активности эффекторных иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ4 агент повышает, стимулирует и/или усиливает активность эффекторных иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ4 агент ингибирует рост опухолевых клеток за счет повышения, стимуляции и/или усиления активности эффекторных иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ ИЛТ4 агент повышает, стимулирует и/или усиливает активность эффекторных иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент ингибирует рост опухолевых клеток за счет повышения, стимуляции и/или усиления активности эффекторных иммунных клеток.

**[00347]** В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает приведение опухоли и/или микроокружения опухоли в контакт со связывающим ИЛТ агентом (например, связывающим ИЛТ2 агентом, связывающим ИЛТ4 агентом или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом), описанным в данном документе, *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления приведение в контакт опухоли и/или микроокружения опухоли со связывающим ИЛТ агентом, описанным в данном документе, осуществляют на животной модели. Например, тестируемый агент (например, связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент) можно вводить мышам с опухолями. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент повышает, стимулирует и/или усиливает активность иммунных клеток у мышей. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент ингибирует рост опухоли. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент вызывает регрессию опухоли. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент вводят одновременно или вскоре после введения опухолевых клеток животному для предотвращения роста опухоли («профилактическая модель»). В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент вводят после того, как опухоли выросли до определенного размера или стали «пригодными» для лечения («терапевтическая модель»). В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент вводят трансгенному животному (например, трансгенной мышью), у которого экспрессируется ИЛТ2 и/или ИЛТ4 человека, причем трансгенное животное имеет опухоль, полученную из клеток человека.

**[00348]** В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ИЛТ агента (например, связывающего ИЛТ2 агента, связывающего ИЛТ4 агента, или связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента), описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ увеличения или усиления иммунного ответа на опухоль или опухолевые клетки у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ активации или усиления стойкого или долговременного иммунного ответа на опухоль или опухолевые клетки у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования рецидива опухоли или повторного роста опухоли у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества

связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ индуцирования стойкого или долговременного иммунитета, который ингибирует рецидив опухоли или повторный рост опухоли у субъекта, включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов опухоль представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль легкого, немелкоклеточную опухоль легкого, опухоль головы и шеи, колоректальную опухоль, опухоль предстательной железы, опухоль кожи, меланомную опухоль, опухоль желудка, опухоль желудочно-кишечного тракта, опухоль кишечника, опухоль яичника, опухоль шейки матки, опухоль матки, опухоль эндометрия, опухоль мочевого пузыря, опухоль головного мозга, опухоль пищевода, опухоль печени, опухоль почки, почечно-клеточную карциному или опухоль яичка. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой опухоль поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой немелкоклеточную опухоль легкого. В некоторых вариантах осуществления опухоль представляет собой почечно-клеточную карциному (RCC). В некоторых вариантах осуществления субъект имеет опухоль или у субъекта была опухоль, которая была по меньшей мере частично удалена. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов субъект представляет собой человека.

**[00349]** В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанных в данном документе, в производстве или получении лекарственного препарата для ингибирования роста опухоли или опухолевой клетки. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела 27F9, антитела 47C8, антитела 48A5, антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела 73D1 или их гуманизированных версий. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела Hz47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела Hz64A12. В некоторых вариантах осуществления способ ингибирования роста опухоли включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела Hz73D1.v1. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов субъект представляет собой человека.

**[00350]** Настоящее изобретение обеспечивает способы лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент связывает ILT2 и/или ILT4 и ингибирует или уменьшает рост злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент связывает клетки, экспрессирующие ILT2 человека, и/или клетки, экспрессирующие ILT4 человека, усиливает иммунный ответ на злокачественное новообразование и ингибирует или уменьшает рост злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления связывающий ILT2/ILT4 агент связывает клетки, экспрессирующие ILT2 человека, и/или клетки, экспрессирующие ILT4 человека, активирует миелоидные клетки, усиливает иммунный ответ на злокачественное новообразование и ингибирует или уменьшает рост злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется раковая опухоль. В некоторых вариантах осуществления у субъекта по меньшей мере частично удалено злокачественное новообразование.

**[00351]** В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложено применение связывающего ILT2 агента, описанного в данном документе, при производстве или приготовлении лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложено применение связывающего ILT4 агента, описанного в данном документе, при производстве или приготовлении лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложено применение связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе, при производстве или приготовлении лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.

**[00352]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак легкого, немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рак головы и шеи,

колоректальный рак, рак предстательной железы, рак кожи, меланому, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта, рак кишечника, рак яичников, рак шейки матки, рак матки, рак эндометрия, рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак пищевода, рак печени, рак почки, почечно-клеточную карцинома (ПКР) или рак яичек. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак молочной железы. В некоторых вариантах реализации злокачественное новообразование представляет собой немелкоклеточный рак легкого. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой почечно-клеточную карциному.

**[00353]** В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела 27F9 или его гуманизированной версии. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела 47C8 или антитела 48A5 или их гуманизированной версии. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела 47H6, антитела 51A1, антитела 64A12, антитела 73C4 или антитела 73D1 или их гуманизированной версии. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела Hz47H6.v2. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела Hz64A12. В некоторых вариантах осуществления способ лечения злокачественного новообразования у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела Hz73D1.v1.

**[00354]** В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложены способы активации миелоидных клеток в микроокружении опухоли. В некоторых вариантах осуществления способ активации миелоидных клеток в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ активации миелоидных клеток в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления

миелоидные клетки представляют собой первичные дендритные клетки. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой моноциты. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой макрофаги. В некоторых вариантах осуществления миелоидные клетки представляют собой APC.

**[00355]** В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложены способы активации NK-клеток в микроокружении опухоли. В некоторых вариантах осуществления способ активации NK-клеток в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ активации NK-клеток в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ активации NK-клеток в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе.

**[00356]** В некоторых вариантах осуществления в описании предложены способы активации CTL в микроокружении опухоли. В некоторых вариантах осуществления способ активации CTL в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ активации CTL в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2 агента, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ активации CTL в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью включает введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе.

**[00357]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов связывающий ILT2 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи антитела 27F9.

**[00358]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT2 агент представляет собой антитело к ILT2. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2 содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:22), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную

последовательность YISTGPI TVYYADTVKG (SEQ ID NO:23), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность ADGRGAMDY (SEQ ID NO:24), и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASQDISNFLN (SEQ ID NO:25), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность YTSRLHS (SEQ ID NO:26), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQGNTLPWT (SEQ ID NO:27). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2 содержит: (a) варибельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:125 и (b) варибельную область легкой цепи с SEQ ID NO:126. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2 представляет собой антитело 27F9. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2 представляет собой гуманизованную версию 27F9.

**[00359]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов связывающий ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи антитела 47C8.

**[00360]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT4 агент представляет собой антитело к ILT4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT4 содержит: (a) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYSFTGYMH (SEQ ID NO:38), CDR2 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RVYPNNGDTSYNQKFKV (SEQ ID NO:39), и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GATVVESLFAY (SEQ ID NO:40), и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDNYGNNFLH (SEQ ID NO:41), CDR2 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RTSNLES (SEQ ID NO:42), и CDR3 варибельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQSNEDPYT (SEQ ID NO:43). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT4 содержит: (a) варибельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:127 и (b) варибельную область легкой цепи с SEQ ID NO:128. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT4 представляет собой антитело 47C8. В некоторых вариантах осуществления

описанных в данном документе способов антитело к ILT4 представляет собой гуманизованную версию антитела 47C8.

**[00361]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов связывающий ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи антитела 48A5.

**[00362]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT4 агент представляет собой антитело к ILT4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT4 содержит: (a) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:54), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность WINTYIGEPYADDFKG (SEQ ID NO:55), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RSDYDGYAMDY (SEQ ID NO:56), и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность KSSQSLLYSGNQKNYLA (SEQ ID NO:57), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность WASTRES (SEQ ID NO:58), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQHDSYPT (SEQ ID NO:59). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT4 содержит: (a) вариательную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:129 и (b) вариательную область легкой цепи с SEQ ID NO:130. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT4 представляет собой антитело 48A5. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT4 представляет собой гуманизованную версию антитела 48A5.

**[00363]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи антитела 47H6 или антитела Hz47H6.v2.

**[00364]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело к ILT2/ILT4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую

аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) или DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GRFYYGSLYSFDY (SEQ ID NO:72), и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASGNIHNYLA (SEQ ID NO:73), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность NAKTLAD (SEQ ID NO:74), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QHFWTSIT (SEQ ID NO:75). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) вариательную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:131 и (b) вариательную область легкой цепи с SEQ ID NO:132. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном

документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:133 и (b) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:134. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) тяжелую цепь с SEQ ID NO:148 и (b) легкую цепь с SEQ ID NO:149. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело 47H6. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой гуманизованную версию антитела 47H6. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело Hz47H6.v2.

**[00365]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела 51A1 или гуманизованной версии антитела 51A1.

**[00366]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело к ILT2/ILT4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYGTMYYAMDY (SEQ ID NO:88), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:135 и (b) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:136. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело 51A1. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой гуманизованную версию антитела 51A1.

**[00367]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи антитела 64A12, гуманизированной версии антитела 64A12 или антитела Hz64A12.

**[00368]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело к ILT2/ILT4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (а) вариательную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GFTFNTYAMH (SEQ ID NO:86), CDR2 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO:87), и CDR3 вариательной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность DGIYYYYDTMYYYAMDY (SEQ ID NO:102), и (b) вариательную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFIY (SEQ ID NO:103), CDR2 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариательной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (а) вариательную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:137 и (b) вариательную область легкой цепи с SEQ ID NO:138. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (а) вариательную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:139 и (b) вариательную область легкой цепи с SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (а) тяжелую цепь с SEQ ID NO:152 и (b) легкую цепь с SEQ ID NO:153. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело 64A12. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой гуманизированную версию антитела 64A12. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело Hz64A12.

**[00369]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 вариательной области легкой цепи антитела 73C4 или гуманизированной версии антитела 73C4.

**[00370]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело к ILT2/ILT4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYMN (SEQ ID NO:70), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO:106), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (а) переменную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:141 и (b) переменную область легкой цепи с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело 73C4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой гуманизованную версию антитела 73C4.

**[00371]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент содержит CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 переменной области легкой цепи антитела 73D1, гуманизованной версии антитела 73D1 или антитела Hz73D1.v1.

**[00372]** В некоторых вариантах осуществления способа, описанного в данном документе, связывающий ILT2/ILT4 агент представляет собой антитело к ILT2/ILT4. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (а) переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность GYTFTDYYIN (SEQ ID NO:111), CDR2 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность NVNPNDDGGTTYNQKFKG (SEQ ID NO:112), и CDR3 переменной области тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность REIYFYGTIYYYAMDY (SEQ ID NO:107), и (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 переменной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность RASESVDYYGNSFMY (SEQ ID NO:89), CDR2

вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность FASNLES (SEQ ID NO:90), и CDR3 вариабельной области легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность QQNNEDPWT (SEQ ID NO:91). В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:143 и (b) вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:142. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) вариабельную область тяжелой цепи с SEQ ID NO:144 и (b) вариабельную область легкой цепи с SEQ ID NO:145. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов, антитело к ILT2/ILT4 содержит: (a) тяжелую цепь с SEQ ID NO:156 и (b) легкую цепь с SEQ ID NO:157. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело 73D1. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой гуманизованную версию антитела 73D1. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антитело к ILT2/ILT4 представляет собой антитело Hz73D1.v1.

**[00373]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, способ включает введение связывающего ILT агента (например, связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента, или связывающего ILT2/ILT4 агента), описанного в данном документе, в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим агентом или лечебной терапией. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, способ включает введение связывающего ILT2/ILT4 агента, описанного в данном документе, в комбинации по меньшей мере с одним дополнительным терапевтическим агентом или лечебной терапией. При лечении двумя или более терапевтическими агентами часто применяют агенты, которые имеют разные механизмы действия, хотя это необязательно. Комбинированная терапия с применением агентов с разными механизмами действия может привести к аддитивным или синергетическим эффектам. Комбинированная терапия может позволить применять более низкую дозу каждого агента, чем та, которая применяется в монотерапии, тем самым снижая токсичные побочные эффекты и/или повышая терапевтический индекс агента(-ов). Комбинированная терапия может снизить вероятность развития резистентности к агенту.

**[00374]** В некоторых вариантах осуществления описанных способов комбинация связывающего ILT агента (например, связывающего ILT2 агента, связывающего ILT4 агента или связывающего ILT2/ILT4 агента), описанного в данном документе, и по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента приводит к аддитивным или

синергетическим результатам. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия приводит к увеличению терапевтического индекса связывающего ИТ агента. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия приводит к повышению терапевтического индекса дополнительного(-ых) терапевтического(-их) агента(-ов). В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия приводит к снижению токсичности и/или побочных эффектов связывающего ИТ агента. В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия приводит к снижению токсичности и/или побочных эффектов дополнительного(-ых) терапевтического(-их) агента(-ов). В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия включает применение терапевтического агента, который влияет на иммунный ответ (например, усиливает или активирует ответ), и терапевтического агента, который влияет на (например, ингибирует или уничтожает) опухолевые/раковые клетки.

**[00375]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов комбинированное лечение включает один дополнительный терапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов комбинированное лечение включает по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов комбинированное лечение включает два или более дополнительных терапевтических агента.

**[00376]** Применимые классы терапевтических агентов включают, но не ограничиваются ими, например, антитубулиновые агенты, ауристатинны, вещества, связывающие малую бороздку ДНК, ингибиторы репликации ДНК, алкилирующие агенты (например, комплексы платины, такие как цисплатин, моно(платина), бис(платина) и трехядерные комплексы платины и карбоплатин), антрациклины, антибиотики, антифолаты, антиметаболиты, химиотерапевтические сенсibiliзаторы, дуокармицины, этопозиды, фторированные пиримидины, ионофоры, лекситропсины, нитрозомочевины, платинолы, пуриновые антиметаболиты, пурамицины, радиосенсибилизатор, стероиды, таксаны, ингибиторы топоизомеразы, алкалоиды барвинка и т. п. В некоторых вариантах осуществления второй терапевтический агент представляет собой алкилирующий агент, антиметаболит, антимитотическое средство, ингибитор топоизомеразы или ингибитор ангиогенеза.

**[00377]** Терапевтические агенты, которые можно вводить в комбинации со связывающими ИТ агентами, описанными в данном документе, включают химиотерапевтические агенты. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления способ или лечение включает введение связывающего ИТ агента по настоящему изобретению в сочетании с

химиотерапевтическим агентом или в комбинации с коктейлем химиотерапевтических агентов.

**[00378]** Химиотерапевтические агенты, применимые в данном изобретении, включают, помимо прочего, алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азаридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая альтретамин, триэтиленмеламин, триэтилентиофосфорамид и триметилломеламин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, мехлоретамин оксид гидрохлорид, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урациловый иприт; нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, калихеамицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин, хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфирамицин, пурамицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, циностаин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; пуриновые аналоги, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; пиримидиновые аналоги, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитозина арабинозид, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин, 5-FU; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепителиостан, тестолактон; средства, угнетающие функции надпочечников, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; наполнители фолиевой кислоты, такие как фолиевая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновую кислоту; амсакрин; бестрабуцил; бизантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эльфортнитин; эллиптиния ацетат; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK; разоксан; сизофуран; спирогерманий; тенуазоновую кислоту; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид (Ara-C); таксоиды, например, паклитаксел (TAXOL) и доцетаксел (TAXOTERE); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин; аналоги на основе

платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин С; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навелбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоптерин; ибандронат; СРТ 11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифторметилорнитин (DMFO); ретиноевую кислоту; эсперамицины; капецитабин (XELODA); и фармацевтически приемлемые соли, кислоты, или производные любых из вышеперечисленных агентов.

**[00379]** Химиотерапевтические агенты также включают антигормональные агенты, действие которых состоит в регуляции или ингибировании действия гормонов на опухоли, такие как антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, ингибирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (Фарестон); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гoserелин; и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любых из вышеперечисленных агентов.

**[00380]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов химиотерапевтический агент представляет собой ингибитор топоизомеразы. Ингибиторы топоизомеразы представляют собой химиотерапевтические агенты, действующие на фермент топоизомеразу (например, топоизомеразу I или II). Ингибиторы топоизомеразы включают, помимо прочего, доксорубицин HCl, даунорубицин цитрат, митоксантрон HCl, актиномицин D, этопозид, топотекан HCl, тенипозид (VM-26) и иринотекан, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любых из них. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой иринотекан.

**[00381]** В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтический агент представляет собой антиметаболит. Антиметаболит представляет собой химическое вещество со структурой, подобной метаболиту, необходимому для нормальных биологических реакций, но достаточно отличному, чтобы препятствовать одной или большему количеству нормальных функций клеток, таким как клеточное деление. Антиметаболиты включают, помимо прочего, гемцитабин, фторурацил, капецитабин, метотрексат натрия, ралитрексед, пеметрексед, тегафур, цитозина арабинозид, тиогуанин, 5-азацитидин, 6-меркаптопурин, азатиоприн, 6-тиогуанин, пентостатин, флударабина фосфат и кладрибин, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любых из них. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой гемцитабин.

**[00382]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов химиотерапевтический агент представляет собой антимитотический агент, включая,

помимо прочего, агенты, которые связывают тубулин. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой таксан. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой паклитаксел или доцетаксел, или фармацевтически приемлемые соль, кислоту или производное паклитаксела или доцетаксела. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения агент представляет собой паклитаксел (TAXOL), доцетаксел (TAXOTERE), альбумин-связывающий паклитаксел (nab-паклитаксел; ABRAXANE), ДНА-паклитаксел или PG-паклитаксел. В определенных альтернативных вариантах осуществления антимиотический агент содержит алкалоид барвинка, такой как винкристин, винбластин, винорелбин или виндезин, или фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные. В некоторых вариантах осуществления антимиотический агент представляет собой ингибитор кинезина Eg5 или ингибитор митотической киназы, такой как Аугоа А или Plkl. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой паклитаксел. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой наб-паклитаксел.

**[00383]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов дополнительный терапевтический агент включает такой агент, как малая молекула. Например, лечение может включать комбинированное введение связывающего ИЛТ агента по настоящему изобретению с небольшой молекулой, которая действует как ингибитор опухоль-ассоциированных антигенов, включая, но не ограничиваясь ими, EGFR, HER2 (ErbB2) и/или VEGF. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент (например, антитело к ИЛТ2, антитело к ИЛТ4 или антитело к ИЛТ2/ИЛТ4) по настоящему изобретению вводят в комбинации с ингибитором протеинкиназы, выбранным из группы, состоящей из: гефитиниба (IRESSA), эрлотиниба (TARCEVA), сунитиниба (SUTENT), лапатаниба, вандетаниба (ZACTIMA), AEE788, CI-1033, цедираниба (RECENTIN), сорафениба (NEXAVAR) и пазопаниба (GW786034B). В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент включает ингибитор mTOR.

**[00384]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов дополнительный терапевтический агент включает биологическую молекулу, такую как антитело. Например, лечение может включать комбинированное введение связывающего ИЛТ агента по настоящему изобретению с антителами против опухоль-ассоциированных антигенов, включая, но не ограничиваясь ими, антитела, которые связывают EGFR, HER2/ErbB2 и/или VEGF.

**[00385]** В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело, которое является ингибитором ангиогенеза (например,

антитело к VEGF или рецептору VEGF). В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой бевацизумаб (AVASTIN), рамуцирумаб, трастузумаб (HERCEPTIN), пертузумаб (OMNITARG), панитумумаб (VECTIBIX), нимотузумаб, залутумумаб или цетуксимаб (ERBITUX).

**[00386]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов дополнительный терапевтический агент представляет собой иммунотерапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов иммунотерапевтический агент выбран из группы, состоящей из: модулятора активности PD-1, модулятора активности PD-L1, модулятора активности PD-L2, модулятора активности CTLA-4, модулятора активности CD28, модулятора активности CD80, модулятора активности CD86, модулятора активности 4-1BB, модулятора активности OX40, модулятора активности KIR, модулятора активности Tim-3, модулятора активности LAG3, модулятора активности CD27, модулятора активности CD40, модулятора активности GITR, модулятора активности TIGIT, модулятора активности CD20, модулятора активности CD96, модулятора активности IDO1,

**[00387]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов иммунотерапевтический агент выбран из группы, состоящей из: антагониста PD-1, антагониста PD-L1, антагониста PD-L2., антагониста CTLA-4, антагониста CD80, антагониста CD86, антагониста KIR, антагониста Tim-3, антагониста LAG3, антагониста TIGIT, антагониста CD20, антагониста CD96 и/или антагониста IDO1.

**[00388]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело к PD-1, антитело к PD-L1, антитело к PD-L2, антитело к CTLA-4 или антитело к TIGIT, антитело к CD28, антитело к CD80, антитело к CD86, антитело к 4-1BB, антитело к OX40, антитело к KIR, антитело к Tim-3, антитело к LAG3, антитело к CD27, антитело к CD40, антитело к GITR, антитело к TIGIT, антитело к CD20, антитело к CD96 или антитело к IDO1. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой антитело к HLA-G. В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент представляет собой лиганд B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), 4-1BB или антитело к CD3.

**[00389]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов антагонист PD-1 представляет собой антитело, которое специфически связывает PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает PD-1 представляет собой пембролизумаб (MK-3475; KEYTRUDA), пидилизумаб (CT-011), ниволумаб (OPDIVO),

дурвалумаб (MEDI0680), цемиплимаб (REGN2810), тислелизумаб (BGB-A317), спартализумаб (PDR-001) или STI-A1110. Иллюстративные антитела к PD-1 представлены, например, в патентах США №№ US10316089, US9580504, US9856320, US8609089 и US8952136; содержание всех из них полностью включено в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает PD-1, описано в публикации PCT WO 2014/179664, например, антитело, идентифицируемое как APE2058, APE1922, APE1923, APE1924, APE 1950 или APE1963, или антитело, содержащее области CDR любого из этих антител. В других вариантах осуществления антагонист PD-1 представляет собой слитый белок, который содержит PD-L2, например, AMP-224. В других вариантах осуществления антагонист PD-1 представляет собой пептидный ингибитор, например, AU P-12.

**[00390]** В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-L1 представляет собой антитело, которое специфически связывает PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает PD-L1, представляет собой атезолизумаб (TECENTRIQ), MEDI4736, BMS-936559 (MDX-1105), авелумаб (BAVENCIO), дурвалумаб (IMFINZI), KD033, часть антитела KD033 или STI-A1014. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает PD-L1, описано в публикации PCT WO 2014/055897, например, Ab-14, Ab-16, Ab-30, Ab-31, Ab-42, Ab-50, Ab-52, или Ab-55, или антитело, которое содержит области CDR любого из этих антител.

**[00391]** В некоторых вариантах осуществления антагонист CTLA-4 представляет собой антитело, которое специфически связывает CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает CTLA-4, представляет собой ипилимумаб (YERVOY) или тремелидумаб (CP-675,206). В некоторых вариантах осуществления антагонист CTLA-4 представляет собой слитый белок CTLA-4, например, KHR-102.

**[00392]** В некоторых вариантах осуществления антагонист LAG3 представляет собой антитело, которое специфически связывает LAG3. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает LAG3, представляет собой IMP701, IMP731, BMS-986016, LAG525 и GSK2831781. В некоторых вариантах осуществления антагонист LAG3 включает растворимый рецептор LAG3, например, IMP321.

**[00393]** В некоторых вариантах осуществления антагонист KIR представляет собой антитело, которое специфически связывает KIR. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает KIR представляет собой лирилумаб.

**[00394]** В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент выбран из группы, состоящей из: агониста CD28, агониста 4-1BB, агониста OX40, агониста CD27, агониста CD80, агониста CD86, агониста CD40 и агониста GITR.

**[00395]** В некоторых вариантах осуществления агонист OX40 включает лиганд OX40 или его OX40-связывающую часть. Например, агонист OX40 может представлять собой MEDI6383. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения агонист OX40 представляет собой антитело, которое специфически связывает OX40. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает OX40, представляет собой MEDI6469, MEDI0562, PF-8600, или MOXR0916 (RG7888). В некоторых вариантах осуществления агонист OX40 представляет собой вектор (например, вектор экспрессии или вирус, такой как аденовирус), способный экспрессировать лиганд OX40. В некоторых вариантах осуществления экспрессирующий OX40 вектор представляет собой дельта-24 - RGDOX или DNX2401.

**[00396]** В некоторых вариантах осуществления агонист 4-1BB (CD137) представляет собой связывающую молекулу, такую как антикалин. В некоторых вариантах осуществления антикалин представляет собой PRS-343. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения агонист 4-1BB представляет собой антитело, которое специфически связывает 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает 4-1BB, представляет собой утомилумаб (PF-05082566) или урелумаб (BMS-663513).

**[00397]** В некоторых вариантах осуществления данного изобретения агонист CD27 представляет собой антитело, которое специфически связывает CD27. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает CD27, представляет собой варлилумаб (CDX-1127).

**[00398]** В некоторых вариантах осуществления агонист GITR содержит лиганд GITR или его связывающую GITR часть. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения агонист GITR представляет собой антитело, которое специфически связывает GITR. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое связывает GITR, представляет собой TRX518, МК-4166 или INBRX-110.

**[00399]** В некоторых вариантах осуществления описанных в данном документе способов дополнительный терапевтический агент представляет собой биологическую молекулу, такую как цитокин, хемокин, фактор роста, интерферон, интерлейкин, лимфокин, член семейства фактора некроза опухоли (TNF) и иммуностимулирующий олигонуклеотид (например, CpG-динуклеотиды). В некоторых вариантах осуществления биологическая молекула выбрана из группы, состоящей из: аденомедуллина (AM), ангиопоэтина (Ang), BMP, BDNF, EGF, эритропоэтина (EPO), FGF, GDNF, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF), макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), GDF9, HGF, HDGF, IGF, миграционно-стимулирующего фактора, миостатина (GDF-8), NGF,

нейротрофинов, PDGF, тромбопоэтина, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , VEGF, PIGF, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12, IL-15, и IL-18.

**[00400]** Кроме того, лечение связывающим ИЛТ агентом (например, связывающим ИЛТ2 агентом, связывающим ИЛТ4 агентом, или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом), описанным в данном документе, может сопровождаться хирургическим удалением опухолей, удалением раковых клеток или любой другой терапией, которую лечащий врач сочтет необходимой.

**[00401]** В некоторых вариантах осуществления лечение связывающим ИЛТ агентом (например, связывающим ИЛТ2 агентом, связывающим ИЛТ4 агентом, или связывающим ИЛТ2/ИЛТ4 агентом) можно проводить до, одновременно с или после введения дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления комбинированное введение включает совместное введение либо в одном фармацевтическом составе, либо с использованием отдельных составов, либо последовательное введение в любом порядке, но, как обычно, в течение периода времени, когда все активные агенты могут проявлять свою биологическую активность. В некоторых вариантах осуществления получение агентов и/или схемы дозирования дополнительных терапевтических агентов осуществляются в соответствии с инструкциями производителей или определены эмпирическим путем квалифицированным практикующим врачом.

**[00402]** В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, связывающий ИЛТ агент (например, связывающий ИЛТ2 агент, связывающий ИЛТ4 агент, или связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент) вводят субъекту в виде части комбинированной терапии.

**[00403]** Следует понимать, что комбинация связывающего ИЛТ агента (например, связывающего ИЛТ2 агента, связывающего ИЛТ4 агента или связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента), описанного в данном документе, и по меньшей мере одного дополнительного терапевтического агента может быть введена в любом порядке или одновременно. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент вводят субъектам, которые ранее подвергались лечению терапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент и второй терапевтический агент вводят по существу одновременно или параллельно. Например, субъекту можно давать связывающий ИЛТ агент во время прохождения курса лечения вторым терапевтическим агентом (например, химиотерапевтическим агентом). В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент вводят в течение 1 года после лечения вторым терапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент вводят в течение 10, 8, 6, 4 или 2 месяцев после любого лечения вторым терапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент вводят в течение 4, 3, 2 или 1 недели после любого лечения вторым терапевтическим агентом. В некоторых вариантах

осуществления связывающий ИЛТ агент вводят в течение 5, 4, 3, 2 или 1 дня после любого лечения вторым терапевтическим агентом. Также очевидно, что два (или большее количество) агента или варианта лечения можно вводить субъекту в течение нескольких часов или минут (т. е. по существу одновременно).

**[00404]** Для лечения заболевания подходящая доза связывающего ИЛТ агента (например, связывающего ИЛТ2 агента, связывающего ИЛТ4 агента, или связывающего ИЛТ2/ИЛТ4 агента) по настоящему изобретению зависит от подлежащего лечению расстройства или заболевания, степени тяжести и течения расстройства или заболевания, восприимчивости расстройства или заболевания, независимо от того, вводят ли агент в терапевтических или профилактических целях, предшествующей терапии, анамнеза пациента и т.д. Связывающий ИЛТ агент можно вводить однократно или в течение серии обработок, продолжающихся от нескольких дней до нескольких месяцев, или до тех пор, пока не будет достигнуто излечение или не будет достигнуто уменьшение степени заболевания.

**[00405]** Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим связывающий ИЛТ агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим связывающий ИЛТ2 агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим связывающий ИЛТ4 агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

**[00406]** Составы готовят для хранения и применения путем объединения очищенного антитела или агента по настоящему изобретению с фармацевтически приемлемым носителем (например, носителем или эксципиентом). В общем случае специалисты в данной области техники считают фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты и/или стабилизаторы неактивными ингредиентами состава или фармацевтической композиции.

**[00407]** Подходящие фармацевтически приемлемые носители включают, помимо прочего, нетоксичные буферы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; соли, такие как хлорид натрия; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты, такие как октадецилдиметилбензиламмония хлорид, гексаметония хлорид, бензалкония хлорид, бензетония хлорид, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехин, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол; низкомолекулярные полипептиды (например, менее чем около 10

аминокислотных остатков); белки, такие как сывороточный альбумин или желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; углеводы, такие как моносахариды, дисахариды, глюкоза, манноза или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы с металлами, такие как Zn-белковые комплексы; и неионные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN или полиэтиленгликоль. (*Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22<sup>nd</sup> Edition, 2012, Pharmaceutical Press, London.*). В некоторых вариантах осуществления состав находится в форме водного раствора. В некоторых вариантах осуществления состав хранится в лиофилизированной или альтернативно высушенной форме.

**[00408]** Связывающие ИЛТ агенты по настоящему изобретению могут быть приготовлены в любой подходящей форме для доставки в клетку/ткань-мишень. В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент (например, связывающий ИЛТ2 агент, связывающий ИЛТ4 агент или связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент) может быть приготовлен в виде липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, альбуминовой микросферы, микроэмульсии, наночастицы, нанокапсулы или макроэмульсии.

**[00409]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент (например, связывающий ИЛТ2 агент, связывающий ИЛТ4 агент, или связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент) составляют с липосомами. Способы получения липосом известны специалистам в данной области техники. Например, некоторые липосомы могут быть получены путем обращенно-фазового выпаривания с липидной композицией, содержащей фосфатидилхолин, холестерин и PEG-derivatизированный фосфатидилэтаноламин (PEG-PE).

**[00410]** В некоторых вариантах осуществления связывающий ИЛТ агент (например, связывающий ИЛТ2 агент, связывающий ИЛТ4 агент или связывающий ИЛТ2/ИЛТ4 агент) составляют в виде препарата с замедленным высвобождением. Пригодные примеры препаратов с замедленным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие агент, при этом матрицы находятся в виде формованных изделий (например, пленок или микрокапсул). Матрицы с замедленным высвобождением включают, помимо прочего, полиэфиры, гидрогели, такие как поли(2-гидроксиэтилметакрилат) или поли(виниловый спирт), полилактиды, сополимеры L-глутаминовой кислоты и 7-этил-L-глутамата, неразлагаемый этиленвинилацетат, разлагаемые сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPOT™ (инъекционные микросферы, состоящие из сополимера молочной кислоты и

гликолевой кислоты и ацетата лейпролида), ацетат сахарозы, изобутират и поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту.

**[00411]** Фармацевтические композиции или составы по настоящему изобретению можно вводить любым количеством способов либо для местного, либо для системного лечения. Введение может быть местным с помощью эпидермальных или трансдермальных пластырей, мазей, лосьонов, кремов, гелей, капель, суппозитория, спреев, жидкостей и порошков; легочным путем вдыхания или инсуффляции порошков или аэрозолей, в том числе с помощью небулайзера, интратрахеально и интраназально; пероральным; или парентеральным, включая внутривенное, внутриартериальное, внутриопухолевое, подкожное, внутрибрюшинное, внутримышечное (например, путем инъекции или инфузии) или внутричерепное (например, интратекальное или интравентрикулярное).

## ПРИМЕРЫ

### Пример 1

Получение антител и скрининг антител

**[00412]** Антитела к ILT были получены с использованием внеклеточного домена ILT2 человека, внеклеточного домена ILT4 человека и/или внеклеточного домена ILT2 макака-резуса в качестве иммуногена. Например, антитела к ILT2 были получены с использованием внеклеточного домена ILT2 человека. Аналогично, антитела к ILT4 были получены с использованием внеклеточного домена ILT4 человека. Антитела к ILT2/ILT4 были получены с использованием смеси внеклеточного домена ILT2 человека, внеклеточного домена ILT4 человека и внеклеточного домена ILT2 макака-резуса. Суспензии отдельных клеток лимфоцитов получали из селезенки и лимфатических узлов иммунизированных мышей после того, как у отдельных животных определяли наличие подходящих титров антител. Лимфоциты сливали с клетками мышинной миеломы стандартными методами. Слитые гибридомы высевали на полутвердую среду для селекции НАТ. Через 5-7 дней отдельные колонии отбирали с помощью системы ClonePix™ и высевали в 96-луночные планшеты.

**[00413]** Анализы методом ELISA использовали для скрининга антител к ILT2 человека, ILT4 человека и ILT2 макака-резуса. Отбирали антитела, которые связывались только с ILT2 человека, только ILT4 человека или ILT2 человека, ILT4 человека и ILT2 макака-резуса.

### Пример 2

Синтения между генами ILT2 и ILT4 человека и яванского макака

**[00414]** У грызунов парные Ig-подобные рецепторы B (PirB) и gp49B1 были описаны как потенциальные ортологи семейства рецепторов LILRB человека (Kang X, et al. *Cell Cycle*. (2016);15(1):25-40). Однако PirB и gp49B1 обладают менее чем 50% идентичности с ILT2 и ILT4 человека. Кроме того, существуют заметные различия в спаривании рецептор/лиганд среди членов семейства LILRB грызунов и человека, а биологическая функция рецепторов грызунов неясна. Таким образом, грызуны не считаются подходящими видами для проверки биологических эффектов антител к ИЛТ.

**[00415]** Анализ геномной структуры (синтения) использовали для идентификации кандидатов-ортологов как ILT2 человека, так и ILT4 человека у яванского макака. Геномную организацию локуса, содержащего членов семейства LILR, у человека (hg38) и яванского макака (*Macaca fascicularis* v5.0.95, «супо») сравнивали с использованием аннотаций генов, представленных в Ensembl. В тех случаях, когда аннотации не были обнаружены, использовали анализ промежуточной последовательности ручным способом, чтобы подтвердить отсутствие открытой рамки считывания. Предсказанную белковую последовательность генов яванского макака без предварительно аннотированных символов генов сравнивали со всеми человеческими генами с использованием инструментов blastp на UniProt, чтобы найти наиболее вероятный человеческий ортолог на основе оценки идентичности.

**[00416]** Было обнаружено, что в геномной организации яванского макака отсутствует ген в том же месте генома, что и у человека LILRB2 (ILT4), но сохраняется ген в том же месте, что и у человека LILRB1 (ILT2). Подобная организация наблюдалась у макака-резуса. Идентичность последовательности между ILT2 человека, ILT4 человека и ILT2 яванского макака колеблется от 73% до 80%. Идентичность последовательностей между ILT2 человека и ILT2 яванского макака составляет 73%, тогда как идентичность последовательностей между ILT4 человека и ILT2 яванского макака составляет 78%. Для сравнения, идентичность последовательностей между ILT2 человека и ILT4 человека составляет 80%.

### Пример 3

Характеристики связывания антител к ILT2, ILT4 и ILT2/ILT4 человека

**[00417]** Аффинность связывания антител к ILT2 и к ILT4 антител измеряли с использованием системы Biacore (GE Healthcare LifeSciences). Измерения константы равновесной диссоциации ( $K_D$ ) проводили с очищенными антителами для оценки их связывания с ILT2 человека, ILT4 человека и ILT2 макака-резуса. Вкратце, очищенное

антитело к ILT2 27F9, антитела к ILT4 47C8 и 48A5, и антитела к ILT2/ILT4 47H6, 51A1, 64A12, 73C4 и 73D1 захватывают на сенсорном чипе с белком А (GE HealthCare). Поверхность сенсорного чипа с белком А Biacore состоит из матрицы карбоксиметилированного декстрана с ковалентно присоединенным рекомбинантным вариантом белка А. Растворимый ILT2-ВКД человека, ILT4-ВКД человека или ILT2-ВКД макака-резуса вводили со скоростью потока 30 мкл/мин при 25°C. Белки ILT2 или ILT4 использовали в концентрациях от 1,6 до 200 нМ в буфере PBS-P с 2-кратными разведениями. Кинетические данные получали с течением времени и аппроксимировали с использованием уравнения для одновременной глобальной аппроксимации для получения констант аффинности (значения  $K_D$ ) для каждого антитела.

**[00418]** Данные связывания показаны в таблице 9А и 9В.

Таблица 9А

Антитело	ILT2 человека			ILT4 человека		
	$K_{on}$ [1/М*с]	$K_{off}$ [s <sup>-1</sup> ]	$K_D$ М	$K_{on}$ [1/М*с]	$K_{off}$ [s <sup>-1</sup> ]	$K_D$ М
27F9	2,1 x 10 <sup>5</sup>	5,4 x 10 <sup>-5</sup>	2,6 x 10 <sup>-10</sup>	н/с	н/с	н/с
47C8	н/с	н/с	н/с	3,4 x 10 <sup>5</sup>	2,5 x 10 <sup>-5</sup>	7,4 x 10 <sup>-11</sup>
48A5	н/с	н/с	н/с	8,1 x 10 <sup>5</sup>	2,1 x 10 <sup>-5</sup>	2,6 x 10 <sup>-11</sup>
47H6	4,2 x 10 <sup>4</sup>	8,6 x 10 <sup>-5</sup>	2,1 x 10 <sup>-9</sup>	3,7 x 10 <sup>4</sup>	2,8 x 10 <sup>-5</sup>	7,6 x 10 <sup>-10</sup>
51A1	3,9 x 10 <sup>4</sup>	2,2 x 10 <sup>-4</sup>	5,8 x 10 <sup>-9</sup>	6,8 x 10 <sup>4</sup>	1,4 x 10 <sup>-5</sup>	2,0 x 10 <sup>-10</sup>
64A12 <sup>1</sup>	2,0 x 10 <sup>4</sup>	~1,0 x 10 <sup>-5</sup>	< 1,0 x 10 <sup>-10</sup>	8,2 x 10 <sup>4</sup>	~1,0 x 10 <sup>-5</sup>	< 1,0 x 10 <sup>-10</sup>
73C4 <sup>1</sup>	3,1 x 10 <sup>4</sup>	~1,0 x 10 <sup>-5</sup>	< 1,0 x 10 <sup>-10</sup>	9,7 x 10 <sup>4</sup>	~1,0 x 10 <sup>-5</sup>	< 1,0 x 10 <sup>-10</sup>
73D1	5,0 x 10 <sup>4</sup>	6,0 x 10 <sup>-5</sup>	1,2 x 10 <sup>-9</sup>	3,0 x 10 <sup>5</sup>	5,4 x 10 <sup>-5</sup>	1,8 x 10 <sup>-10</sup>

1 - Анализ связывания проводили с параметрами низкого разрешения

Таблица 9В

	ILT2 макака-резуса		
Антитело	$K_{on}$ [1/M*с]	$K_{off}$ [s <sup>-1</sup> ]	$K_D$ M
27F9	н/с	н/с	н/с
47C8	$5,9 \times 10^5$	$1,4 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-9}$
48A5	$1,1 \times 10^6$	$2,6 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-9}$
47H6 <sup>1</sup>	$4,7 \times 10^4$	$\sim 1 \times 10^{-5}$	$< 1,0 \times 10^{-10}$
51A1	$1,0 \times 10^5$	$2,1 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-10}$
64A12 <sup>1</sup>	$2,0 \times 10^4$	$\sim 1,0 \times 10^{-5}$	$< 1,0 \times 10^{-10}$
73C4 <sup>1</sup>	$3,1 \times 10^4$	$\sim 1,0 \times 10^{-5}$	$< 1,0 \times 10^{-10}$
73D1	$5,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^{-5}$	$1,2 \times 10^{-9}$

1 - Анализ связывания/ проводили с параметрами низкого разрешения

#### Пример 4

Анализ последовательности антител к ILT2, ILT4 и ILT2/ILT4

**[00419]** Репрезентативное антитело к ILT2 27F9, антитела к ILT4 47C8 и 48A5 и антитела к ILT2/ILT4 47H6, 51A1, 64A12, 73C4 и 73D1 были секвенированы, а аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи и варибельной области легкой цепи описаны в данном документе и приведены в таблице 10.

Таблица 10

Антитело	Мишень	Варибельная область тяжелой цепи	Варибельная область легкой цепи
27F9	ILT2	SEQ ID NO:125	SEQ ID NO:126
47C8	ILT4	SEQ ID NO:127	SEQ ID NO:128
48A5	ILT4	SEQ ID NO:129	SEQ ID NO:130
47H6	ILT2/ILT4	SEQ ID NO:131	SEQ ID NO:132
51A1	ILT2/ILT4	SEQ ID NO:135	SEQ ID NO:136
64A12	ILT2/ILT4	SEQ ID NO:137	SEQ ID NO:138
73C4	ILT2/ILT4	SEQ ID NO:141	SEQ ID NO:142
73D1	ILT2/ILT4	SEQ ID NO:143	SEQ ID NO:142

[00420] CDR переменных областей тяжелой и легкой цепей для отдельных антител описаны в таблицах 1-8 и в виде SEQ ID NO:22-124.

### Пример 5

Получение гуманизованных антител

[00421] Некоторые из антител к ILT2/ILT4, т.е. 47H6, 64A12 и 73D1, гуманизовали способами, известными специалистам в данной области техники. Эти гуманизованные антитела обозначаются в данном документе как Hz47H6.v2, Hz64A12 и Hz73D1.v1, соответственно. В процессе гуманизации антитела 47H6 CDR2 переменной области тяжелой цепи был изменен с DFNPNGGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:71) на DFNPNNAGTTYNQKFEG (SEQ ID NO:118). Последовательность переменной области тяжелой цепи Hz47H6.v2 представляет собой SEQ ID NO:133, а последовательность переменной области легкой цепи Hz47H6.v2 представляет собой SEQ ID NO:134; последовательность переменной области тяжелой цепи Hz64A12 представляет собой SEQ ID NO:139, а последовательность переменной области легкой цепи Hz64A12 представляет собой SEQ ID NO:140; и последовательность переменной области тяжелой цепи Hz73D1.v1 представляет собой SEQ ID NO:144, а последовательность переменной области легкой цепи Hz73D1.v1 представляет собой SEQ ID NO:145.

[00422] Аффинность связывания гуманизованных антител с ILT2 и ILT4 человека измеряли с использованием системы Biacore, как описано в данном документе. Аффинности связывания антител Hz47H6.v2, Hz64A12 и Hz73D1.v1 показаны в таблице 11 по сравнению с исходными антителами.

Таблица 11

Антитело	ILT2 человека			ILT4 человека		
	$K_{on}$ [1/M*с]	$K_{off}$ [с <sup>-1</sup> ]	$K_D$ M	$K_{on}$ [1/M*с]	$K_{off}$ [с <sup>-1</sup> ]	$K_D$ M
47H6	$1,0 \times 10^5$	$2,1 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-10}$	$1,0 \times 10^5$	$2,1 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-10}$
Hz47H6.v2	$2,3 \times 10^5$	$9,0 \times 10^{-4}$	$4,0 \times 10^{-9}$	$8,7 \times 10^4$	$1,8 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-9}$
64A12 <sup>1</sup>	$2,0 \times 10^4$	$\sim 1,0 \times 10^{-5}$	$< 1,0 \times 10^{-10}$	$8,2 \times 10^4$	$\sim 1,0 \times 10^{-5}$	$< 1,0 \times 10^{-10}$
Hz64A12 <sup>1</sup>	$9,3 \times 10^4$	$1,4 \times 10^{-4}$	$1,6 \times 10^{-9}$	$3,0 \times 10^5$	$\sim 1,0 \times 10^{-5}$	$< 1 \times 10^{-10}$
73D1	$1,5 \times 10^5$	$2,4 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-9}$	$4,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^{-5}$	$7,4 \times 10^{-10}$
Hz73D1.v1	$8,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-9}$	$3,6 \times 10^5$	$2,7 \times 10^{-4}$	$7,5 \times 10^{-10}$

1 - Анализ связывания проводили с параметрами низкого разрешения

**[00423]** Эти результаты показали, что процесс гуманизации иллюстративных антител к ИЛТ2/ИЛТ4 не оказывал значительного влияния на способность антител связываться с ИЛТ2 или ИЛТ4 человека.

**[00424]** Также была проанализирована перекрестная реактивность гуманизованных антител к ИЛТ2/ИЛТ4 с ИЛТ2 яванского макака («супо», *Macaca fascicularis*). Подобно антителам к ИЛТ2/ИЛТ4, гуманизованные антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 связываются с ИЛТ2 яванского макака. Аффинности связывания иллюстративного клона Hz73D1.v1, измеренные с помощью системы Вiasoge, показаны в таблице 12. В системе Вiasoge гуманизованное антитело к ИЛТ2/ИЛТ4 было захвачено на чипе с белком А. Белки ИЛТ вводили в различных концентрациях в проточные ячейки для оценки кинетических параметров при 25°C. Было определено, что аффинность связывания ( $K_D$ ) Hz73D1.v1 с ИЛТ2 и ИЛТ4 человека составляет 1,03 и 0,205 нМ, соответственно. Было определено, что  $K_D$  Hz73D1.v1 по отношению к ИЛТ2 яванского макака составляет 19,1 нМ.

Таблица 12

Виды ИЛТ	$K_D$ (нМ)	$k_{on}$ (1/М*с)	$k_{off}$ (1/с)
ИЛТ2 человека	1,03	$4,72 \times 10^4$	$4,85 \times 10^{-5}$
ИЛТ4 человека	0,205	$2,2 \times 10^5$	$4,6 \times 10^{-5}$
ИЛТ2 яванского макака	19,1	$3,4 \times 10^6$	0,06

#### Пример 6

Экспрессия ИЛТ2 и ИЛТ4 в субпопуляциях иммунных клеток

**[00425]** Экспрессия ИЛТ2 и ИЛТ4 была определена на различных клетках гемопоэтического происхождения, включая миелоидные клетки, гранулоциты и лимфоциты (Colonna M et al. *JExp Med.* (1997) Dec 1; 186(11): 1809–1818; Colonna M et al., *J Immunol* (1998), 160(7): 3096-3100). Описанные в данном документе антитела к ИЛТ использовали для дальнейшего исследования экспрессии ИЛТ2 и ИЛТ4 в субпопуляциях иммунных клеток человека и яванского макака.

**[00426]** Анализ иммунных клеток крови методом проточной цитометрии проводили на РВМС человека и яванского макака и цельной крови. РВМС готовили из лейкопака (Allcells

Inc.) путем центрифугирования на фиколле, промывания PBS и замораживания в буфере для криоконсервации в жидком азоте до применения. Цельная кровь (Allcells Inc.) была получена свежей, а эритроциты (ККТ) обедняли с использованием раствора хлорида аммония для лизиса эритроцитов (Biolegend). Образцы PBMC или цельной крови окрашивали панелью антител с флуоресцентной меткой для выделения различных субпопуляций иммунных клеток (моноциты, В-клетки, НК-клетки, CD4+ и CD8+ Т-клетки, нейтрофилы и эозинофилы). Образцы дополнительно окрашивали флуоресцентно меченными изотипами 27F9 (специфично для ILT2), 48A5 (специфично для ILT4), 73D1 и Hz73D1.v1. Количество молекул ILT2 и ILT4 на клетку каждой субпопуляции иммунных клеток оценивали путем инкубации с микросферами Quantum Simply Cellular с последующим анализом методом проточной цитометрии.

**[00427]** Как показано в таблице 13 и на Фиг. 1, высокая экспрессия ILT2 наблюдалась на моноцитах, В-клетках, в субпопуляции НК-клеток (5-20% от общего числа НК-клеток) и субпопуляции CD8+ Т-клеток (5-20% от общего числа CD8+ Т-клеток). Высокая экспрессия ILT4 наблюдалась на моноцитах, эозинофилах и нейтрофилах. Результаты показали, что периферические иммунные клетки яванского макака экспрессируют белок ILT2 с уровнем экспрессии и распределением иммунных клеток, сравнимым с комбинацией ILT2 и ILT4 в периферической крови человека.

Таблица 13

Антиген	Моноцит	Нейтрофил	В-клетка	НК-клетка (субпопуляция)	CD8 Т-клетка (субпопуляция)
ILT2 человека	$5,0 \times 10^4$	0	$2,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^3$	$5,5 \times 10^3$
ILT4 человека	$5,0 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	0	0	0
ILT2 яванского макака	$1,3 \times 10^5$	$5,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^3$	$8,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$

#### Пример 7

Ингибирование взаимодействия между ILT2 или ILT4 и молекулами МНС I с помощью антител к ИЛТ

**[00428]** В рамках процесса определения характеристик способность иллюстративных антител ингибировать или блокировать взаимодействие ILT2 или ILT4 с их природными лигандами оценивали в экспериментах по конкурентному связыванию с использованием

системы Bioscore. Как описано в данном документе, природные лиганды ILT2 и ILT4 включают, но не ограничиваются ими, молекулы HLA класса I, включая HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E и HLA-G. Биотинилированный HLA-A\*1101 был захвачен в больших количествах на поверхности чипа с нейтравидином. Комплексы антиген-антитело получали с (i) ILT2-ВКД и антителом к ILT2 27F9, антителом к ILT4 48A5 или антителом к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 и (ii) ILT4-ВКД и антителом к ILT2 27F9, антителом к ILT4 48A5 или антителом к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1. Концентрацию каждого антитела титровали от 0,09 до 100 нМ, а концентрацию человеческого ILT2-ВКД или ILT4-ВКД поддерживали постоянной на уровне 20 нМ. Комплексы смешивали в 96-луночном микропланшете и каждый инъецировали на поверхность чипа, покрытого HLA-A. Измеренный сигнал (единица ответа, RU) наносили на график в зависимости от концентрации антител.

**[00429]** Результаты проиллюстрированы на Фигуре 2. Уменьшение связывания ILT2 с HLA-A наблюдалось при увеличении концентрации антитела к ILT2 27F9 и антитела к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 дозозависимым образом. Напротив, антитело к ILT4 48A5 не влияло на связывание ILT2 с HLA-A. Аналогичным образом, снижение связывания ILT4 с HLA-A наблюдалось при повышении концентрации антитела к ILT4 48A5 и антитела к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1, при этом антитело к ILT2 27F9 не оказывало никакого эффекта. Было отмечено, что антитела ингибируют взаимодействие при IC50 в наномолярном диапазоне. Другая серия экспериментов была проведена с использованием поверхности чипа, покрытого HLA-G, с аналогичными результатами.

**[00430]** Эти данные демонстрируют, что антитела к ILT2 и антитела к ILT2/ILT4, описанные в данном документе, ингибируют взаимодействия между ILT2 и его природными лигандами. Кроме того, антитела к ILT4 и антитела к ILT2/ILT4, описанные в данном документе, ингибируют взаимодействия между ILT4 и его природными лигандами. Важно отметить, что этот эксперимент также показал, что антитело к ILT2/ILT4 не только связывалось с обеими мишенями, то есть ILT2 и ILT4, но и было биологически функциональным в блокировании взаимодействия обеих мишеней с их лигандами. Эти результаты демонстрируют, что антитела к ILT2/ILT4 могут быть потенциальными терапевтическими средствами для блокирования индуцируемой ILT2 и ILT4 супрессии иммунных ответов.

## Пример 8

Связывание антител к ILT2/ILT4 с клетками

**[00431]** Оценивали связывание антител к ILT2/ILT4 с моноцитами. Связывание иллюстративного антитела ILT2/ILT4 73D1 и его гуманизированной версии Hz73D1.v1 с

популяцией CD14<sup>+</sup> моноцитов из PBMC человека и яванского макака определяли анализом методом проточной цитометрии. Вкратце, PBMC человека или яванского макака (от 2 доноров от каждого) оттаивали, промывали в среде (RPMI, 10% FBS, L-глутамин, пенициллин/стрептомицин) и ресуспендировали в свежей среде. PBMC окрашивали смесью меченых антител для дифференцировки различных типов клеток.  $1 \times 10^6$  клеток/лунка окрашивали флуоресцентно мечеными антителами 73D1 или Hz73D1.v1 и инкубировали на льду. Клетки промывали охлажденными льдом реагентами и сразу же анализировали с помощью проточной цитометрии. Для каждого образца рассчитывали среднюю геометрическую интенсивность флуоресценции CD14<sup>+</sup> моноцитов. Как показано на Фиг. 3, увеличение флуоресценции наблюдалось при повышении концентрации антител 73D1 и Hz73D1.v1 как в клетках человека, так и в клетках яванского макака. Кроме того, связывание антител с клетками человека и яванскими макаками было сопоставимо. Например, 50% эффективной концентрации (EC<sub>50</sub>) Hz73D1.v1 составляла 8,8 нМ для моноцитов человека и 1,8 нМ для моноцитов яванского макака. Клетки, окрашенные контрольным антителом, не показали изменений во флуоресценции. Эти результаты демонстрируют, что антитела к ILT2/ILT4 распознают ILT2 и/или ILT4 на интактных клетках, то есть на первичных моноцитах. Важно отметить, что эти результаты демонстрируют сопоставимое связывание как с моноцитами человека, так и с моноцитами яванского макака, что позволяет предположить, что обезьяны будут подходящей моделью для будущих исследований. Кроме того, не наблюдалось связывания антител к ILT2/ILT4, описанных в данном документе, с моноцитами и другими иммунными клетками крыс и мышей, что подтверждает, что грызуны не являются подходящими видами для доклинических испытаний.

**[00432]** Помимо связывания с ILT2 и ILT4, антитела к ILT2/ILT4 проявляют перекрестную реактивность с LILRA1, но не с ILLRB3, ILLRB4, ILLRB5, ILLRA2, ILLRA4, ILLRA5, и ILLRA6. Связывание антител к ILT2/ILT4 с членами семейства ILT оценивали с помощью сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS) с использованием клеток 293T, экспрессирующих ILT2, ILT4, ILRA1, ILLRB3, ILLRB4, ILLRB5, ILLRA2, ILLRA4, ILLRA5 и ILLRA6 человека и яванского макака соответственно. Показано, что аффинность связывания иллюстративного антитела к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 с ILT2 человека, ILT4 человека, LILRA1 человека и LILRA1 человека, экспрессированными на клетках 293T, и измеренная с помощью проточной цитометрии, составляет 1,2 нМ, 1,4 нМ, 2,64 нМ и 1,97 нМ, соответственно.

Ингибирование взаимодействия между ILT2 или ILT4 и молекулами МНС I с помощью антител к ILT

**[00433]** Способность антител к ILT2/ILT4 ингибировать взаимодействие между ILT2 и/или ILT4 и молекулами МНС I оценивали с использованием репортерной клеточной системы. Линия клеток Raji была создана более 50 лет назад из лимфомы Беркитта, и было показано, что она экспрессирует молекулы МНС I и МНС II. Линия лимфобластоидных клеток (LCL) 721.221 представляет собой мутанта исходной LCL 721, где LCL 721.221 не экспрессирует никаких молекул МНС I. Клетки LCL 721.221 трансфицировали неклассической молекулой МНС I HLA-G, и была создана стабильная линия клеток, обозначенная в данном документе как 721.221-HLA-G. Клетки Raji или клетки 721.221-HLA-G совместно культивировали с клетками, экспрессирующими стабильную репортерную систему и представляющий интерес рецептор клеточной поверхности («репортерные клетки»). В этой системе химерных рецепторов внеклеточный домен представляющего интерес рецептора (например, ILT2 или ILT4) слит с трансмембранным/внутриклеточным доменом PIRB, который связывается с адапторным белком DAP12. Когда химерный рецептор (например, ILT2 или ILT-4) активируется путем связывания с лигандом (например, молекулой МНС I), DAP12 фосфорилируется и активирует NFAT-чувствительный промотор, который управляет экспрессией GFP (см., например, Deng et al., 2014, *Blood*, 124:924-935).

**[00434]** Репортерные по ILT2 и ILT4 клетки (экспрессирующие ILT2 человека или ILT4 человека) окрашивали с помощью CellTracker Deep Red (ThermoFisher), для того чтобы отличить их от клеток Raji или 721.221-HLA-G во время анализа. Репортерные клетки промывали после окрашивания и ресуспендировали в концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл в среде X-VIVO™ 15 (Lonza). Клетки Raji или клетки 721.221-HLA-G промывали и ресуспендировали в среде X-VIVO™ 15 при концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл. Для анализов с клетками Raji: антитело к ILT2 27F9, антитело к ILT4 48A5, антитело к ILT2/ILT4 73D1 и Hz73D1.v1 и контрольное антитело серийно разбавляли и добавляли по 50 мкл в каждую лунку 96-луночного плоскодонного планшета для культуры клеток. Для анализов с клетками 721.221-HLA-G: антитело к ILT4 48A5, антитело к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 и контрольное антитело серийно разбавляли и добавляли по 50 мкл в каждую лунку 96-луночного плоскодонного планшета для культуры клеток. Экспрессирующие ILT2 или экспрессирующие ILT4 репортерные клетки (100 мкл/лунку) совместно культивировали с клетками Raji или клетками 721.221-HLA-G (100 мкл/лунку). Планшеты инкубировали в течение ночи при 37°C. На следующий день репортерные клетки анализировали на экспрессию GFP с помощью FACS.

[00435] Как показано на Фиг. 4А, экспрессия GFP индуцировалась, когда ILT2 или ILT4 экспрессировались на поверхности репортерных клеток в присутствии клеток Raji. В случае репортерных клеток, экспрессирующих ILT2 на своей клеточной поверхности, отмечали, что повышение концентрации антитела к ILT2 27F9 и антитела к ILT2/ILT4 73D1 или Hz73D1.v1 ингибирует экспрессию GFP дозозависимым образом (выражается как % GFP-положительных клеток). Было замечено, что антитело к ILT4 не оказывает ингибирующего эффекта. Аналогичным образом, с репортерными клетками, экспрессирующими ILT4 на своей клеточной поверхности, наблюдалось, что возрастающая концентрация антитела к ILT4 48A5 и антитела к ILT2/ILT4 73D1 или Hz73D1.v1 ингибирует экспрессию GFP дозозависимым образом, а антитело к ILT2 не имело никакого эффекта. Как показано на Фиг. 4В, экспрессия GFP индуцировалась, когда ILT2 или ILT4 экспрессировались на поверхности репортерных клеток в присутствии клеток 721.221-HLA-G. В случае репортерных клеток, экспрессирующих ILT2 на своей клеточной поверхности, отмечали, что повышение концентрации антитела к ILT2/ILT4 антитела Hz73D1.v1 ингибировало экспрессию GFP дозозависимым образом. В случае репортерных клеток, экспрессирующих ILT4 на своей клеточной поверхности, отмечали, что повышение концентрации антитела к ILT4 48A5 и антитела к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 ингибировало экспрессию GFP дозозависимым образом. В таблице 14 показана IC<sub>50</sub> Hz73D1.v1 для блокирования взаимодействия ILT2 человека, ILT4 человека и ILT2 яванского макака с молекулами МНС I на клетках Raji. В таблице 15 показана IC<sub>50</sub> Hz73D1.v1 для блокирования взаимодействия ILT2 человека, ILT4 человека с HLA-G, экспрессированным на клетках 721.221.

Таблица 14

Репортерный конструктор	Клетка Raji, IC <sub>50</sub> (нМ)
ILT2 человека	0,25
ILT4 человека	0,066
ILT2 яванского макака	0,094

Таблица 15

Репортерный конструктор	721.221-HLA-G, IC <sub>50</sub> (нМ)
ILT2 человека	0,23
ILT4 человека	0,26

**[00436]** Эти результаты демонстрируют, что антитела к ILT2 или к ILT2/ILT4 способны ингибировать и/или блокировать функциональное взаимодействие между ILT2 и классическими молекулами МНС I на высоком уровне. Кроме того, эти результаты демонстрируют, что антитела к ILT4 или к ILT2/ILT4 способны ингибировать и/или блокировать функциональное взаимодействие между ILT4 и классическими и неклассическими молекулами МНС I (например, HLA-G) на высоком уровне. Эти результаты подтверждают идею о том, что антитело, которое связывает ILT2 и ILT4, может модулировать пути, индуцируемые этими обеими молекулами. Следовательно, антитело к ILT2/ILT4 может быть более сильным терапевтическим агентом, чем антитело, нацеленное только на ILT2 или только на ILT4.

**[00437]** Было проведено дополнительное исследование с репортерными клетками, экспрессирующими ILT2 яванского макака. Как описано выше, репортерные по ILT2 клетки яванского макака окрашивали CellTracker Deep Red, промывали и ресуспендировали в концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл в среде X-VIVO™ 15 (Lonza). Клетки Raji промывали и ресуспендировали в среде X-VIVO™ 15 при концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл. Антитело к ILT2/ILT4 73D1 и Hz73D1.v1 и контрольное антитело серийно разбавляли и добавляли по 50 мкл в каждую лунку 96-луночного плоскодонного планшета для культуры клеток. Экспрессирующие ILT2 репортерные клетки (100 мкл/лунка) культивировали совместно с клетками Raji (100 мкл/лунка). Планшеты инкубировали в течение ночи при 37°C. На следующий день репортерные клетки анализировали на экспрессию GFP с помощью FACS.

**[00438]** Как показано на Фиг. 5, экспрессия GFP индуцировалась, когда ILT2/4 яванского макака экспрессировался на поверхности репортерных клеток в присутствии клеток Raji. В присутствии возрастающей концентрации антитела к ILT2/ILT4 73D1 или Hz73D1.v1 процент клеток, экспрессирующих GFP, снижался дозозависимым образом. В таблице 14 показана  $IC_{50}$  Hz73D1.v1 для блокирования взаимодействия ILT2 яванского макака с молекулами МНС I на клетках Raji. Эти результаты являются еще одним доказательством того, что обезьяны могут быть хорошей моделью для тестирования.

**[00439]** В дополнение к репортерной клеточной системе с помощью системы Biacore оценивали ингибирующую активность антител к ILT2/ILT4 в отношении взаимодействия между молекулами ILT2 и МНС I и взаимодействия между молекулами ILT4 и МНС I. Человеческий ILT2-Fc и ILT4-Fc использовали в качестве рецепторов-мишеней, и их взаимодействие с иллюстративной молекулой МНС-I (HLA-A) анализировали в присутствии или в отсутствие иллюстративного антитела к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 при 25°C. Антитела к человеческому ILT2 (клон 27F9) или ILT4 (клон 48A5) использовали в качестве

реагентов для выявления IL2- и IL4-специфической блокирующей активности. Антитела к IL2/IL4 вызывали дозозависимое снижение взаимодействия между IL2 и HLA-A, а также между IL4 и HLA-A. IC<sub>50</sub> протестированных антител показаны в таблице 16.

Таблица 16

Антитело	IL2, IC <sub>50</sub> (нМ)	IL4, IC <sub>50</sub> (нМ)
H73D1.v1	10 ± 0,36	9,4 ± 0,34
48A5 (IL4-специфическое)	Отсутствие блокирования	8,4 ± 0,46
27F9 (IL2-специфическое)	8,9 ± 0,37	Отсутствие блокирования

### Пример 10

#### Влияние антител к ILT на активность NK-клеток

**[00440]** NKL представляет собой линию естественных клеток-киллеров (NK) человека, выделенную из периферической крови пациента с лейкозом больших гранулярных лейкоцитов (LGL) и любезно предоставленную доктором Луи Ланье. Как описано в данном документе, NK-клетки экспрессируют IL2, но обычно не экспрессируют IL4. Клетки 721.221 трансфицировали плазмидами, экспрессирующими либо HLA-G, либо HLA-A\*0201, а пулы с высокой экспрессией обогащали с помощью селекцией антибиотиками, получая линии клеток 721.221-HLA-G и 721.221-A\*0201. Клетки 721.221-HLA-G (описанные в данном документе) или клетки 721.221-HLA-A\*0201 используют в качестве мишеней в анализе цитолитических клеток. Клетки-мишени метили CellTracker Deep Red (ThermoFisher), чтобы отличить их от клеток NKL (после совместного культивирования), а затем ресуспендировали в концентрации  $5 \times 10^5$  клеток/мл в среде для анализа (RPMI с 10% FBS, пенициллином/стрептомицином, L-глутамин, 5% сыворотка человека и рекомбинантный человеческий IL-2 (rhIL-2) в концентрации 20 нг/мл). Клетки NKL суспендировали в концентрации  $7,5 \times 10^6$  клеток/мл в среде для анализа. Серийные разведения антитела к IL2 27F9, антитела к IL4 48A5, антител к IL2/IL4 73D1 или H73D1.v1 и антитела изотипического контроля готовили в среде для анализа, и по 50 мкл добавляли в лунки 96-луночного планшета с V-образным дном. Клетки NKL (50 мкл) добавляли в каждую лунку, а затем клетки-мишени (50 мкл), в результате чего отношение мишени к NK составляло 1:15. Планшеты поддерживали в течение 3,5 часов при 37°C с последующим центрифугированием при  $360 \times g$  в течение 8 минут при комнатной температуре и удалением среды. Затем клетки ресуспендировали в PBS, содержащем раствор Sytox Blue (ThermoFisher) в разведении 1:1000. Sytox Blue окрашивает клетки с

поврежденными клеточными мембранами, позволяя отличить живые клетки от мертвых или поврежденных клеток. Клетки анализировали с помощью FACS, а процент уничтожения клеток-мишеней рассчитывали на основе значения лунки положительного контроля клеток-мишеней, пермеабилizированных детергентом (100% лизис).

**[00441]** Как показано на Фиг. 6, антитело к ILT2 27F9 и антитела к ILT2/ILT4 73D1 и Hz73D1.v1 повышали цитолитическую активность НК дозозависимым образом. Значения EC<sub>50</sub> для Hz73D1.v1 составляли 2,4 нМ для клеток-мишеней, экспрессирующих HLA-G, и 0,13 нМ для клеток-мишеней, экспрессирующих HLA-A\*0201. Для сравнения, EC<sub>50</sub> для 27F9 составляла 0,064 нМ для клеток-мишеней, экспрессирующих HLA-G. Антитело к ILT4 48A5 практически не влияло на активность НК-клеток. Эти результаты демонстрируют, что антитела к ILT2 и антитела к ILT2/ILT4 способны блокировать функциональное взаимодействие между ILT2 на НК-клетках и молекулами MHC I на поверхности клеток-мишеней, что приводит к усилению цитолитической активности. Это подтверждает теорию о том, что антитела к ILT2/ILT4 могут усиливать уничтожение опухолевых клеток путем ингибирования индуцируемой ILT2 супрессии НК-клеток.

**[00442]** Аналогичные эксперименты были проведены с использованием первичных НК-клеток человека. Вкратце, НК-клетки выделяли из PBMC путем отрицательной селекции, промывали в среде для анализа (RPMI с 10% FBS, пенициллин/стрептомицин, 5% сыворотки человека, rhIL-2 (40 нг/мл) и IL-15 (50 нг/мл)) и ресуспендировали в концентрации  $7,5 \times 10^6$  клеток/мл в среде для анализа. Клетки-мишени 721.221-HLA-G метили CellTracker Deep Red (ThermoFisher) и ресуспендировали в концентрации  $5 \times 10^5$  клеток/мл в среде для анализа. Клетки-мишени и НК-клетки (по 50 мкл каждая) объединяли в каждой лунке планшета с V-образным дном. Антитело к ILT2 27F9, антитело к ILT4 48A5 или антитело к ILT2/ILT4 47H6, 73D1 или 64A12 добавляли в лунки в конечной концентрации 1 мкг/мл. Планшеты поддерживали в течение ночи при 37°C с последующим центрифугированием при  $360 \times g$  в течение 8 минут при комнатной температуре и удалением среды. Затем клетки ресуспендировали в PBS, содержащем раствор Sytox Blue (ThermoFisher) в разведении 1:1000. Клетки анализировали с помощью FACS, а процент уничтожения клеток-мишеней рассчитывали на основе значения лунки положительного контроля клеток-мишеней, пермеабилizированных детергентом (100% лизис).

**[00443]** Как показано на Фиг. 7, присутствие антитела к ILT2 27F9 или антител к ILT2/ILT4 47H6, 73D1 и 64A12 усиливало уничтожение первичными НК-клетками. В соответствии с другими экспериментами, описанными в данном документе, эти результаты демонстрируют, что ILT2 опосредует супрессию первичных НК-клеток, и эту супрессию

можно реверсировать с помощью антагонистических антител, ингибирующих или блокирующих взаимодействия ILT2/MHC I.

**[00444]**

**[00445]** Дальнейшие эксперименты были проведены для оценки цитолитической активности NK-клеток посредством анализа экспрессии CD137, маркера, экспрессия которого повышается на NK-клетках во время цитолиза. NK-клетки выделяли из PBMC и культивировали с линией клеток K562, трансфицированной для экспрессии неклассической молекулы MHC-I HLA-G. Цитолитическую активность NK-клеток оценивали с помощью анализа экспрессии маркера активации CD137 методом FACS, гейтируя CD3-отрицательную, CD56-положительную популяцию NK. Окрашивание CD57 проводили для обогащения NK-клеток памяти (адаптивные), о которых известно, что они преимущественно экспрессируют ILT2 (Lopez-Vergès S et al, *Proc.Natl. Acad. Sci.* (2011), 108 (36) 14725-14732). Во время цитолиза на NK-клетках повышается экспрессия CD137, обеспечивая косвенный показатель уничтожения клеток. Hz73D1.v1 или анти-ILT2 (27F9), но не анти-ILT4 (48A5), значительно увеличили CD137+ популяцию (Фиг. 8). Этот эффект был наиболее выражен в популяции CD57+ NK-клеток памяти. Эти данные свидетельствуют о том, что антитела к IL2/ILT4 способны блокировать взаимодействие ILT2 на первичных NK-клетках с MHC-I на клетках-мишенях, что приводит к усилению активации и цитолитической активности.

Для оценки активности антител к IL2/ILT4 при уничтожении клеток-мишеней, естественно экспрессирующих HLA-A/B/C (классический MHC-I), был проведен анализ антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC). NK-клетки выделяли из PBMC и культивировали с клеточной линией плоскоклеточной карциномы CAL-27, которая экспрессирует высокие уровни HLA-A, HLA-B, HLA-C и лиганда NKG2A HLA-E (данные не показаны). Антитело к EGFR добавляли для индукции ADCC этих клеток EGFR+ CAL-27. Во время цитолиза на NK-клетках повышалась экспрессия CD137, обеспечивая косвенный показатель уничтожения клеток. Hz73D1.v1 или 27F9 к ILT2, но не 48A5 к ILT4, значительно увеличивали процент CD137+ NK-клеток в CD57+ популяции (Фиг. 9). Для сравнения, антитело к NKG2A значительно увеличивало процент CD137+ в CD57-, но не CD57+ популяции. Оба антитела индуцировали сопоставимое кратное увеличение активации (Hz73D1.v1 увеличивал процент CD137+ клеток в 1,8 раза, в то время как антитело к NKG2A увеличивало процент CD137+ клеток в 2,1 раза). Антитело к KIR2DL не проявило активности в этом анализе. Эти данные свидетельствуют о том, что антитела к ILT2/ILT4 способны блокировать взаимодействие ILT2 на первичных NK-клетках с

классическим МНС-I на клетках-мишенях, что приводит к усилению активации и цитолитической активности НК-клеток.

### Пример 11

Влияние антител к ILT на активность MDSC в анализе СКЛ-реакции

**[00446]** Было показано, что миелоидные супрессорные клетки (MDSC) играют решающую роль в регуляции иммунных ответов путем супрессии антигенпрезентирующих клеток (APC) и Т-клеток. Кроме того, было замечено, что они отрицательно влияют на противоопухолевую активность иммунных клеток. Влияние антител к ILT на активность MDSC исследовали с помощью анализа реакции смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ-реакция). Для получения MDSC-подобных клеток периферические моноциты человека выращивали в предварительно кондиционированной среде X-VIVO™ 15 (Lonza). Предварительно кондиционированные среды получают путем культивирования линии клеток OVISE. Линия клеток OVISE представляет собой светлоклеточную аденокарциному яичников, которая секретирует большое количество факторов в свою среду для роста. Моноциты культивировали в среде, состоящей из 50% среды, кондиционированной OVISE, и 50% свежей среды X-VIVO™ 15 в течение 5 дней; полученные MDSC-подобные клетки называли ovMDSC. Эти MDSC-подобные клетки демонстрируют функциональные характеристики MDSC, включая повышенный уровень Arg1 и IDO, а также супрессию пролиферации Т-клеток и провоспалительных цитокинов в анализах СКЛ-реакции (реакция смешанной культуры лимфоцитов) по сравнению с полученными из моноцитов дендритными клетками (данные не показаны). В качестве положительного контроля для анализов полученные из моноцитов дендритные клетки (moDC) получали путем культивирования периферических моноцитов человека с GM-CSF и IL-4 в течение 5 дней. Для проведения анализа СКЛ-реакции  $1 \times 10^5$  аллогенных Т-клеток совместно культивировали с  $2,5 \times 10^4$  ovMDSC или moDC в 96-луночном круглодонном планшете для культуры клеток. Клетки совместно культивировали в присутствии антитела к ILT2 27F9, антитела к ILT4 48A5, антител к ILT2/ILT4 47H6 или 73D1 или антитела изотипического контроля (каждое в концентрации 10 мкг/мл). Контроли включали только Т-клетки, только moDC, moDC с Т-клетками (положительная СКЛ-реакция), только ovMDSC и ovMDSC с Т-клетками. Клетки инкубировали при 37°C и через 5 дней в каждую лунку добавляли по 50 мкл среды, содержащей <sup>3</sup>H-тимидин. После 18 часов инкубации клетки из каждой лунки собирали и анализировали на включение тимидина в качестве маркера пролиферации, а супернатанты анализировали на секрецию цитокинов с помощью мультиплексного количественного определения с использованием микрочастиц.

**[00447]** Как показано на Фиг. 10, пролиферация Т-клеток подавлялась совместным культивированием с овMDSC. Присутствие антитела к ILT4 48A5 и антител к ILT2/ILT4 47H6 и 73D1 увеличивало пролиферацию Т-клеток, культивируемых с овMDSC, до уровня, эквивалентного ответу Т-клеток с моDC в СКЛ-реакции. Антитело к ILT2 27F9 не проявляло способности усиливать пролиферацию Т-клеток.

**[00448]** Был проведен другой анализ СКЛ-реакции, в котором  $1 \times 10^5$  аллогенных Т-клеток совместно культивировали с  $2,5 \times 10^4$  овMDSC в 96-луночном круглодонном планшете для культуры клеток. Клетки совместно культивировали в присутствии серийных разведений антитела к ILT2 27F9, антитела к ILT4 48A5, антител к ILT2/ILT4 73D1 или Hz73D1.v1 или антитела изотипического контроля. Клетки инкубировали при 37°C и через 5 дней из каждой лунки собирали по 50 мкл супернатанта для анализа цитокинов с использованием системы LumineX. Затем в каждую лунку добавляли по 50 мкл среды, содержащей  $^3\text{H}$ -тимидин. После 18 часов инкубации клетки из каждой лунки собирали и анализировали на включение тимидина.

**[00449]** Подобно результатам, описанным выше, было показано, что антитело к ILT4 48A5 и антитела к ILT2/ILT4 73D1 и Hz73D1.v1 увеличивают пролиферацию Т-клеток (Фиг. 11A). Кроме того, было установлено, что секреция TNF- $\alpha$  и секреция GM-CSF увеличивались дозозависимым образом в присутствии антител к ILT4 и к ILT2/ILT4 (Фиг. 11B-11C). Как и в предыдущем эксперименте, с антителами к ILT2 не наблюдалось никакого эффекта.

**[00450]** Эти результаты демонстрируют, что антитела к ILT4 и к ILT2/ILT4 способны ингибировать и/или блокировать функциональное взаимодействие между ILT4 на MDSC и молекулами MHC I на соседних клетках (например, APC), что приводит к реверсии супрессии MDSC и усилению активации Т-клеток. Реверсия индуцируемой MDSC супрессии, по-видимому, также приводит к увеличению секреции провоспалительных цитокинов, таких как TNF- $\alpha$  и GM-CSF.

## Пример 12

Влияние антител к ILT2/4 на опосредуемую ЛПС стимуляцию клеток

**[00451]** Липополисахарид (ЛПС) стимулирует врожденный иммунный ответ на миелоидных клетках через Толл-подобные рецепторы 2 и 4 (TLR2 и TLR4). Чтобы определить, могут ли антитела к ILT2 и/или к ILT4 усиливать опосредуемую ЛПС стимуляцию, был проведен анализ РВМС/ЛПС. Вкратце, замороженные РВМС человека оттаивали, промывали в среде (RPMI с 10% FBS, L-глутамином и пенициллином/стрептомицином) и подсчитывали. Антитело к ILT2 27F9, антитело к ILT4

48A5, антитела к ILT2/ILT4 73D1 и Hz73D1.v1 и антитело изотипического контроля серийно разбавляли в среде и добавляли по 50 мкл в каждую лунку 96-луночного круглодонного планшета для тканевой культуры. Добавляли РВМС в количестве  $1 \times 10^6$  клеток/мл в объеме 100 мкл и планшет инкубировали при 37°C в течение 30 минут. ЛПС добавляли в 50 мкл среды (конечная концентрация 30 нг/мл) и планшет инкубировали при 37°C в течение 2 дней. Клеточные супернатанты удаляли для анализа цитокинов с использованием системы Luminex®.

**[00452]** Как показано на Фиг. 12, присутствие антител к ILT4 и к ILT2/ILT4 приводило к увеличению продукции GM-CSF и TNF $\alpha$  дозозависимым образом. Например, значения EC<sub>50</sub> для Hz73D1.v1 составляли 0,76 нМ для секреции TNF $\alpha$  и 1,5 нМ для секреции GM-CSF. Антитело к ILT2 27F9 и контрольное антитело показали небольшую секрецию GM-CSF и TNF $\alpha$  (приблизительно 20-40 пг/мл). Эти результаты демонстрируют, что экспрессия ILT4 на миелоидных клетках в культуре РВМС может сильно подавлять продукцию провоспалительных цитокинов, индуцируемую ЛПС, и, что важно, супрессию можно реверсировать путем ингибирования и/или блокирования взаимодействий ILT4/MHC I.

**[00453]** Аналогичный эксперимент был поставлен с использованием РВМС яванского макака. Вкратце, РВМС яванского макака промывали в среде (RPMI с 10% FBS, L-глутамином и пенициллин/стрептомицином) и подсчитывали. Антитело к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 или контрольное антитело серийно разводили в среде и добавляли по 50 мкл в каждую лунку 96-луночного круглодонного планшета для тканевой культуры. РВМС добавляли в количестве  $2 \times 10^6$  клеток/мл в 100 мкл и планшеты инкубировали при 37°C в течение 30 минут. ЛПС добавляли в 50 мкл среды (конечная концентрация 50 нг/мл) и планшеты инкубировали при 37°C в течение 2 дней. Клеточные супернатанты удаляли для анализа цитокинов с использованием системы Luminex®.

**[00454]** Аналогично результатам с РВМС человека антитело к ILT2/4 Hz73D1.v1 усиливало секрецию GM-CSF РВМС яванского макака (Фиг. 13). EC<sub>50</sub> была определена на уровне 14 нМ. Эти результаты демонстрируют, что антитела к ILT2/ILT4 оказывали сходное биологическое действие на иммунные клетки яванского макака и иммунные клетки человека.

**[00455]** Для дальнейшей оценки влияния антител к ILT на клетки, участвующие в подавлении иммунного ответа на опухолевые клетки, был проведен анализ с применением ЛПС с толерогенными дендритными клетками (tolDC). Вкратце, выделенные моноциты человека высевали на 10-сантиметровые чашки для культур тканей в количестве  $4 \times 10^6$  клеток/чашка в объеме 20 мл среды (среда X-VIVO™ 15 (Lonza) с добавлением 50 нг/мл рекомбинантного GM-CSF и IL-4 (Peprotech)). Моноциты инкубировали в течение 5-7 дней

при 37°C, после чего клетки собирали. Для анализа DC, полученные *in vitro*, суспендировали в свежей среде, содержащей Fc Block (Biolegend) в разведении 1:50 в концентрации  $6 \times 10^5$  клеток/мл. DC высевали в 96-луночные планшеты для тканевой культуры по 50 мкл/луночка и добавляли антитело к ILT4 48A5, антитело к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 или контрольное антитело в серийных разведениях по 50 мкл/луночка. Добавляли ЛПС (конечная концентрация 6 мкг/мл) вместе с одним из множества повышающих толерантность агентов в объеме 50 мкл среды. Повышающие толерантность агенты включали: витамин D3/дексаметазон (Вит. D3/Декс.) в концентрации 100 нМ и 10 нМ, соответственно, циклоспорин А в концентрации 750 нг/мл, рапамицин в концентрации 100 нг/мл, простагландин E2 (PGE2) в концентрации 1 мкг/мл, IL-6 в концентрации 20 нг/мл, IL-10 в концентрации 20 нг/мл или TGF $\alpha$  в концентрации 20 нг/мл. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 2 дней и супернатанты собирали для анализа с использованием системы Luminex®.

**[00456]** Как показано на Фиг. 14, антитела к ILT4 и к ILT2/ILT4 усиливали опосредуемую ЛПС секрецию цитокинов (например, TNF $\alpha$ ) дозозависимым образом. Значения EC50 для индуцируемой Hz73D1.v1 секреции TNF $\alpha$  в присутствии ЛПС и дополнительного повышающего толерантность агента показаны в таблице 17. Напротив, не было повышения TNF- $\alpha$  в tolDC, обработанных контрольным антителом и антителом к ILT2, (данные не представлены). Эти данные демонстрируют, что tolDC, присутствующие в опухоли пациента, будут реагировать на реактивацию в присутствии антител к ILT4 и/или к ILT2/ILT4, которые ингибируют или блокируют взаимодействие молекул ILT4 и MHC I.

Таблица 17

Лечение	Вит. D3/Декс.	PGE2	IL-10	Циклоспорин	Рапамицин	IL-6	TGF $\beta$
EC <sub>50</sub> (нМ)	0,40	0,44	1,2	0,20	0,15	0,14	0,10

### Пример 13

Влияние антител к ILT на HMGB1, STING и/или анти-CD3 на стимуляцию PBMC

**[00457]** Белок высококомобильной группы В1 (HMGB1) представляет собой ядерный белок, который может высвобождаться из клеток и связываться с TLR. Было показано, что HMGB1 присутствует в высоких концентрациях в некротической опухолевой ткани, обеспечивая потенциальный источник врожденной стимуляции инфильтрирующих

опухоль DC, моноцитов и макрофагов (см., например, Guerriero *et al.*, 2011, *J. Immunol.*, 186:3517-3526). Были разработаны эксперименты, чтобы определить, могут ли антитела к ИЛТ усиливать секрецию провоспалительных цитокинов из PBMC, обработанных HMGB1. Вкратце, антитело к ИЛТ2 27F9, антитело к ИЛТ4 48A5, антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 47H6, 73D1 и 64A12 и антитело изотипического контроля серийно разбавляли в среде и добавляли по 50 мкл в каждую лунку 96-луночного круглодонного планшета для тканевой культуры. Добавляли PBMC в количестве  $1 \times 10^6$  клеток/мл в объеме 100 мкл и планшет инкубировали при 37°C в течение 30 минут. Добавляли рекомбинантный HMGB1 (Biolegend) в концентрации 2,5 мкг/мл (ожидаемая концентрация в микроокружении опухоли) и планшет инкубировали при 37°C в течение 2 дней. Клеточные супернатанты удаляли для анализа цитокинов с использованием системы Luminex®.

**[00458]** Как показано на Фиг. 15, антитело к ИЛТ4 48A5 и антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 47H6, 73D1 и 64A12 усиливали секрецию TNF- $\alpha$ . Эти данные демонстрируют, что антитела к ИЛТ4 и ИЛТ2/ИЛТ4 усиливают провоспалительную функцию инфильтрирующих моноцитов внутри опухоли.

**[00459]** Точно так же некроз опухолевых клеток и/или гибель опухолевых клеток в результате лучевой терапии приводит к высвобождению ядерной ДНК. Свободная ядерная ДНК может привести к стимуляции миелоидных клеток посредством сигналинга STING (стимулятор генов интерферона). Были разработаны эксперименты, чтобы определить, могут ли антитела к ИЛТ усиливать продукцию воспалительных цитокинов из PBMC, обработанных агонистом STING. Вкратце, PBMC высевали в 96-луночные круглодонные планшеты для тканевой культуры и добавляли антитело к ИЛТ2 27F9, антитело к ИЛТ4 48A5 и антитело изотипического контроля. После 30-минутной инкубации добавляли агонист STING 2'3'-cGAMP (Invivogen) в концентрации 10 мкг/мл (ожидаемая концентрация в микроокружении некротической опухоли). Клетки инкубировали в течение двух дней и супернатанты анализировали с использованием системы Luminex®.

**[00460]** Как показано на Фиг. 16, иллюстративное антитело к ИЛТ4 48A5 усиливало секрецию IFN $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ . Эти данные демонстрируют, что антитела к ИЛТ4 и к ИЛТ2/ИЛТ4 будут усиливать провоспалительные функции инфильтрирующих опухоль моноцитов.

**[00461]** Помимо супрессии активаторов врожденного иммунитета, ИЛТ2 или ИЛТ4 могут играть роль в супрессии опосредованной Т-клетками стимуляции миелоидных клеток. Для оценки Т-клеточной стимуляции миелоидных клеток PBMC активировали антителом к CD3 и рекомбинантным IL-2. Вкратце, антитело к ИЛТ2 27F9, антитело к ИЛТ4 48A5, антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 47H6 и 64A12, и антитело изотипического контроля серийно разбавляли в среде

и добавляли по 50 мкл в каждую лунку 96-луночного круглодонного планшета для тканевой культуры. Добавляли РВМС в количестве  $1 \times 10^6$  клеток/мл в объеме 100 мкл и планшет инкубировали при 37°C в течение 30 минут. Добавляли клон НТ3а антитела к CD3 (eBioscience) в концентрации 10 нг/мл, а рекомбинантный ИЛ-2 добавляли в концентрации 100 ЕД/мл (Peprotech). Клетки инкубировали в течение двух дней и супернатанты анализировали с использованием системы Luminex®.

**[00462]** Как показано на Фиг. 17, антитело к ИЛТ4 48А5 и антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 47Н6 и 64А12 усиливали секрецию TNF- $\alpha$  дозозависимым образом. Антитело к ИЛТ2 27F9 не влияло на продукцию цитокинов. Эти данные показывают, что блокада ИЛТ4 усиливает иммунный ответ (то есть секрецию провоспалительных цитокинов) в результате взаимодействия между активированными Т-клетками и миелоидными клетками.

#### Пример 14

##### Влияние антител к ИЛТ на фагоцитоз макрофагов

**[00463]** Были проведены анализы фагоцитоза, чтобы дополнительно охарактеризовать влияние антител к ИЛТ2, к ИЛТ4 и к ИЛТ2/ИЛТ4 на функции макрофагов. Макрофаги генерировали путем культивирования выделенных моноцитов в среде (RPMI с 10% FBS, L-глутамином и пенициллином/стрептомицином), содержащей 50 нг/мл рекомбинантного М-CSF (Peprotech), в течение 5 дней при 37°C в 12-луночных планшетах для тканевой культуры. Макрофаги удаляли из планшета с помощью клеточного скребка и высевали по 20000 клеток/лунка в 100 мкл среды в 96-луночный плоскодонный планшет для тканевой культуры. Макрофаги инкубировали в течение ночи при 37°C. На следующий день к макрофагам добавляли антитело в концентрации 2,5 мкг/мл вместе с 2,5 мкг/мл антитела к CD47 для индуцирования антителозависимого фагоцитоза. Клетки Raji окрашивали в течение 1 часа красителем pHrodo Red (Essen Bioscience) 1:4000, промывали в среде и добавляли к макрофагам в количестве 50000 клеток/лунка. Фагоцитоз измеряли по средней красной флуоресценции на приборе Incucyte с 45-минутными интервалами. Тестируемое антитело сравнивали с антителом изотипического контроля в момент времени пикового ответа (3 часа).

**[00464]** Как показано на Фиг. 18, антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 (например, Hz73D1.v1) и антитела к ИЛТ2 (например, 27F9) усиливали фагоцитарную активность макрофагов против опухолевых клеток Raji, опсонизированных антителом к CD47. Антитела к ИЛТ4 (например, 48А5) не влияли на фагоцитоз макрофагами. Для контроля экспрессии ИЛТ2 клетками Raji использовали антитело 24E7, связывающий ИЛТ2 агент, который не способен блокировать взаимодействие с МНС-I. Эти данные демонстрируют, что антитела к ИЛТ2 и к ИЛТ2/ИЛТ4

способны усиливать фагоцитоз макрофагов, блокируя взаимодействие макрофагов IL2 с MHC-I на опухолевых клетках и ингибируя индуцируемую IL-2 супрессию макрофагов, тем самым усиливая макрофагальный фагоцитоз опухолей. Эта активность антител к IL2 и к IL2/IL4 специфична для блокирования взаимодействия IL2/MHC-I, но не взаимодействия IL4/MHC-1, несмотря на экспрессию IL4 на макрофагах.

**[00465]**

Пример 15

Влияние антител к ILT на дендритные клетки

**[00466]** Считается, что ILT2 и/или ILT4 действуют как супрессоры активации миелоидных клеток и что ингибирование или блокирование ILT2 и/или ILT4 будет ингибировать индуцируемую ILT2 и/или ILT4 супрессию.

**[00467]** Активация миелоидных клеток может быть достигнута за счет перекрестного связывания Fc-рецепторов (FcR) на клеточной поверхности, и перекрестное связывание приводит к продукции цитокинов; это используется в качестве основы для анализа активации миелоидных клеток. Дендритные клетки были получены, как описано в данном документе. Вкратце, выделенные моноциты человека высевали на чашки для культур тканей диаметром 10 см с  $4 \times 10^6$  клеток на чашку в объеме 20 мл среды (Lonza) с добавлением 50 нг/мл каждого из рекомбинантных GM-CSF и IL-4 (Peprotech). Моноциты инкубировали в течение 5-7 дней при 37°C и собирали полученные дендритные клетки. 96-луночные планшеты Maxisorp для ELISA покрывали антителом к KLN (5 мкг/мл) и инкубировали в течение ночи при 4°C. Антитело к KLN содержит домен Fc, способный связывать Fc-рецепторы на дендритных клетках. Планшеты промывали и блокировали средой X-VIVO™ 15 в течение одного часа. Дендритные клетки добавляли в количестве  $7 \times 10^4$  клеток/лунка. Антитело к ILT2 27F9, антитело к ILT4 48A5, комбинацию антител 27F9 и 48A5, антитело к ILT2/ILT4 Hz73D1.v1 или контрольное антитело добавляли в серийных разведениях и планшеты инкубировали при 37°C в течение 2 дней. Супернатанты собирали и анализировали на секрецию TNF-α с использованием системы Luminex®.

**[00468]** Как показано на Фиг. 19, комбинация антитела к ILT2 27F9 и антитела к ILT4 48A5 и антитела к ILT2/ILT4 73D1 увеличивала секрецию TNF-α из дендритных клеток дозозависимым образом. Антитело к ILT2 27F9 в качестве отдельного агента и антитело к ILT4 48H6 в качестве отдельного агента оказывали лишь небольшое влияние на увеличение продукции цитокинов. Таким образом, сильное увеличение секреции цитокинов за счет комбинации антитела к ILT2 27F9 и антитела ILT4 48A5 оказалось неожиданным. Этот ответ отражался в случае антитела к ILT2/ILT4 с двойным связыванием Hz73D1.v1. Эти данные демонстрируют, что как ILT2, так и ILT4 ингибируют опосредованную Fc-

рецептором активацию дендритных клеток и что эти эффекты не являются чрезмерными. Эти данные демонстрируют, что ингибирование супрессии дендритных клеток агентами, нацеленными как на ILT2, так и на ILT4 (т. е. антителами к ILT2/ILT4 с двойным связыванием), может привести к гораздо лучшему терапевтическому эффекту, чем терапия моноспецифическими антителами.

#### Пример 16

Влияние антител к ILT на секрецию цитокинов клетками крови человека и яванского макака [00469] Для исследования потенциальной токсичности, связанной с высвобождением цитокинов (т. е. «цитокинового шторма»), различные антитела культивировали с клетками крови человека или яванского макака и анализировали продукцию цитокинов. Вкратце, антитела добавляли в концентрации 10 мкг/мл в 96-луночные плоскодонные планшеты и встряхивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Тестируемые антитела включали антитело к ILT4 48A5, антитела к ILT2/ILT4 47H6, 73D1 и Hz73D1.v1, клон суперагонистического антитела к CD28 5D10 (Ansell), поликлональное антитело к ILT2 (R&D Systems), поликлональное антитело к ILT4 (R&D Systems), антитело к LILRA1 (R&D Systems), антитело к CD3 и контрольное антитело. Планшеты промывали и блокировали культуральной средой (RPMI с 10% FBS, L-глутамин и пенициллин/стрептомицин) в течение 1 часа при встряхивании. Кровь получали от здоровых доноров-людей и яванских обезьян. Эритроциты удаляли из крови путем лизиса в буфере для лизиса эритроцитов (eBioscience) с последующим центрифугированием, а оставшиеся клетки промывали культуральной средой. Добавляли  $5 \times 10^5$  клеток на лунку, добавляя ЛПС в лунки для размножения в качестве положительного контроля, и планшеты инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Супернатанты собирали и анализировали на секрецию цитокинов с использованием системы Luminex®.

[00470] Как показано на Фиг. 20, инкубация клеток крови человека с растворимым ЛПС или антителом к CD28, покрытым планшетом, индуцировала значительное увеличение уровня многих цитокинов, включая TNF- $\alpha$ , GM-CSF, MIP-1 $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , и IL-10. Напротив, поликлональное антитело к ILT2, поликлональное антитело к ILT4, антитело к LILRA1, антитело к ILT4 48A5 и антитела к ILT2/ILT4 73D1 и Hz73D1.v1 не индуцировали уровни цитокинов выше антитела изотипического контроля из клетки крови человека. Как показано на Фиг. 21, инкубация клеток крови яванского макака с растворимым ЛПС индуцировала значительное увеличение содержания цитокинов, таких как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$ , IL-6 и MIP-1 $\beta$ . Аналогично анализу клеток крови человека, поликлональное антитело к ILT2, поликлональное антитело к ILT4, антитело к LILRA1, антитело к CD3 и

антитела к ILT2/ILT4 47H6, 73D1 и Hz73D1.v1 не индуцировали уровни цитокинов выше уровня, наблюдаемого с антителом изотипического контроля из клеток крови яванского макака. Эти данные демонстрируют, что способность антител к ILT2, антител к ILT-4 и антител к ILT2/ILT4 вызывать токсический иммунный ответ, такой как цитокиновый шторм, невелика.

**[00471]** Был проведен дополнительный анализ высвобождения цитокинов *in vitro* для оценки способности антител к ILT2/ILT4 индуцировать провоспалительные цитокины IL-2, TNF- $\alpha$ , IL-6 и IFN- $\gamma$ . Были использованы образцы цельной крови 10 здоровых доноров. Антитела к ILT2/ILT4 сравнивали с рядом положительных и отрицательных контролей. В качестве отрицательного контроля использовали антитело изотипического контроля к KLN. В качестве положительного контроля использовали суперагонистическое антитело к CD28 (клон ANC28.1) (Walker 2011). Кроме того, энтеротоксин В стафилококка (SEB) использовали в качестве положительного контроля для культур с растворимыми антителами. Были использованы два формата анализа. В первом формате клетки культивировали с антителом (Hz73D1.v1, антителом изотипического контроля или антителом к CD28) или SEB в возрастающих концентрациях. Антитела тестировали в концентрациях 0,1, 1, 10 и 100 мкг/мл. SEB тестировали в концентрациях 0,01, 0,1 и 1 мкг/мл. Во втором формате 96-луночные планшеты для тканевой культуры предварительно инкубировали с антителом в течение ночи при 4°C, промывали, а затем добавляли клетки и культивировали. Затем собирали супернатант клеточной культуры и тестировали на уровни цитокинов с помощью цитометрического анализа на частицах.

**[00472]** В первом формате анализа SEB в концентрации 1 мкг/мл индуцировал высокие уровни всех оцениваемых цитокинов (IL-2, IL-6, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ ), при этом уровни цитокинов превышали изотипический контроль для всех 10 доноров. Растворимое антитело к CD28 в концентрации 100 мкг/мл индуцировало уровни цитокинов выше изотипического контроля для IL-6, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$ . Медианные значения для Hz73D1.v1 были сравнимы с изотипическим контролем (таблица 18). Во втором формате анализа положительный контроль в виде покрытого антителом к CD28 планшета (100 мкг/мл) индуцировал образование IL-6 у 5 из 10 доноров. Напротив, в покрытом Hz73D1.v1 планшете не индуцировалось образование ни одного из 4 цитокинов на уровне, превышающем уровень изотипического контроля (таблица 19).

Таблица 18

	Анти-CD28 (мкг/мл)		SEB (мкг/мл)		Изотип (мкг/мл)		Hz73D1.v1 (мкг/мл)	
	10	100	0,1	1	10	100	10	100
IL-6	1115	8934	571	1422	7	5	3	6
IL-2	44	48	1309	3418	19	21	17	20
TNF $\alpha$	52	605	614	1452	4	7	6	10
IFN $\gamma$	35	343	208	704	5	6	5	5

Таблица 19

	Анти-CD28 (мкг/мл)		Изотип (мкг/мл)		Hz73D1.v1 (мкг/мл)	
	10	100	10	100	10	100
IL-6	17	93	10	9	9	7
IL-2	33	45	40	38	28	32
TNF $\alpha$	18	26	17	19	16	12
IFN $\gamma$	12	21	13	13	12	14

## Пример 17

Влияние антител к ILT на активность Т-клеток

**[00473]** Известно, что экспрессия ILT2 повышена в популяции CD45RA<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-клеток эффекторной памяти (CD8<sup>+</sup> T<sub>EMRA</sub> клетки) (Gustafson 2017). Эта популяция составляет лишь небольшую долю CD8<sup>+</sup> Т-клеток у здоровых доноров, что затрудняет проведение анализов клеточного уничтожения совокупностью CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Таким образом, чтобы охарактеризовать цитолитическую активность ILT2<sup>+</sup> CD8 Т-клеток, первичные CD8<sup>+</sup> Т-клетки трансдуцировали ILT2 и размножали в условиях *in vitro* для получения достаточного количества ILT2<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Цитолитическую активность затем оценивали в анализе уничтожения CD8<sup>+</sup> Т-клеток с использованием флуоресцентно меченных клеток-мишеней 721.221-HLA-G. Вкратце, замороженные РВМС оттаивали, промывали в среде (RPMI с 10% FBS, L-глутамином и пенициллином/стрептомицином) и выделяли CD8<sup>+</sup> Т-клетки с использованием набора для положительной селекции CD8<sup>+</sup> Т-клеток. Выделенные CD8<sup>+</sup>

Т-клетки культивировали в основных средах (среда Xvivo15 с 10 мМ HEPES, 2 мМ глутамин, пенициллином/стрептомицином и 5% нормальной человеческой сыворотки) и стимулировали в течение 24 часов при 37°C с частицами к CD3/28 с добавлением 5 мкл частиц на миллион клеток. Затем собирали активированные Т-клетки ( $2 \times 10^5$ ) и ресуспендировали в 1 мл лентивируса, экспрессирующего человеческий ИЛТ2, при концентрации вируса  $1 \times 10^7$  БОЕ/мл в присутствии полибрена для инфицирования клеток. Затем инфицированные клетки ресуспендировали в среде для Т-клеток (основная среда с добавлением 5 нг/мл ИЛ-7, 5 нг/мл ИЛ-15 и 25 нг/мл ИЛ-2) и позволяли им размножаться в течение двух недель. Затем клетки сортировали с помощью FACS для ИЛТ2+ популяции и размножали в течение дополнительных 6 недель, чтобы получить достаточное количество клеток для исследования. Для оценки цитолитической активности  $2,5 \times 10^4$  клеток 721.221-HLAG, меченных Deep Red CellTracker, смешивали с  $2,5 \times 10^5$  трансдуцированных ИЛТ2 CD8+ Т-клеток в соотношении 10:1 Т-клетки: мишень и 0,1 мкг/мл биспецифического антитела к CD3/CD19 в среде RPMI-10% FBS. К клеткам добавляли антитела к ИЛТ или контрольные антитела в концентрации 10 мкг/мл и инкубировали в течение 18 часов. Клетки-мишени анализировали с помощью FACS, и процент уничтожения клеток-мишеней рассчитывали как количество мертвых клеток-мишеней, деленное на общее количество клеток-мишеней.

**[00474]** Как показано на Фиг. 22, антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 (например, Hz73D1.v1) и антитела к ИЛТ2 (например, 27F9), но не антитела к ИЛТ4 (например, 48A5), повышали цитолитическую активность CD8+ Т-клеток против клеток-мишеней 721.221-HLA-G. Эти данные демонстрируют, что антитела к ИЛТ2 и к ИЛТ2/ИЛТ4 усиливают цитолитическую активность CD8+ Т-клеток, блокируя взаимодействие ИЛТ2 CD8+ Т-клеток с МНС-I на клетках-мишенях. Таким образом, антитела к ИЛТ2 и к ИЛТ2/ИЛТ4 нарушают иммуносупрессивную активность ИЛТ2 в отношении цитолитических лимфоцитов, в частности Т-клеток эффекторной памяти, которые, как известно, участвуют в уничтожении опухолевых клеток.

### Пример 18

Синергический эффект антител к ИЛТ2/ИЛТ4 и антител к PD1 на активность Т-клеток

**[00475]** Анализ реакции смешанной культуры лимфоцитов был разработан для оценки потенциальных синергических или аддитивных эффектов антител к ИЛТ2/ИЛТ4 в сочетании с антителом к PD1 (пембролизумаб). Полученные из моноцитов макрофаги были созданы и культивированы с аллогенными CD4+ Т-клетками от 11 различных доноров вместе с изотипическим контролем, Hz73D1.v1, пембролизумабом или комбинацией Hz73D1.v1 и

пембролизумаба. Вкратце, полученные из моноцитов макрофаги получали путем культивирования 100000 моноцитов на лунку в течение 6 дней с 50 нг/мл рекомбинантного M-CSF. На 6-й день аллогенные очищенные CD4+ Т-клетки (200000 на лунку) добавляли вместе с 1 мкг/мл антитела изотипического контроля к KLH, 1 мкг/мл пембролизумаба, 1 мкг/мл Hz73D1.v1 или комбинацией антитела к PD1 и Hz73D1.v1 по 1 мкг/мл каждое. Клетки культивировали в течение дополнительных 6 дней и собирали супернатант для мультиплексного количественного определения с использованием микрочастиц на секретируемые цитокины (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  и GM-CSF).

**[00476]** Как показано на Фиг. 23А-23С, антитело к IL2/IL4 или пембролизумаб по отдельности обычно индуцировали интерферон-гамма  $<2$  нг/мл в культурах, при этом 3 из 11 доноров индуцировали  $>2$  нг/мл гамма-интерферона. Напротив, комбинация антитела к IL2/IL4 и пембролизумаба индуцировала  $>2$  нг/мл гамма-интерферона в 7 из 11 пар доноров CD4+ Т-клеток, причем в этих 7 парах доноров ответ был более чем аддитивным по сравнению с каждым реагентом в отдельности. Подобные ответы наблюдали при секреции GM-CSF и TNF- $\alpha$ . Эти данные демонстрируют, что антитело к IL2/IL4 и пембролизумаб совместно оказывают синергетический эффект на секрецию цитокинов, индуцированную аллогенными CD4+ Т-клетками, возможно, за счет комбинации опосредованной антителами к IL2/IL4 стимуляции активности макрофагов APC и ингибирования контрольной точки CD4+ Т-клеток пембролизумабом. В целом, антитело к IL2/IL4 или антитело к PD-1 по отдельности умеренно усиливают активацию Т-клеток и увеличение секреции цитокинов. Комбинация антител к IL2/IL4 или антител к PD-1 приводит к синергетическому увеличению активации Т-клеток и секреции цитокинов.

#### Пример 19

Антитела к IL2/IL4 индуцируют поляризацию полученных из моноцитов макрофагов от M2-подобной к M1-подобной

**[00477]** Макрофаги традиционно характеризуются как провоспалительные (M1) или иммуносупрессивные (M2) на основе маркеров поверхностной экспрессии CD80, CD86 (M1), CD163, CD204 и CD206 (M2). Антитела к IL2/IL4, а также антитела к IL2 и к IL4 оценивали на предмет их способности поляризовать макрофаги в сторону M1-подобного или M2-подобного фенотипа.

**[00478]** Макрофаги получали культивированием моноцитов в среде (RPMI с 10% FBS, L-глутамином и пенициллином/стрептомицином), содержащей Hz73D1.v1, 27F9, 48A5 или антитело изотипического контроля (1 мкг/мл) и 50 нг/мл рекомбинантных M-CSF (Peprotech) в течение 5 дней при 37°C в 48-луночных планшетах для тканевой культуры. На

5-й день образцы анализировали с помощью проточной цитометрии на наличие различных поверхностных маркеров, указывающих на М1-подобный или М2-подобный фенотип.

**[00479]** Как показано на Фиг. 24, Hz73D1.v1 индуцировал снижение М2-подобных фенотипических маркеров макрофагов CD163, CD204 и CD206 и дополнительных М2-подобных маркеров CD14 и CD209, что согласуется с поляризацией моноцитов от М2-подобного к М1-подобному фенотипу во время дифференцировки. Специфическое к ИЛТ4 антитело 48А5, но не специфическое к ИЛТ2 антитело 27F9, индуцировало увеличение уровня М1-подобного маркера CD86 и снижение уровня М2-подобного маркера CD163, CD204 и CD206, а также дополнительных М2-подобных маркеров CD14, CD209, и CCR5, что соответствует поляризации от М2-подобного к М1-подобному фенотипу с блокадой ИЛТ4. В целом эти данные демонстрируют, что антитела к ИЛТ2/ИЛТ4 индуцируют более провоспалительный М1-подобный фенотип во время дифференцировки макрофагов, и этот ответ опосредуется ингибированием взаимодействия ИЛТ4 с МНС-I.

**[00480]** Хотя вышеизложенное настоящее изобретение было описано довольно подробно посредством иллюстрации и примера в целях ясности понимания, описания и примеры не следует истолковывать как ограничивающие объем настоящего изобретения. Варианты осуществления настоящего изобретения, описанные в данном документе, предназначены только для примера, и специалисты в данной области техники признают многочисленные эквиваленты конкретных процедур, описанных в данном документе. Считается, что все такие эквиваленты входят в объем настоящего изобретения и охватываются вариантами осуществления.

**[00481]** Все публикации, патенты, заявки на патенты, интернет-сайты и последовательности номеров доступа/баз данных, включая как полинуклеотидные, так и полипептидные последовательности, цитируемые в данном документе, настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент, патентная заявка, интернет-сайт или номер доступа/последовательность базы данных были конкретно и отдельно указаны как включенные посредством ссылки.

**[00482]** Ниже приведены последовательности, описанные в заявке. Последовательности CDR перечислены в таблицах 1-8.

Аминокислотная последовательность ИЛТ2 человека с подчеркнутой предсказанной сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:1)

MTPILTVLICLGLSLGPRTHVQAGHLPKPTLWAEPGSVITQGSVTLRCQGGQETQEYRL  
 YREKKTALWITRIPQELVKKGQFPISITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTG  
 AYIKPTLSAQSPVVNSGGNVILQCDSQVAFDGFSLCKEGEDEHPQCLNSQPHARGSSRA

IFSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPEE  
 TLTLQCGSDAGYNRFVLYKDGERDFLQLAGAQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCY  
 GA  
 HNLSSEWSAPSDPLDILIAGQFYDRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGWMQTFLGTK  
 E  
 GAADDPWRLRSTYQSQKYQAEFPMGPVTSAHAGTYRCYGSQSSKPYLLTHPSDPLELV  
 VS  
 GPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLLLLLLLLF  
 LILRHRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVK  
 HTQ  
 PEDGVEMDTRSPHDEDPAVITYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQ  
 MD  
 TEAAASEAPQDVITYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH

Аминокислотная последовательность ILT2 человека без предсказанной сигнальной последовательности (SEQ ID NO:2)

GHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTALWITRIPQELVKKGQ  
 F  
 PIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSAQPSPVVNSGGNVIL  
 QCDSQVAFDGFSLCKEGEDHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPSRRWWYRCYAYDS  
 N  
 SPYEWSLPSDLELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPEETLTLQCGSDAGYNRFVLYKDGER  
 DFLQLAGAQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQF  
 Y  
 DRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGWMQTFLLTKEGAADDPWRLRSTYQSQKYQA  
 EFP  
 MGPVTSAHAGTYRCYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQP  
 LTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLLLLLLLLFLILRHRQGKHWTSTQRKADFQH  
 PAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPAV  
 TYA  
 EVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVITYAQLHSLTL  
 RREA  
 TEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH

Внеклеточный домен ILT2 человека (AK 24-461) (SEQ ID NO:3)

GHLPKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTALWITRIPQELVKKGGQ  
 F  
 PIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGAYIKPTLSAQSPVVNSGGNVIL  
 QCDSQVAFDGFSLCKEGEDHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPSRRWWYRCYAYDS  
 N  
 SPYEWSLPSDLELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPEETLTLQCGSDAGYNRFVLYKDGER  
 DFLQLAGAQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQF  
 Y  
 DRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGWMQTFLLTKEGAADDPWRLRSTYQSQKYQA  
 EFP  
 MGPV TSAHAGTYRCYGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQP  
 LTPTGSDPQSGLGRHLGV

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 1 типа C2 ILT2 человека (AK 27-115) (SEQ ID NO:4)

PKPTLWAEPGSVITQGSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTALWITRIPQELVKKGGQFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLE

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 2 типа C2 ILT2 человека (AK 116-221) (SEQ ID NO:5)

LVVTGAYIKPTLSAQSPVVNSGGNVILQCDSQVAFDGFSLCKEGEDHPQCLNSQPHAR  
 R  
 GSSRAIFSVGPVSPSRRWWYRCYAYDSNSPYEWSLPSDLELLVLG

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 3 типа C2 ILT2 человека (AK 222-312) (SEQ ID NO:6)

VSKKPSLSVQPGPIVAPEETLTLQCGSDAGYNRFVLYKDGERDFLQLAGAQPQAGLSQAN  
 N  
 FTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSD

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 4 типа C2 ILT2 человека (AK 313-409) (SEQ ID NO:7)

PLDILIAGQFYDRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGWMQTFLLTKEGAADDPWRLRS  
 T  
 YQSQKYQAEFFMGPV TSAHAGTYRCYGSQSSKPYLLT

Аминокислотная последовательность ILT4 человека с подчеркнутой предсказанной сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:8)

MTPIVTVLICLGLSLGPRTHVQTGTIPKPTLWAEPDSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRL  
 YREKKSASWITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLMVTG  
 A  
 YPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAI  
 FSVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGE  
 S  
 LTLQCVSDVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYG  
 AH  
 NLSSECSAPSDPLDILITGQIRGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKAG  
 AADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTYRCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVVSG  
 PSMGSSPPPTGPISTPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVVLLLLLLLLLFL  
 LILRHRRQGKHWSTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVK  
 DTQ  
 PEDGVEMDTRAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEREPPAEPSIYATLAIH

Аминокислотная последовательность ILT4 человека без предсказанной сигнальной последовательности (SEQ ID NO:9)

QTGTIPKPTLWAEPDSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELVKNG  
 QFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLMVTGAYPKPTLSAQSPVVTSGGRV  
 T  
 LQCESQVAFGGFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSHRCYGYDL  
 NSPYVWSSPSDLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEG  
 E  
 RDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSSECSAPSDPLDILITGQI  
 RGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEF  
 PMSPVTSAHAGTYRCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVVSGPSMGSSPPPTGPISTPAGPED  
 QPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVVLLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWSTSTQRKADF  
 QHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKDTQPEDGVEMDTRAAASEAPQ  
 DVT  
 YAQLHSLTLRRKATEPPPSQEREPPAEPSIYATLAIH

Внеклеточный домен ILT4 человека (AK 22-461) (SEQ ID NO:10)

QTGTIPKPTLWAEPDSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELVKNG  
QFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQPSVVVTSGGRV  
T

LQCESQVAFGGFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSHRCYGYDL  
NSPYVWSSPSDLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEG  
E

RDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPLDILITGQI  
RGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEF  
PMSPV TSAHAGTYRCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVVSGPSMGSSPPPTGP ISTPAGPED  
QPLTPTGSDPQSG LGRHLGV

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 1 типа C2 ILT4 человека (AK  
27-110) (SEQ ID NO:11)

PKPTLWAEPDSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELVKNGQFHIP  
SITWEHTGRYGCQYYSRARWSELS

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 2 типа C2 ILT4 человека (AK  
111-229) (SEQ ID NO:12)

DPLVLVMTGAYPKPTLSAQPSVVVTSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEGEEHPQCLNS  
Q  
PHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLELLVPGVSKKPSLSV

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 3 типа C2 ILT4 человека (AK  
230-318) (SEQ ID NO:13)

QPGPVVAPGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSR  
S  
YGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPLDILIT

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 4 типа C2 ILT4 человека (AK  
330-419) (SEQ ID NO:14)

QPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTS  
A  
HAGTYRCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVVS

Аминокислотная последовательность ILT2 макака-резуса с подчеркнутой предсказанной сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:15)

MTPILMVLICLGLSLGSRTRVQAGTFPKPTLWAEPGSMISKGSPVTLRCQGSLPVQDYRL  
QREKKTASWVRRIQQELVKKGYFPIASITSEHAGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLELVVTG  
 A  
 YSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQCDSQVAXGGFVLCKEGEDEHPQCLNSQPHTRGSSRA  
 V  
 FSVGVPVSPSRRWSYRCYGYDSRSPYVWSLPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGD  
 K  
 LTLQCGSDAGYNRFALYKEGERDFLQRPGRQPQAGLSQANFLLDPVRRSHGGQYRCSG  
 AH  
 NLSSEWSAPSDPLDILIAGQIRGRPSLLVQPGPTVVSGENVTLQCSSWQFHVLLTQAG  
 ADAHLHLRSMYKYPKYQAEFPMSPV TSAHAGTYRCY GSHSSDSYLLSIPSDPLELVVS  
 G  
 PSGGPSPTTGPTSTCGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVTGVLVAFVLLLFLLLLFL  
 VLRHRRQGKRWTS AQRKADFQHPAGAVEPEPRDRGLQRRSSPAANTQEENLYAAVKD  
 TQP  
 EDGVELDSRSPHDEDPAVTYARVKHSRPREMASPPSPLSEEFLDTKDTQAAASEDPQ  
 D  
 VTYAQLQSLTLRRETTEPPPSQEREPPESSYATLTIH

Аминокислотная последовательность ILT2 макака-резуса без предсказанной сигнальной последовательности (SEQ ID NO:16)

GTFPKPTLWAEPGSMISKGSPVTLRCQGSLPVQDYRLQREKKTASWVRRIQQELVKKGY  
 F  
 PIASITSEHAGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLELVVTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQ  
 CDSQVAXGGFVLCKEGEDEHPQCLNSQPHTRGSSRAVFSVGVPVSPSRRWSYRCYGYDS  
 RS  
 PYVWSLPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQCGSDAGYNRFALYKEGER  
 D  
 FLQRPGRQPQAGLSQANFLLDPVRRSHGGQYRCSGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQIRG  
 RPSLLVQPGPTVVSGENVTLQCSSWQFHVLLTQAGAADAHLHLRSMYKYPKYQAEF  
 PM  
 SPV TSAHAGTYRCY GSHSSDSYLLSIPSDPLELVVSGPSGGPSPTTGPTSTCGPEDQPL

TPTGSDPQSGLGRHLGVVTGVLVAFVLLLFLLLLFLVLRHRRQGKRWTS AQRKADFQ  
 HP  
 AGAVEPEPRDRGLQRRSSPAANTQEENLYAAVKDTQPEDGVELDSRSPHDEDPQAVTY  
 AR  
 VKHSRPRREMASPPSPLSEEF LDTKDTQAAASEDPQDVTYAQLQSLTLRRETTEPPPSQE  
 REPPVESSYATLTIH

Внеклеточный домен ILT2 макака-резуса (AK 24-460) (SEQ ID NO:17)

GTFPKPTLWAEPGSMISKGSPVTLRCQGSLPVQDYRLQREKKTASWVRRIQQELVKKGY  
 F  
 PIASITSEHAGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLELVVTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQ  
 CDSQVAXGGFVLCKEGEDEHPQCLNSQPHTRGSSRAVFSVGPVSPSRRWSYRCYGYDS  
 RS  
 PYVWSLPSDLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQCGSDAGYNRFALYKEGER  
 D  
 FLQRPGRQPQAGLSQANFLLDPVRRSHGGQYRCSGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQIRG  
 RPSLLVQPGPTVVSGENVTLQCSSWQFHVLLTQAGAADAHLHLRSMYKYPKYQAEF  
 PM  
 SPV TSAHAGTYRCYGS SHSSDSYLLSIPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTCGPEDQPL  
 TPTGSDPQSGLGRHLGV

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 1 типа C2 ILT2 человека (AK 27-114) (SEQ ID NO:18)

PKPTLWAEPGSMISKGSPVTLRCQGSLPVQDYRLQREKKTASWVRRIQQELVKKGYFPI  
 A  
 SITSEHAGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLE

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 2 типа C2 ILT2 человека (AK 115-220) (SEQ ID NO:19)

LVVTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQCDSQVAXGGFVLCKEGEDEHPQCLNSQP  
 H  
 TR  
 GSSRAVFSVGPVSPSRRWSYRCYGYDSRSPYVWSLPSDLELLVPG

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 3 типа C2 ILT2 человека (AK 221-311) (SEQ ID NO:20)

VSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQCGSDAGYNRFALYKEGERDFLQRPGRQPQAGLSQ  
AN  
FLLDPVRRSHGGQYRCSGAHNLSSEWSAPSD

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 4 типа C2 ILT2 человека (AK  
312-408) (SEQ ID NO:21)

PLDILIAGQIRGRPSLLVQPGPTVVSGENVTLLCQSSWQFHVLLTQAGAADAHLHLRSM  
YKYPKYQAEFPMSPV TSAHAGTYRCYGS HSSDSYLLS

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 27F9 (SEQ ID  
NO:125)

QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVSWVRQPPGKGLEWLGIIWGDGSTNY  
H  
SALISRLSISKDNSKSQVFLKLNLSLQADDTATYYCAKPNWDTYAMDFWGQGTSVTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи 27F9 (SEQ ID  
NO:126)

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLN WYQQKPDGTVKLLIYCTSKLHSGVPS  
RFSGSGSETDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPPTFGGGTKLEII

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 47C8 (SEQ ID  
NO:127)

EVQLQQSGPDLVKPGASVKISCKASGYSFTGYMHVVKQSHGKSLEWIGRVYPNNGD  
TSY  
NQKFKVKAILTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARGATVVESLFAYWGQGLVTV  
SA

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи 47C8 (SEQ ID  
NO:128)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNNFLHWYQQKPGQP KLLIYRTSNLES  
GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQSNEDPYTFGGGKLEIK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 48A5 (SEQ ID  
NO:129)

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYIGEP  
IY  
ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDMATYFCARRSDYDGYAMDYWGQGTSVT  
VSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи 48A5 (SEQ ID  
NO:130)

DIVMSQSPSSLAVSVGERVTMSCKSSQSLLYSGNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIYWAS  
TR  
ESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLAVYYCQQHDSYPTFGGGSRLK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 47H6 (SEQ ID  
NO:131)

EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYMNWVKQSHGKSLEWIGDFNPNGGT  
TY  
NQKFEGKATLTVDKSSNTAYMDLRSLTSEDSAVYYCARGRFYYGSLYSFDYWGQGTTL  
TVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи 47H6 (SEQ ID  
NO:132)

DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQKSPHLLVYNAKTLADGV  
PS  
RFSGSGSGTQYSLKINNLQPEDFGSYYCQHFWSITFGAGTKLDLK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи Hz47H6.v2 (SEQ  
ID NO:133)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYMNWVRQAPGQRLEWIGDFNPNA  
GTTYN  
QKFEGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGRFYYGSLYSFDYWGQGLVT  
VSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи Hz47H6.v2 (SEQ  
ID NO:134)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLADGVP  
SR

FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFWTSITFGPGTKVDIK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 51A1 (SEQ ID NO:135)

EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKSSNY  
AT  
YYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRDGIYYYYGTMYYYAMDY  
WGQG  
TSVTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи 51A1 (SEQ ID NO:136)

NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGNSFMWYQQKPGQPPKLLIYFASNLES  
GVPARFSGSGSRTDFLTIDPVEAADAASYCQNNEDPWTFGGGKLEIK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 64A12 (SEQ ID NO:137)

EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKSSNY  
AT  
YYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRDGIYYYYDTMYYYAMDY  
WGQG  
TSVTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи 64A12 (SEQ ID NO:138)

NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGNSFIYWYQQKPGQPPKLLIYFASNLES  
GVPARFSGSGSRTDFLTIDPVEAADAASYCQNNEDPWTFGGGKLEIK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи Hz64A12 (SEQ ID NO:139)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKSSNY  
AT  
YYADSVKDRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIYYYYDTMYYYAMDY  
WGQG  
TLVTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи Hz64A12 (SEQ ID NO:140)

NIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDYYGNSFIYWYQKPKGQPPKLLIYFASNLES  
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEDPWTFGGGKVEIK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 73C4 (SEQ ID NO:141)

AVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGNVNPNNGG  
TSY  
NQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARREIYFYGTIYYYAMDYWGQG  
TS  
VTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи 73C4 и 73D1 (SEQ ID NO:142)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDYYGNSFMWYQKPKGRRPPNLLIYFASNLES  
GVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNNEDPWTFGGGKLEIK

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи 73D1 (SEQ ID NO:143)

AVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYINWVKQSHGKSLQWIGNVNPNDGGT  
TY  
NQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARREIYFYGTIYYYAMDYWGQG  
TS  
VTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи Hz73D1.v1 (SEQ ID NO:144)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGNVNPNDG  
GTTY  
NQKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDAVYYCARREIYFYGTIYYYAMDYWGQ  
GTL  
VTVSS

Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи Hz73D1.v1 (SEQ ID NO:145)

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASESVDYYGNSFMYWYQQKPGKAPKLLIYFASNLES  
GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQNNEPWTFGGGTKVEIK

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи vHz47H6.v2 с подчеркнутой сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:146)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIM  
NWVR

QAPGQRLEWIGDFNPNNAGTTYNQKFEGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDYAVYYC  
AR

GRFYYGSLYSFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE  
P

VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD  
K

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  
APIE

KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK  
T

TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

Аминокислотная последовательность легкой цепи Hz47H6.v2 с подчеркнутой сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:147)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWY  
QQ

KPGKAPKLLIYNAKTLADGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFWTSITFG  
PGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN

S

QESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи Hz47H6.v2 без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:148)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMNWVRQAPGQRLEWIGDFNPNNAG  
TTY

NQKFEGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGRFYYGSLYSFDYWGQGLV  
 TV  
 SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ  
 SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL  
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE  
 Q  
 YGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
 R  
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK  
 S  
 RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Аминокислотная последовательность легкой цепи Hz47H6.v2 без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:149)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASGNIHNYLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLADGVP  
 S  
 RFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQHFWSITFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPS  
 DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTL  
 TL  
 SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи Hz64A12 с подчеркнутой сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:150)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMH  
 WVR  
 QAPGKGLEWVARIRSKSSNYATYYADSVKDRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVY  
 YC  
 ARDGIYYYDTMYYYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV  
 KD  
 YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN  
 TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH  
 EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN  
 NKAL  
 PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE

NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG  
K

Аминокислотная последовательность легкой цепи Hz64A12 с подчеркнутой сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:151)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCNIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDYYGNSFI  
Y  
WYQQKPGQPPKLLIYFASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNE  
D  
PWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
L  
QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE  
C

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи Hz64A12 без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:152)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVARIRSKSSNY  
AT  
YYADSVKDRFTISRDDAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIYYDYDTMYYYAMDY  
WGQG  
TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP  
APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT  
K  
PREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV  
YT  
LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL  
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Аминокислотная последовательность легкой цепи Hz64A12 без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:153)

NIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDYYGNSFIYWYQQKPGQPPKLLIYFASNLES  
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEPWTFGGGKVEIKRTVAAPSV  
F

IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL  
S  
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи Hz73D1.v1 с подчеркнутой сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:154)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYIN  
WVR  
QAPGQGLEWMGNVNPNDGGTTYNQKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVY  
YCAR  
REIFYGTIYYYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY  
F  
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK  
VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED  
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK  
ALPA  
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN  
YKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Аминокислотная последовательность легкой цепи Hz73D1.v1 с подчеркнутой сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:155)

MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASESVDYYGNSFM  
Y  
WYQQKPGKAPKLLIYFASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQNED  
PWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA  
L  
QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE  
C

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи Hz73D1.v1 без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:156)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGQGLEWMGNVNPNDG  
TTY  
NQKFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARREIFYGTIYYYAMDYWGQ  
GTL

VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA  
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP  
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP  
 R  
 EEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY  
 LP  
 PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT  
 V  
 DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Аминокислотная последовательность легкой цепи Hz73D1.v1 без сигнальной последовательности (SEQ ID NO:157)

DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASESVDYYGNSFMWYQQKPKGKAPKLLIYFASNLES  
 GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQNNEDPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVF  
 IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSL  
 S  
 STLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Константная область IgG1 человека (SEQ ID NO:158)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
 N  
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE  
 E  
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 W  
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константная область E233A/L235A IgG1 человека (SEQ ID NO:159)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPALAG  
 G  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
 N

STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE  
 E  
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 W  
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константная область L234A/L235A IgG1 человека (SEQ ID NO:160)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA  
 VLQSS  
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP  
 EAAGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP  
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
 PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS  
 DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константная область L234A/L235A/P329G IgG1 человека (SEQ ID NO:161)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA  
 VLQSS  
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP  
 EAAGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP  
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPRE  
 PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS  
 DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константная область N297G IgG1 человека (SEQ ID NO:162)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
 G  
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE  
 E  
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 W

QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Константная область N297G/H310A IgG1 человека (SEQ ID NO:163)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS  
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
G  
STYRVVSVLTVLAQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE  
E  
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
W  
QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Человеческая константная область легкой цепи каппа (SEQ ID NO:164)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ  
D  
SKDSTYLSSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Константная область легкой цепи лямбда человека (SEQ ID NO:165)

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPS  
K  
QSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

Аминокислотная последовательность ILT2 яванского макака с подчеркнутой  
предсказанной сигнальной последовательностью (SEQ ID NO:166)

MTPILMVLICLGLSLGPRTHVQAGILPKPTLWAEPGSMISEGSPVTLRCQGSLQVQEYRL  
YREKKPASWVRRIQQELVKKGYFAIGFITWEHTGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLELVVT  
GA  
YSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQCDSQVAFDSFTLCKEGEDEHPQRLNCQSHARGWSW  
AV  
FSVGPVSPRRWSYRCYGYISSAPNVWVSLPSDLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGDK  
LTLQCGSDAGYDRFALYKEGEGDFLQRPVRQPQAGLSQANFLLGPVSRSHGGQYRCSG  
AH  
NLSSEWSAPSDPLDILIAGQIRGRPFLSVQPGPKVVSGENVTLQCSSWQFHAFLLTQAG

ADAHLHLRSMYKYPKYQAEFPMSPV TSAHAGTYRCYGSRSSNPYLLSVPSDPLELVVS  
 G  
 PSGGPSSPTTGPTSTCAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVTGILVAFVLLLFLLLL  
 LVLRHQRQGGKHWTS AQRKADFQHPAGAVEPEPRDRGLQRRSSPAADTQEENLYAAVK  
 DTQ  
 PEDGVELDSRQRPHDEDPQAVTYARVKHSRPRREMASPPSPLSEEFLDTKDTQAEEDRQ  
 M  
 DTEAAASEDPQDVTYAQLQSLTLRRETTEPPPSQERAPPVESSYATLTIH

Аминокислотная последовательность ILT2 яванского макака без предсказанной сигнальной последовательности (SEQ ID NO:167)

GILPKPTLWAEPGSMISEGSPVTLRCQGS LQVQEYRLYREKKPASWVRRIQQELVKKGYF  
 AIGFITWEHTGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLELVVTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQ  
 CDSQVAFDSFTLCKEGEDEHPQRLNCQSHARGWSWAVFSVGPVSPSRRW SYRCYGYISS  
 A  
 PNVWSLPSDLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQCGSDAGYDRFALYKEGEG  
 D  
 FLQRPVRQPQAGLSQANFLLGPVSRSHGGQYRCSGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQIRG  
 RPFLSVQPGPKVVS GENVTLLCQSSWQFHAFLLTQAGA ADAHLHLRSMYKYPKYQAEFP  
 M  
 SPV TSAHAGTYRCYGSRSSNPYLLSVPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTCAGPEDQP  
 LTPTGSDPQSGLGRHLGVVTGILVAFVLLLFLLLLFLVL RHQRQGGKHWTS AQRKADFQH  
 PAGAVEPEPRDRGLQRRSSPAADTQEENLYAAVKDTQPEDGVELDSRQRPHDEDPQAVT  
 Y  
 ARVKHSRPRREMASPPSPLSEEFLDTKDTQAEEDRQMDTEAAASEDPQDVTYAQLQSLTL  
 RRETTEPPPSQERAPPVESSYATLTIH

Внеклеточный домен ILT2 яванского макака (AK 24-461) (SEQ ID NO:168)

GILPKPTLWAEPGSMISEGSPVTLRCQGS LQVQEYRLYREKKPASWVRRIQQELVKKGYF  
 AIGFITWEHTGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLELVVTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNVTL  
 Q  
 CDSQVAFDSFTLCKEGEDEHPQRLNCQSHARGWSWAVFSVGPVSPSRRW SYRCYGYIS  
 SA  
 PNVWSLPSDLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQCGSDAGYDRFALYKEGEG  
 D

FLQRPVRQPQAGLSQANFLLGPVSRSHGGQYRCSGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQIRG  
 RPFLSVQPGPKVVSGENVTLQCSSWQFHAFLLTQAGAADAHLHLRSMYKYPKYQAEF  
 PM  
 SPV TSAHAGTYRCYGSRSSNPYLLSVPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTCAGPEDQP  
 LTPTGSDPQSGLGRHLGV

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 1 типа C2 ILT2 человека (АК  
 27-114) (SEQ ID NO:169)

PKPTLWAEPPGSMISEGSPVTLRCQGSQVQYRLYREKKPASWVRRIQQELVKKGYFAI  
 G  
 FITWEHTGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLE

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 2 типа C2 ILT2 человека (АК  
 115-220) (SEQ ID NO:170)

LVVTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQCDSQVAFDSFTLCKEGEDEHPQRLNCQSHA  
 R  
 GWSWAVFSVGPVSPSRRWSYRCYGYISSAPNVWVSLPSDLLELLVPG

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 3 типа C2 ILT2 человека (АК  
 221-311) (SEQ ID NO:171)

VSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQCGSDAGYDRFALYKEGEGDFLQRPVRQPQAGLSQ  
 AN  
 FLLGPVSRSHGGQYRCSGAHNLSSEWSAPSD

Аминокислотная последовательность Ig-подобного домена 4 типа C2 ILT2 человека (АК  
 312-408) (SEQ ID NO:172)

PLDILIAGQIRGRPFLSVQPGPKVVSGENVTLQCSSWQFHAFLLTQAGAADAHLHLRS  
 MY  
 KYPKYQAEFPMSPV TSAHAGTYRCYGSRSSNPYLLS

Гексагистидиновая пептидная метка (SEQ ID NO:173)

НННННН

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Связывающий агент, содержащий антигенсвязывающий домен, причем антигенсвязывающий домен специфически связывается как с иммуноглобулин-подобным транскриптом 2 человека (ILT2 – англ.: immunoglobulin-like transcript 2), так и с иммуноглобулин-подобным транскриптом 4 человека (ILT4).
2. Связывающий агент по п. 1, в котором антигенсвязывающий домен содержит:
  - (1) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR1), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR2) и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR3) из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:144; и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR1), CDR2 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR2) и CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR3) из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:145;
  - (2) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR1), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR2) и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR3) из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:139; и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR1), CDR2 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR2) и CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR3) из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:140;
  - (3) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR1), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR2) и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR3) из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:133; и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR1), CDR2 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR2) и CDR3 вариабельной области легкой цепи (VL-CDR3) из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:134;
  - (4) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR1), CDR2 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR2) и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи (VH-CDR3) из



вариабельной области легкой цепи (VL-CDR3) из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:142.

3. Связывающий агент по п. 2, в котором:

(1) вариабельная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:115, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:112, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; и вариабельная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:89, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:91;

(2) вариабельная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:111, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:112, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; и вариабельная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:89, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:91;

(3) вариабельная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:76, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:113, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:107; и вариабельная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:89, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:91;

(4) вариабельная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:111, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:114, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107; и вариабельная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:89, VL-CDR2, имеющую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO:90, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:91; или

(5) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:116, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:124, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110; и переменная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:99, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:100, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:101.

4. Связывающий агент по п. 2, в котором:

- (1) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности любого из пяти определений CDR, указанных в таблице 6B;
- (2) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности любого из пяти определений CDR, указанных в таблице 4B; (3) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности любого из пяти определений CDR, указанных в таблице 8A;
- (4) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности любого из пяти определений CDR, указанных в таблице 4A;
- (5) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности любого из пяти определений CDR, указанных в таблице 6A;
- (6) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности любого из пяти определений CDR, указанных в таблице 5; или

(7) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности любого из пяти определений CDR, указанных в таблице 7.

5. Связывающий агент по п. 2 или п. 3, в котором:
  - (a) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:144;
  - (b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:145; или
  - (c) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:144, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности последовательности с SEQ ID NO:145.
6. Связывающий агент по п. 5, в котором переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 144.
7. Связывающий агент по п. 5 или п. 6, в котором переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145.
8. Связывающий агент по п. 4, в котором:
  - (a) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с любой из последовательностей, указанных в SEQ ID NO: 139, 133, 143, 131, 137, 135 или 141;
  - (b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с любой из последовательностей, указанных в SEQ ID NO:140, 134, 142, 132, 138, 136 или 142; или



содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:142.

9. Связывающий агент по п. 8, в котором переменная область тяжелой цепи содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 139, 133, 143, 131, 137, 135 или 141.

10. Связывающий агент по п. 8, в котором переменная область легкой цепи содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 140, 134, 142, 132, 138, 136 или 142.

11. Связывающий агент по п. 8, в котором:

(i) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:139, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:140;

(ii) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:133, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:134;

(iii) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:143, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142;

(iv) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:131, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:132;

(v) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:137, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:138;

(vi) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:135, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:136; или

(vii) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:141, а переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:142.

12. Связывающий агент, который специфически связывает ILT2 человека, содержащий антигенсвязывающий домен, содержащий переменную область тяжелой цепи, содержащую VH-CDR1, VH-CDR2 и VH-CDR3 из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:125; и переменную область легкой цепи, содержащую VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3 из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:126.

13. Связывающий агент по п. 12, в котором:

- (1) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:31, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и переменная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27;
- (2) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24; и переменная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27;
- (3) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:28, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24; и переменная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27;
- (4) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:30, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:24; и переменная область

легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:26, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:27; или

- (5) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:32, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:34; и переменная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:35, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:36, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:37.

14. Связывающий агент по п. 12, в котором:

- (a) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:125;
- (b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:126; или
- (c) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:125, и/или переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:126.

15. Связывающий агент по п. 12, в котором:

- (a) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:125;
- (b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:126; или
- (c) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:125, и/или переменная

область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:126.

16. Связывающий агент, который специфически связывает ILT4 человека, содержащий антигенсвязывающий домен, содержащий:

(а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH-CDR1, VH-CDR2 и VH-CDR3 из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:129; и вариабельную область легкой цепи, содержащую VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3 из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:130; или

(b) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую VH-CDR1, VH-CDR2 и VH-CDR3 из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:127; и вариабельную область легкой цепи, содержащую VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3 из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:128.

17. Связывающий агент по п. 16, в котором для (а):

(1) вариабельная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:56; и вариабельная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:59;

(2) вариабельная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:54, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:55, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:56; и вариабельная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:58, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:59;

(3) вариабельная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:60, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:56; и вариабельная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID



цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:43;

(4) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:38, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:46, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:40; и переменная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:42, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:43; или

(5) переменная область тяжелой цепи содержит VH-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:48, VH-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:49, и VH-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:50; и переменная область легкой цепи содержит VL-CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:51, VL-CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:52, и VL-CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:53.

18. Связывающий агент по п. 16, в котором:

(a) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:129; (b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:130; или (c) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:129, и/или переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:130.

19. Связывающий агент по п. 16, в котором:

(a) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:129; (b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:130; или (c) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную

последовательность, указанную в SEQ ID NO:129, и/или вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:130.

20. Связывающий агент по п. 16, в котором:

(a) вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:127;

(b) вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:128; или

(c) вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:127, и/или вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80% идентичности с последовательностью, указанной в SEQ ID NO:128.

21. Связывающий агент по п. 16, в котором:

(a) вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:127;

(b) вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:128; или

(c) вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:127, и/или вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO:128.

22. Связывающий агент по любому из пп. 1–21, который представляет собой антитело.

23. Связывающий агент по любому из пп. 1–22, который представляет собой рекомбинантное антитело.

24. Связывающий агент по любому из пп. 1–23, который представляет собой химерное антитело.

25. Связывающий агент по любому из пп. 1–23, который представляет собой гуманизированное антитело.
26. Связывающий агент по любому из пп. 1–25, который представляет собой биспецифическое антитело или полиспецифическое антитело.
27. Связывающий агент по любому из пп. 22–26, в котором антитело представляет собой фрагмент антитела, содержащий по меньшей мере один антигенсвязывающий сайт.
28. Связывающий агент по п. 27, в котором фрагмент антитела представляет собой Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, F<sub>v</sub>, scFv, (scFv)<sub>2</sub>, одноцепочечное антитело, антитело с двойной переменной областью, диатело или наноантитело.
29. Связывающий агент по любому из пп. 1–25, который представляет собой антитело IgG1, необязательно человеческое антитело IgG1, и дополнительно необязательно человеческое антитело IgG1 со сниженной эффекторной функцией или без нее.
30. Связывающий агент по любому из пп. 1–25, который представляет собой антитело IgG2, необязательно человеческое антитело IgG2.
31. Связывающий агент по любому из пп. 1–25, который представляет собой антитело IgG4, необязательно человеческое антитело IgG4.
32. Связывающий агент по любому из пп. 1–25 или 29–31, который содержит константную область легкой цепи каппа, необязательно человеческую константную область легкой цепи каппа.
33. Связывающий агент по любому из пп. 1–25 или 29–31, который содержит константную область легкой цепи лямбда, необязательно константную область легкой цепи лямбда человека.
34. Связывающий агент по любому из пп. 1–11, содержащий:
  - (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с 80% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:148, и легкую цепь,

- содержащую аминокислотную последовательность с 80% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:149;
- (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с 80% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:152, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с 80% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:153; или
  - (c) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с 80% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:156, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность с 80% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:157.
35. Антитело, которое специфически связывает ILT2 и ILT4 человека, которое содержит:
- (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:148, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149;
  - (b) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:152, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153; или
  - (c) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:156, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157.
36. Связывающий агент или антитело по любому из пп. 1–35, имеющее одно или более из следующих свойств:
- (1) связывает ILT2 макака-резуса;
  - (2) связывает ILT2 яванского макака;
  - (3) не связывает ILT3, ILT5 и LILRB5;
  - (4) не связывает LILRA2, LILRA4, LILRA5 и LILRA6;
  - (5) представляет собой антагонист ILT2;
  - (6) представляет собой антагонист ILT4;
  - (7) ингибирует активность ILT2;
  - (8) ингибирует активность ILT4;
  - (9) ингибирует сигналинг ILT2 в клетках, которые экспрессируют ILT2;
  - (10) ингибирует сигналинг ILT4 в клетках, которые экспрессируют ILT4;

- (11) ингибирует связывание ILT2 с молекулами MHC I;
  - (12) ингибирует связывание ILT4 с молекулами MHC I;
  - (13) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию миелоидных клеток;
  - (14) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию миелоидных клеток;
  - (15) ингибирует индуцируемую ILT2 супрессию активности миелоидных клеток;
  - (16) ингибирует индуцируемую ILT4 супрессию активности миелоидных клеток;
  - (17) восстанавливает активацию FcR в миелоидных клетках;
  - (18) усиливает активность NK-клеток;
  - (19) усиливает активность CTL;
  - (20) усиливает фагоцитоз макрофагов; и
  - (21) ингибирует опосредованную MDSC супрессию иммунных клеток.
37. Связывающий агент или антитело по любому из пп. 1-36, причем связывающий агент или антитело присоединены к удлиняющему период полувыведения фрагменту.
38. Антитело, которое конкурирует со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–36 за связывание с ILT2 и/или ILT4 человека.
39. Фармацевтическая композиция, содержащая связывающий агент или антитело по любому из пп. 1–38 и фармацевтически приемлемый носитель.
40. Выделенный полинуклеотид или полинуклеотиды, кодирующие связывающий агент или антитело по любому из пп. 1–39.
41. Вектор или векторы, содержащие полинуклеотид или полинуклеотиды по п. 40.
42. Выделенная клетка, содержащая полинуклеотид или полинуклеотиды по п. 40.
43. Выделенная клетка, содержащая вектор или векторы по п. 41.
44. Выделенная клетка, продуцирующая связывающий агент или антитело по любому из пп. 1–36.

45. Способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания  $\text{ILT2}$  и/или  $\text{ILT4}$  с молекулой МНС I в смеси клеток, включающий приведение клеток в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композицией по п. 39.
46. Способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой МНС I активности  $\text{ILT2}$  и/или  $\text{ILT4}$  в смеси клеток, включающий приведение клеток в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композицией по п. 39.
47. Способ по п. 45 или п. 46, в котором молекула МНС I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E и/или HLA-G.
48. Способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой  $\text{ILT2}$  супрессии миелоидных клеток, включающий приведение миелоидных клеток в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–15 и 22–38.
49. Способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой  $\text{ILT4}$  супрессии миелоидных клеток, включающий приведение клеток в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–11 и 16–38.
50. Способ нарушения, ингибирования или блокирования  $\text{ILT2}$  и/или индуцируемой  $\text{ILT4}$  супрессии миелоидных клеток, включающий приведение клеток в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–38.
51. Способ ингибирования или снижения активности миелоидных супрессорных клеток (MDSC), включающий приведение MDSC в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–38.
52. Способ усиления или увеличения активности естественных клеток-киллеров (NK), включающий приведение NK-клеток в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–38.

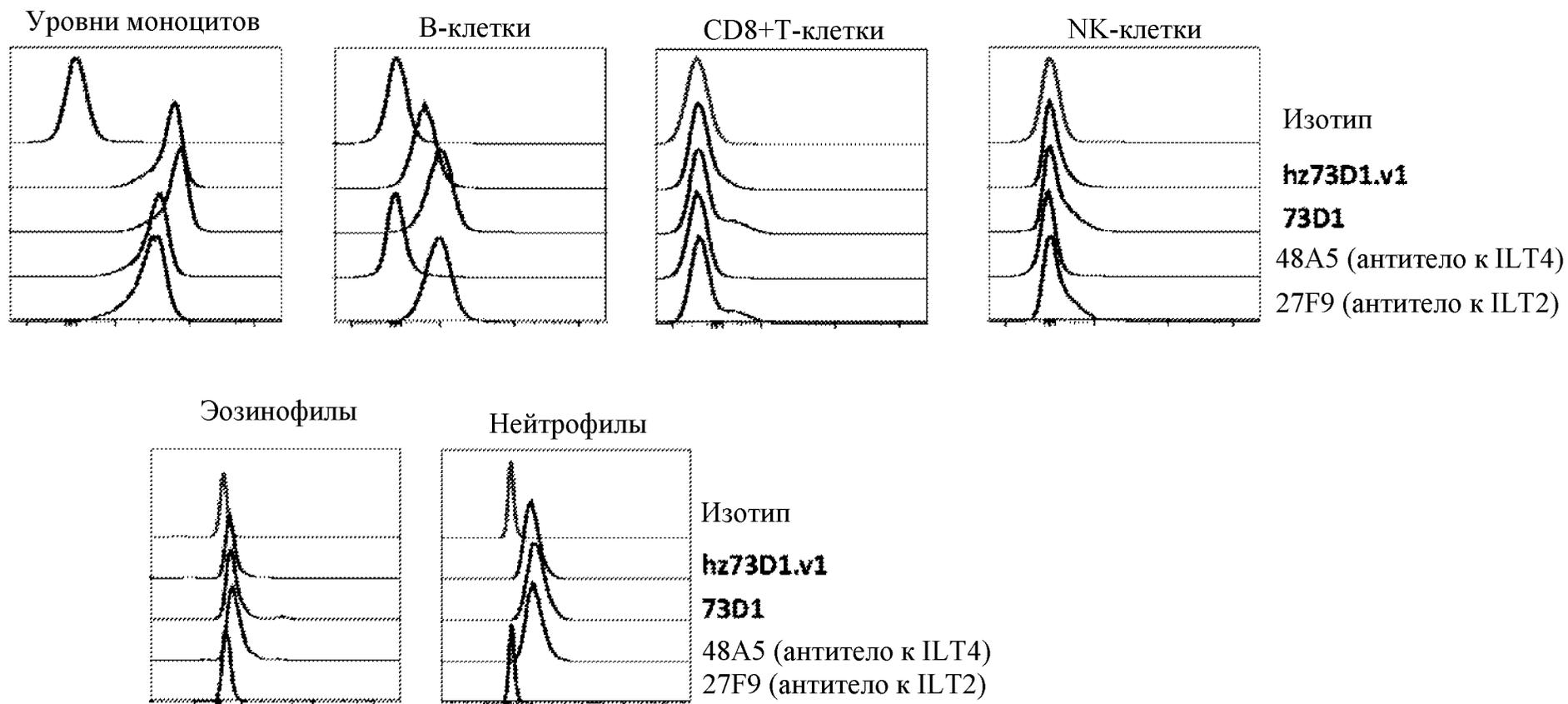
53. Способ усиления или увеличения активности цитолитических Т-лимфоцитов (CTL), включающий приведение CTL в контакт со связывающим агентом или антителом по любому из пп. 1–38.
54. Способ нарушения, ингибирования или блокирования связывания IL2 или IL4 с молекулой MHC I у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
55. Способ нарушения, ингибирования или блокирования индуцируемой MHC I активности IL2 и/или IL4 у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
56. Способ по п. 49 или п. 50, в котором молекула MHC I представляет собой HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E и/или HLA-G.
57. Способ нарушения, ингибирования или блокирования IL2 или индуцируемой IL4 супрессии миелоидных клеток у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
58. Способ ингибирования или снижения активности MDSC у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
59. Способ усиления или увеличения активности NK-клеток у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
60. Способ усиления или увеличения активности CTL у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.

61. Способ лечения злокачественного новообразования у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
62. Способ по п. 61, в котором рак представляет собой мезотелиому, глиобластому, почечно-клеточную карциному, немелкоклеточный рак легкого, меланому, аденокарциному протоков поджелудочной железы, рак желудка, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак желчных протоков, рак молочной железы, рак яичников, рак шейки матки, эндоцервикальный рак, колоректальный рак или рак пищевода.
63. Способ ингибирования роста опухоли у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
64. Способ усиления или увеличения иммунного ответа на опухоль или опухолевые клетки у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
65. Способ активации или усиления стойкого или долговременного иммунного ответа на опухоль или опухолевые клетки у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
66. Способ ингибирования рецидива опухоли или повторного роста опухоли у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
67. Способ индуцирования стойкого или долговременного иммунитета, который ингибирует рецидив опухоли или повторный рост опухоли у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.

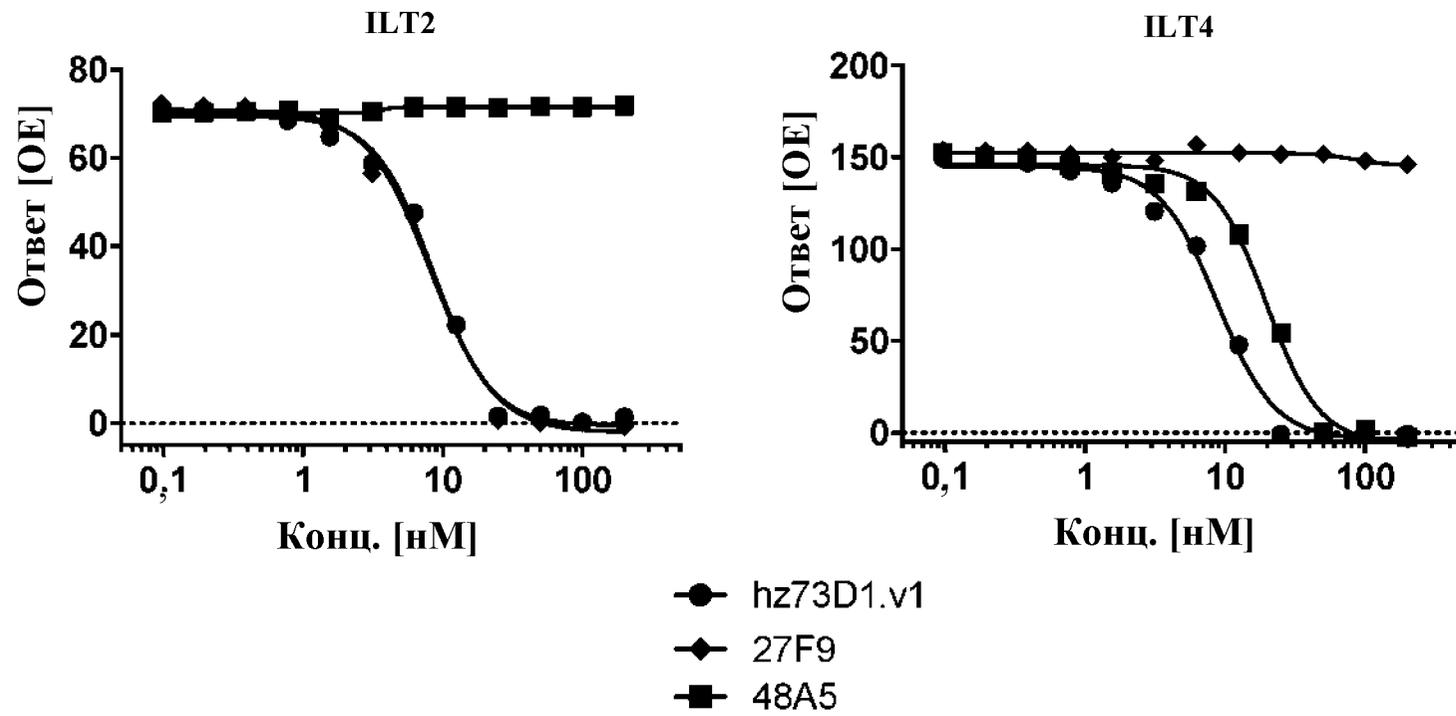
68. Способ по любому из пп. 63–67, в котором опухоль представляет собой опухоль поджелудочной железы, опухоль молочной железы, опухоль легкого, немелкоклеточную опухоль легкого, опухоль головы и шеи, колоректальную опухоль, опухоль предстательной железы, опухоль кожи, меланому, опухоль желудка, колоректальную опухоль, опухоль яичника, опухоль шейки матки, опухоль матки, опухоль эндометрия, опухоль эндоцервикса, опухоль мочевого пузыря, опухоль головного мозга, опухоль пищевода, опухоль печени, опухоль почки, почечно-клеточную опухоль, мезотелиому, глиобластому, опухоль желчных протоков или опухоль яичка.
69. Способ активации миелоидных клеток в микроокружении опухоли у субъекта с опухолью, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–38 или фармацевтической композиции по п. 39.
70. Способ по любому из пп. 36, 48–51, 57 и 69, в котором миелоидные клетки представляют собой дендритные клетки.
71. Способ по любому из пп. 36, 48–51, 57 и 69, в котором миелоидные клетки представляют собой моноциты или макрофаги.
72. Способ по любому из пп. 54–71, в котором связывающий агент или антитело вводят в виде части комбинированной терапии, включающей дополнительный терапевтический агент.
73. Способ по п. 72, в котором комбинированная терапия включает антитело к PD-1 или антитело к PD-L1.
74. Способ по п. 73, в котором комбинированная терапия включает по меньшей мере один дополнительный терапевтический агент.
75. Способ по любому из пп. 54–74, в котором субъект представляет собой человека.
76. Применение связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–39 для лечения злокачественного новообразования.

77. Применение связывающего агента или антитела по любому из пп. 1–39 в производстве лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования.
78. Фармацевтическая композиция, содержащая:
- (а) средство для ингибирования взаимодействия между ILT2 и/или ILT4 и МНС класса I (например, на опухолевых клетках); и
  - (b) фармацевтически приемлемый носитель.
79. Фармацевтическая композиция по п. 78, в которой средство для ингибирования взаимодействия между ILT2 и/или ILT4 и МНС класса I включает антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую VH-CDR1, VH-CDR-2 и VH-CDR-3, и переменную область легкой цепи, содержащую VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3 из любого из 27F9, 47C8, 48A5, 47H6, Hz47H6.v2, 51A1, 64A12, Hz64A12, 73C4, 73D1 и Hz73D1.v1.
80. Комбинация, содержащая средство для ингибирования взаимодействия между ILT2 и/или ILT4 и МНС класса I (например, на опухолевых клетках) и модулятор активности PD-1 или PD-L1.
81. Способ по п. 73, в котором антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб (MK-3475; KEYTRUDA), пидилизумаб (CT-011), ниволумаб (OPDIVO), дурвалумаб (MEDI0680), цемиплимаб (REGN2810), тислелизумаб (BGB-A317), спартализумаб (PDR-001) или STI-A1110.

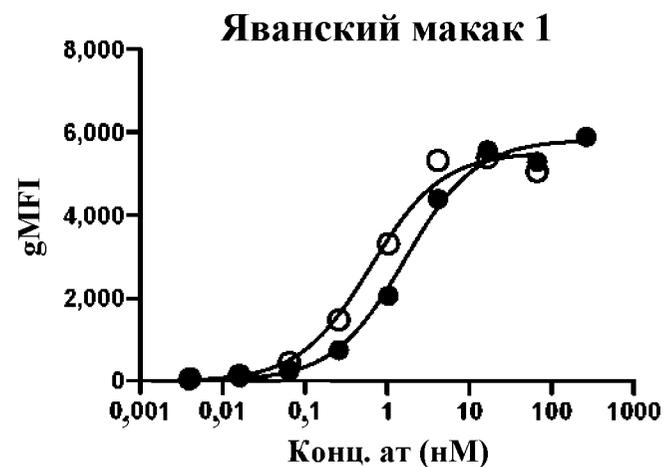
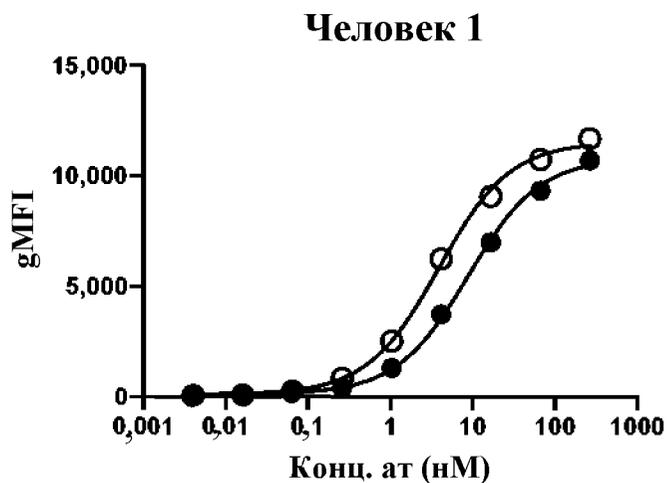
Фиг. 1



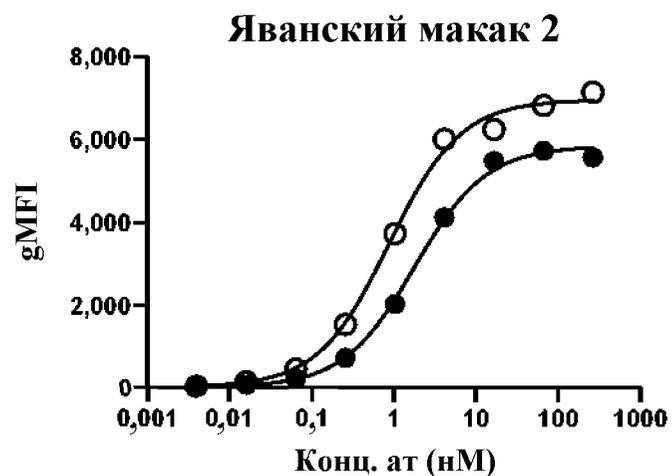
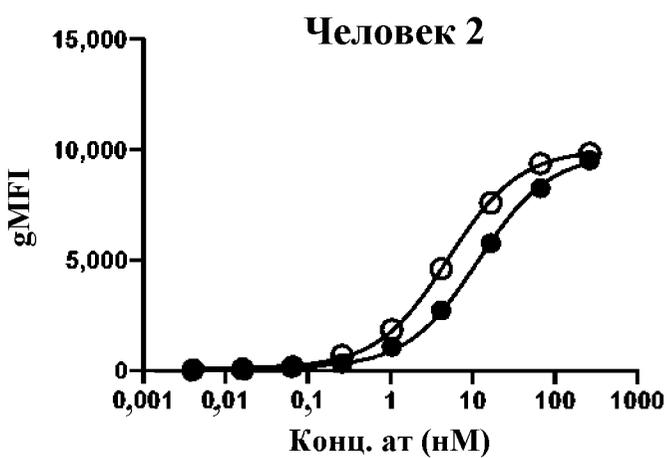
Фиг. 2



Фиг. 3

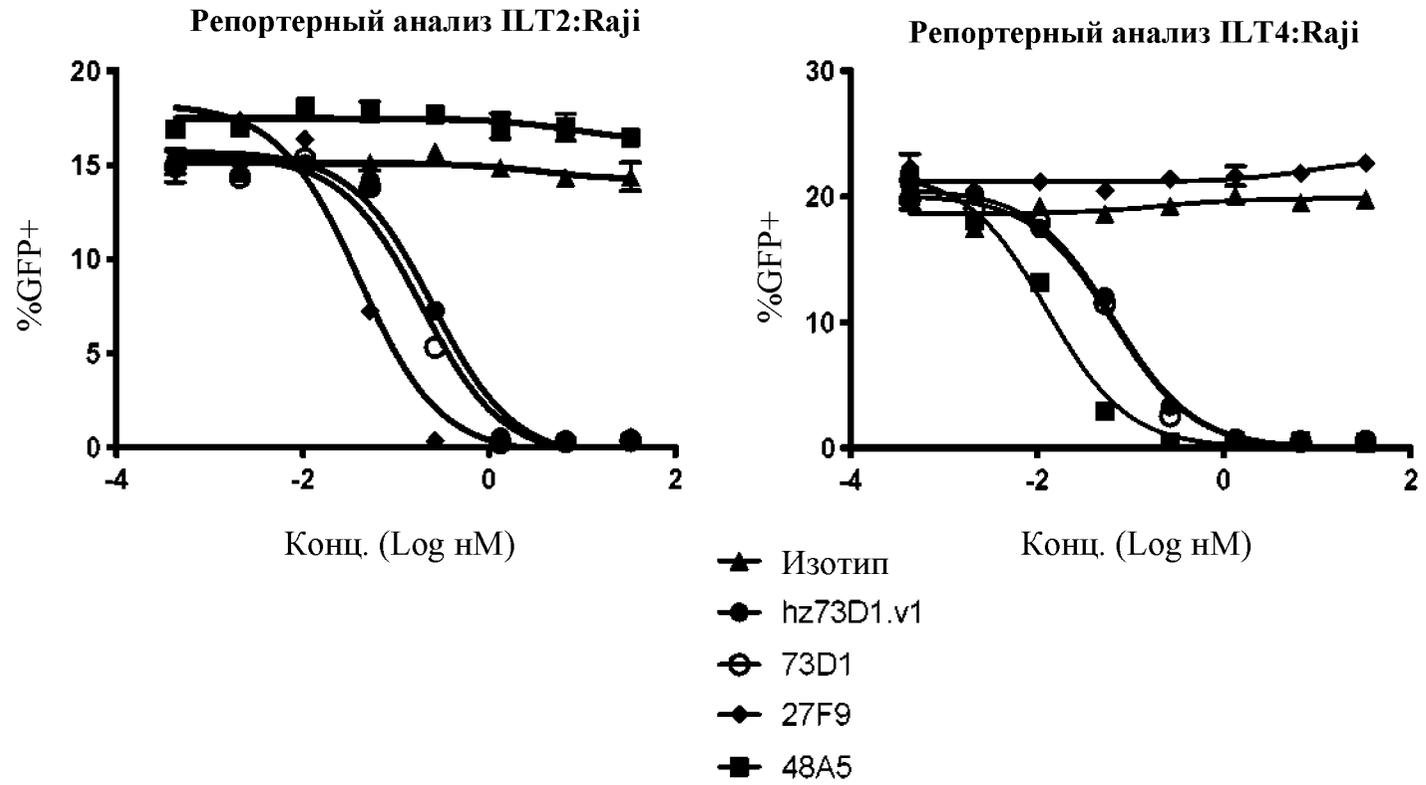


● hz73D1.v1  
○ 73D1

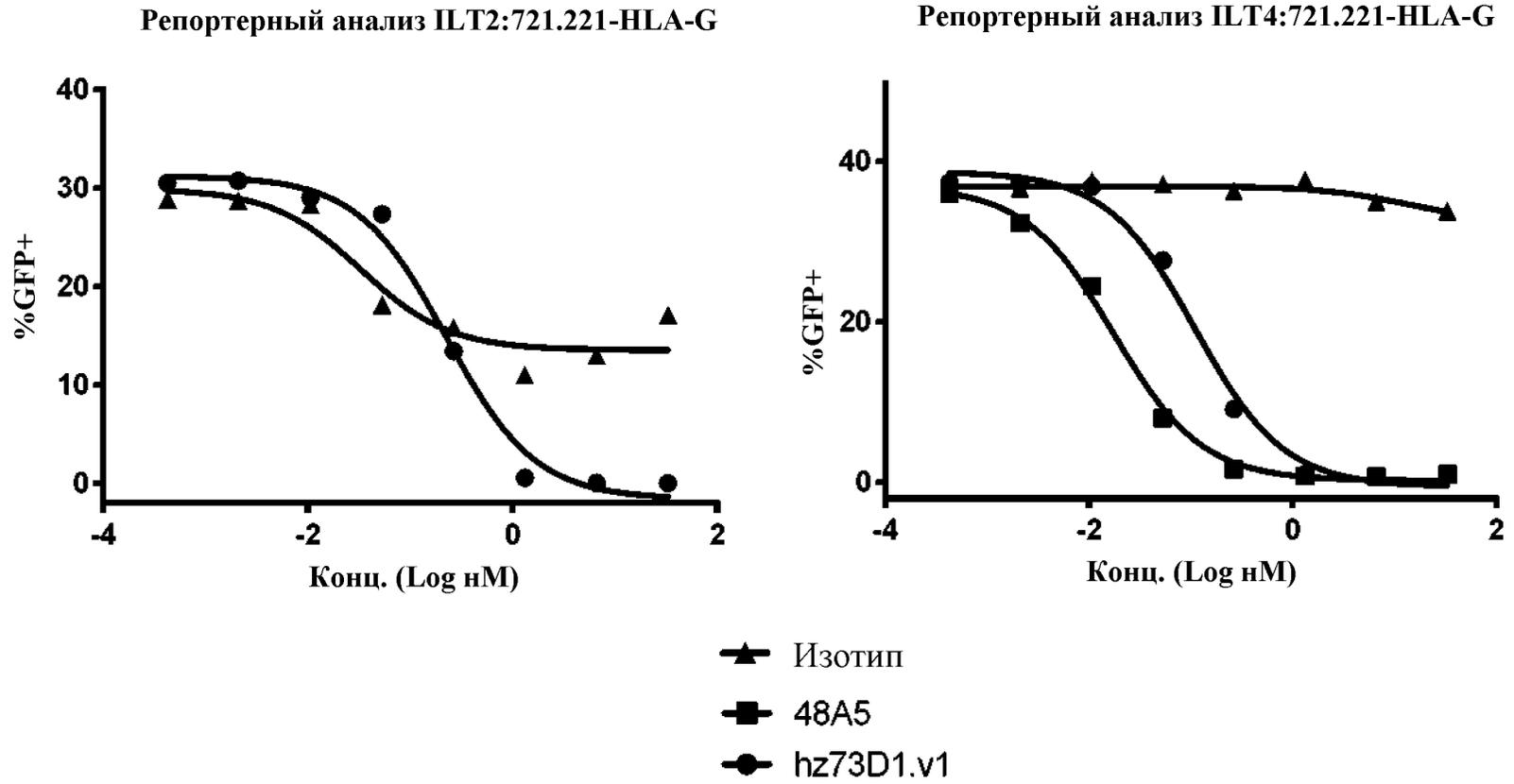


● hz73D1.v1  
○ 73D1

Фиг. 4А

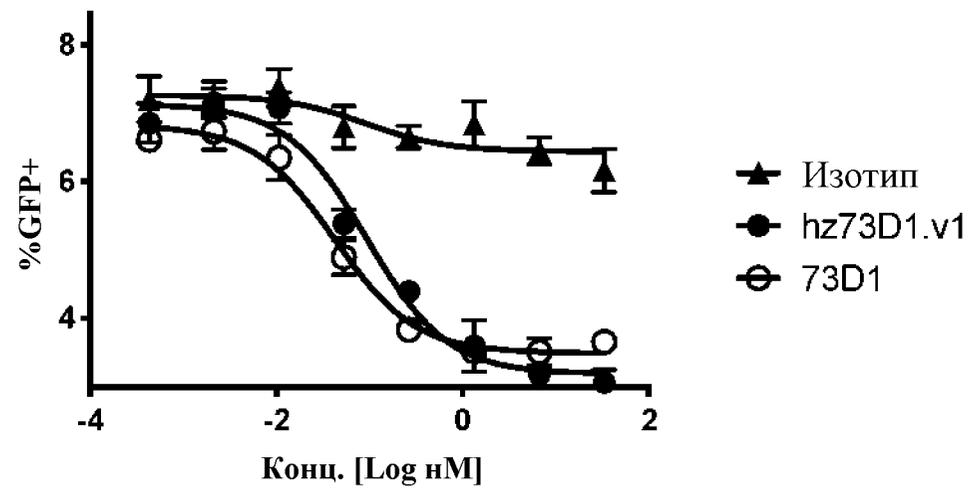


Фиг. 4В

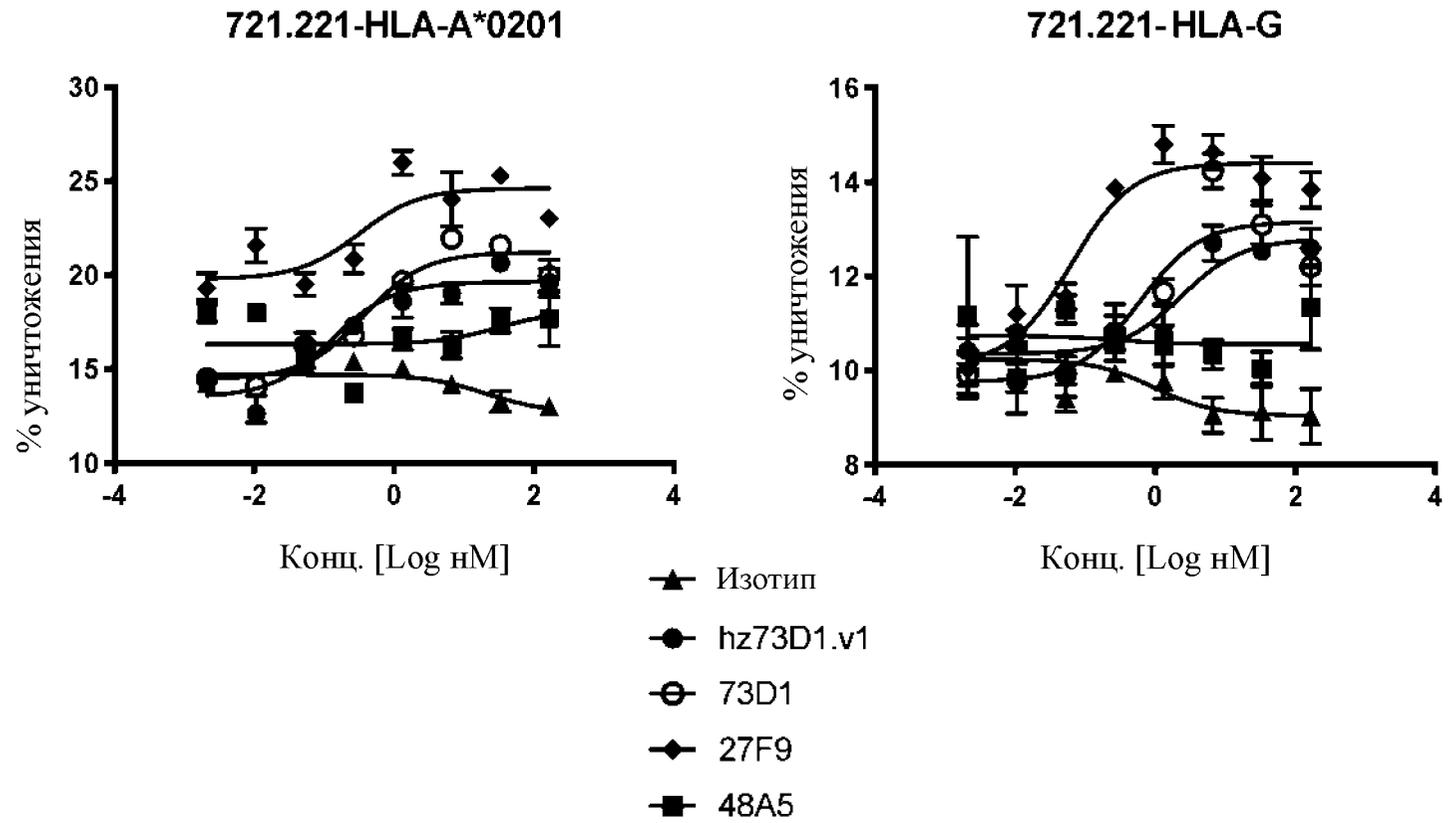


Фиг. 5

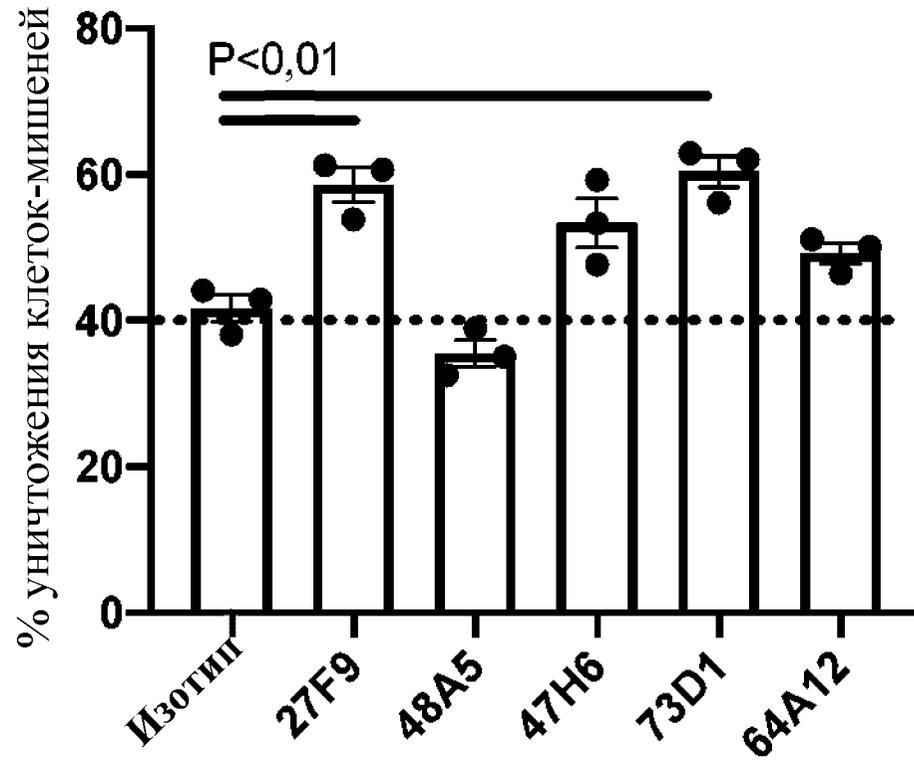
Репортерный анализ ILT2:Raji яванского макака



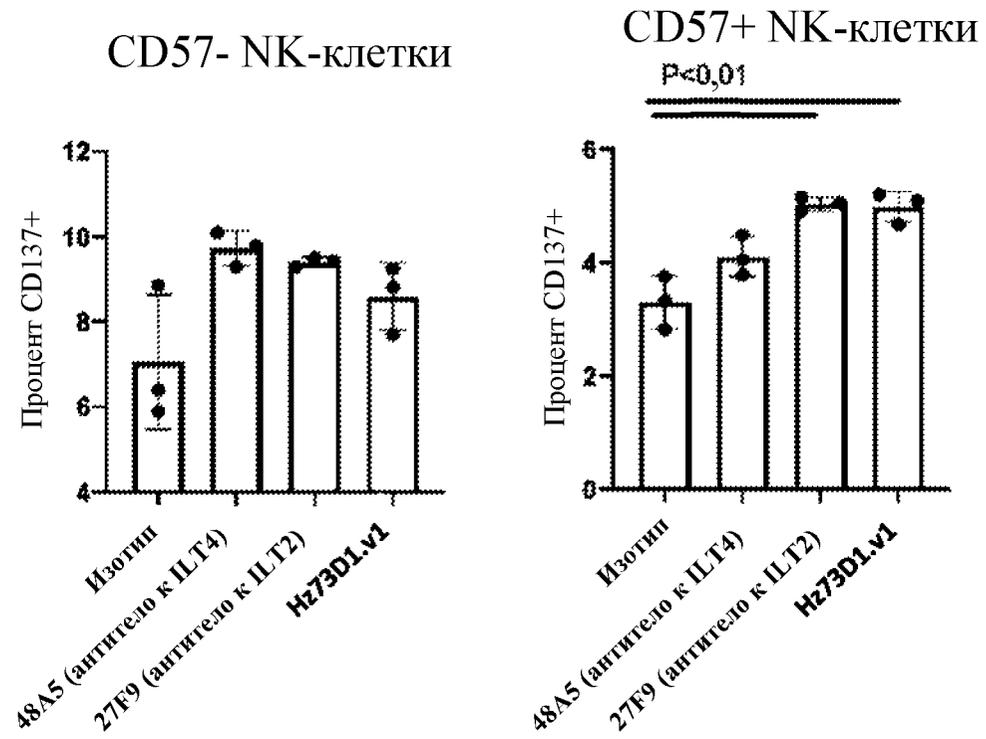
Фиг. 6



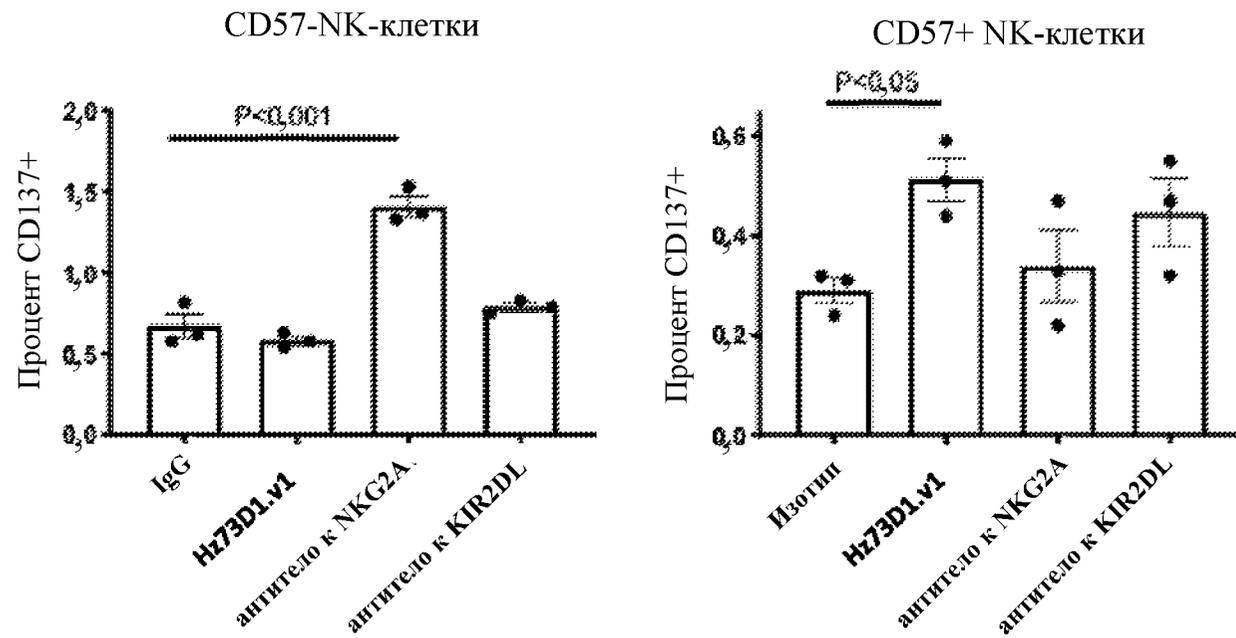
Фиг. 7



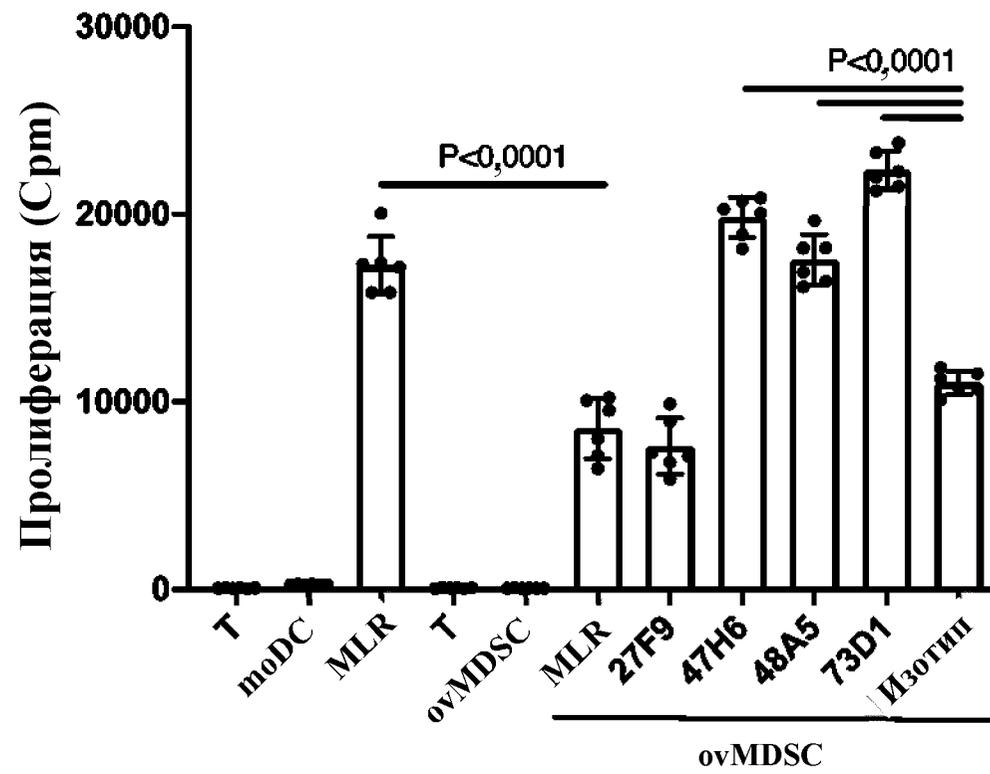
Фиг. 8



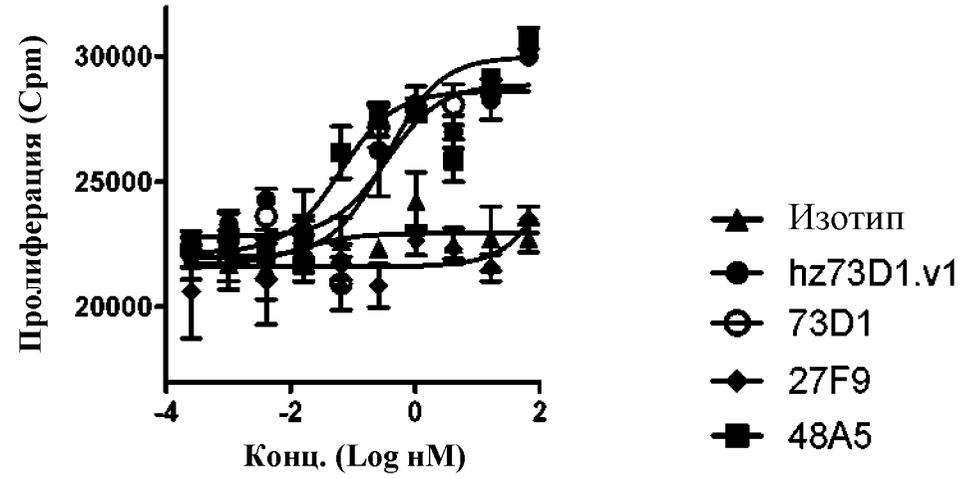
Фиг. 9



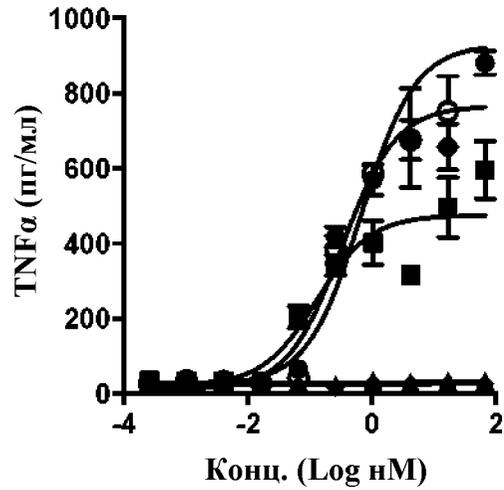
Фиг. 10



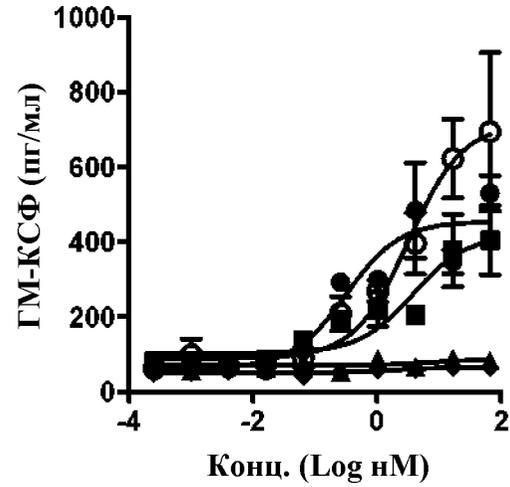
Фиг. 11А



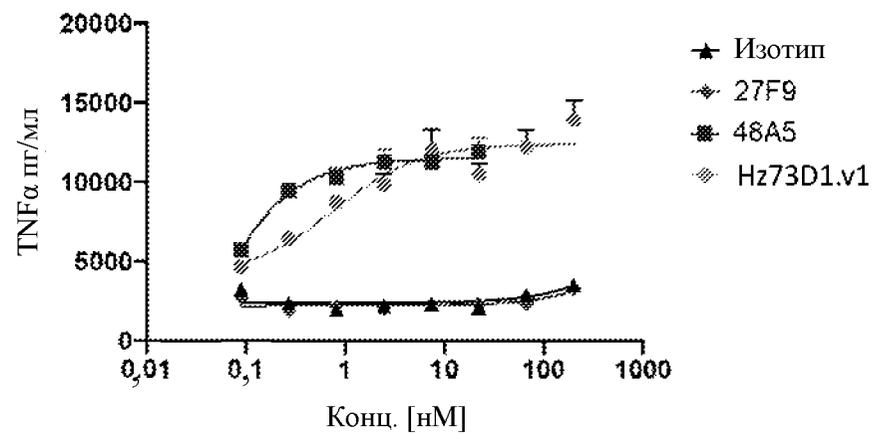
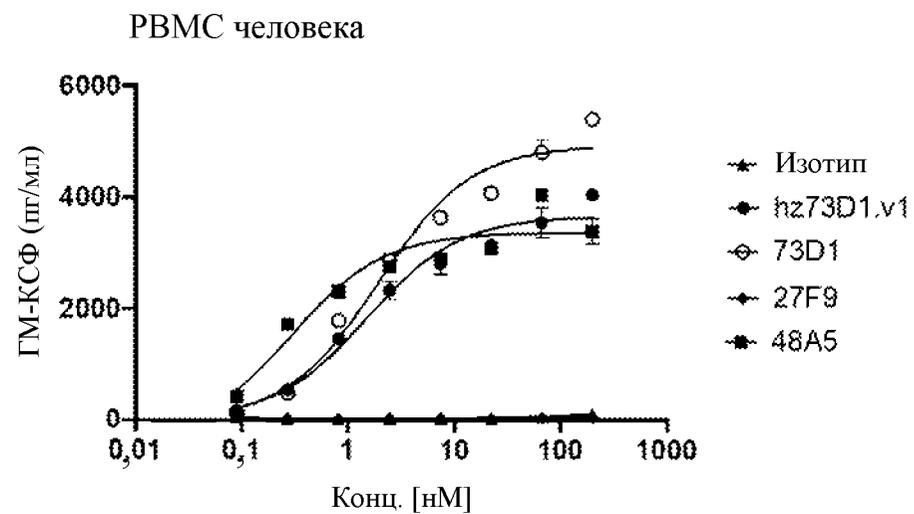
Фиг. 11В



Фиг. 11С

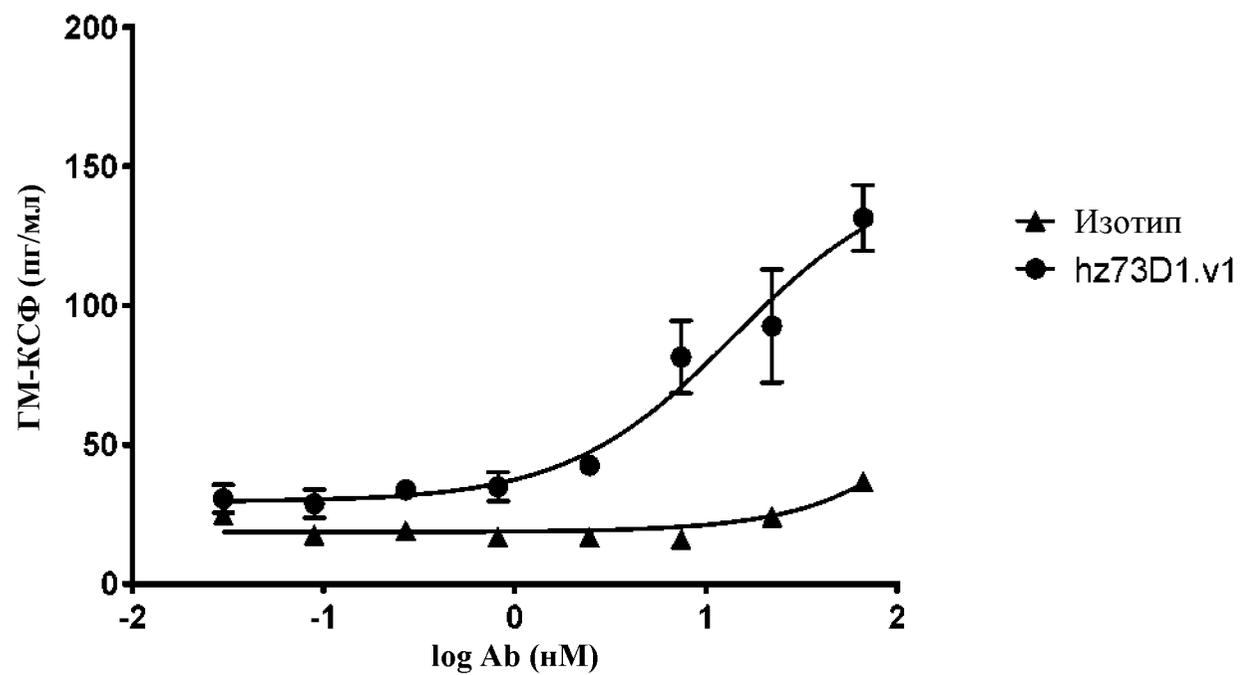


Фиг. 12

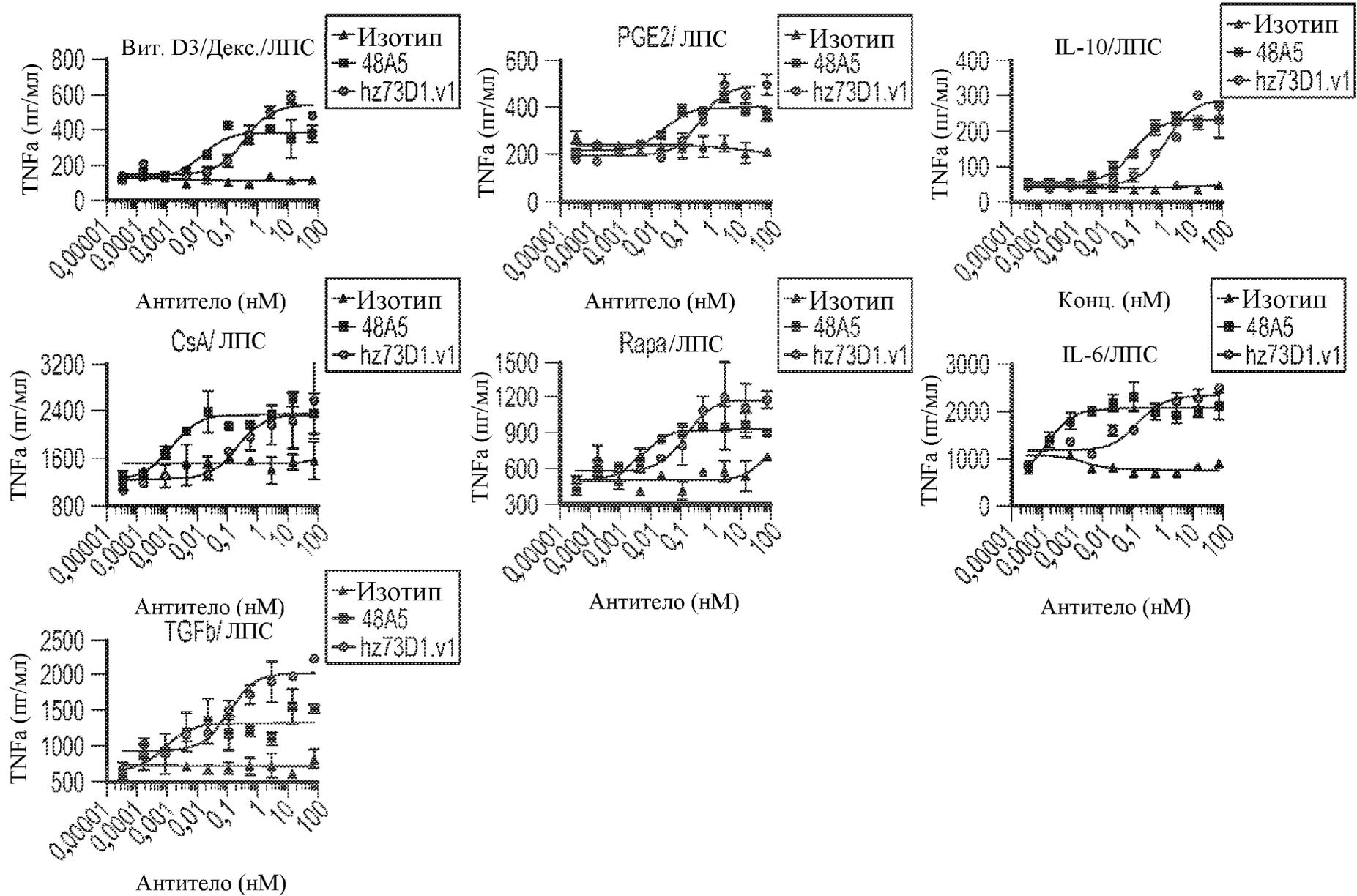


Фиг. 13

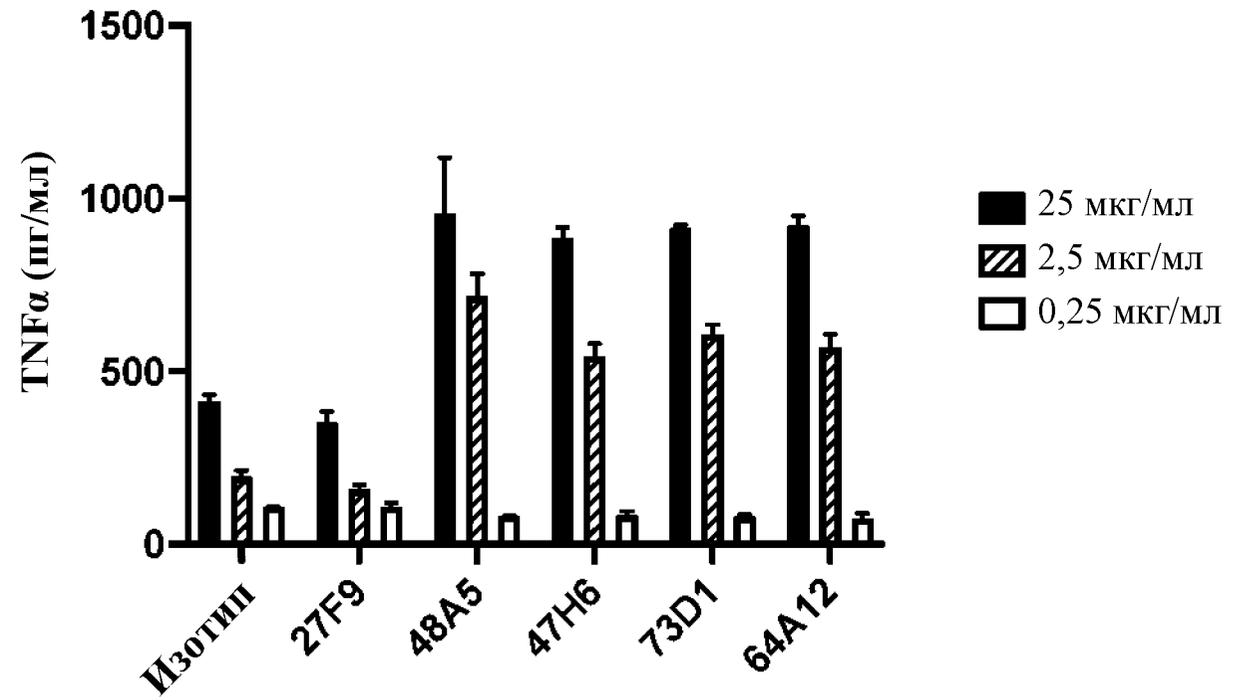
Цельная кровь яванского макака



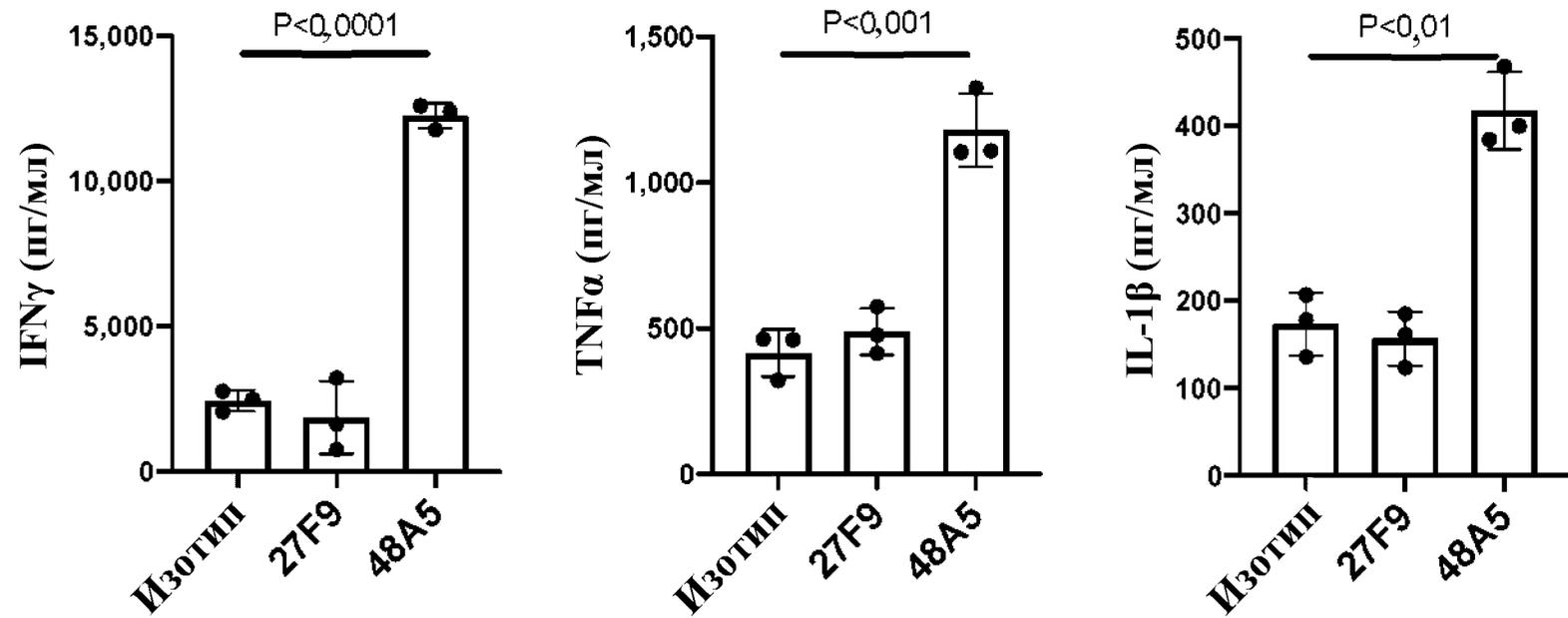
Фиг. 14



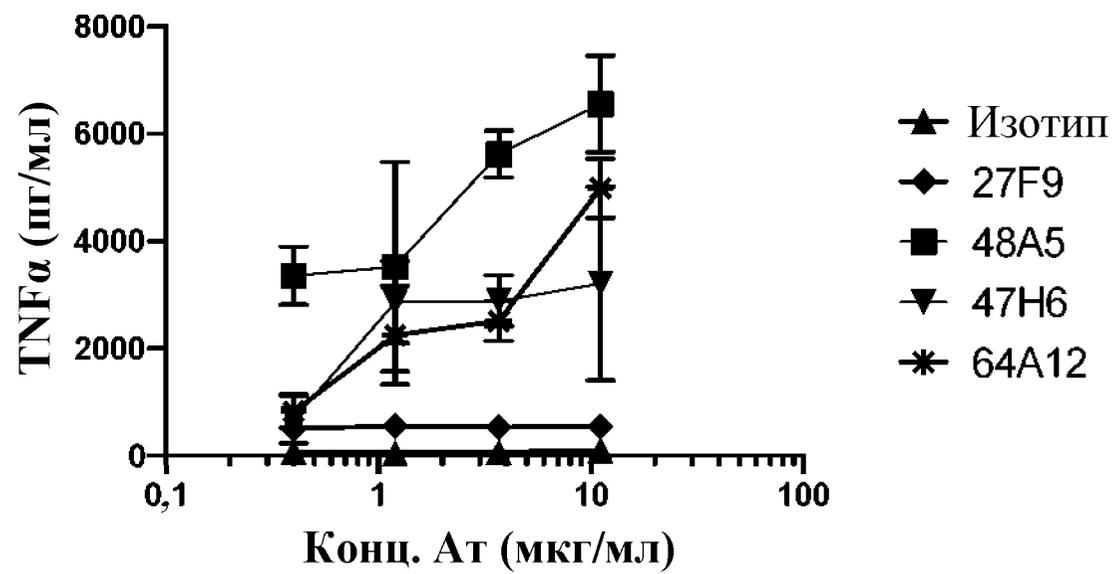
Фиг. 15



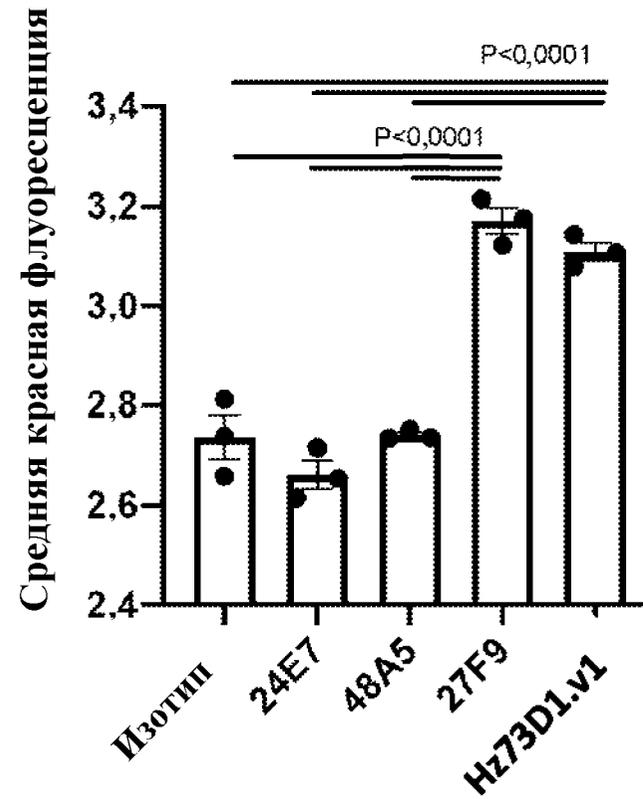
Фиг. 16



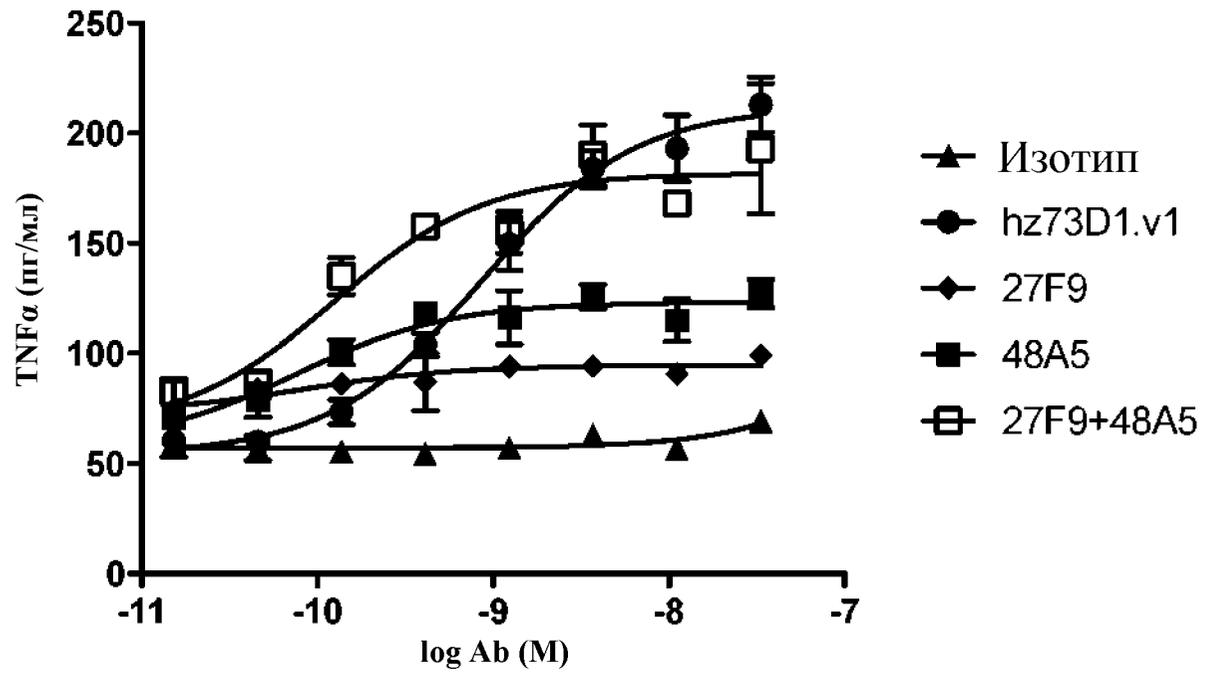
Фиг. 17



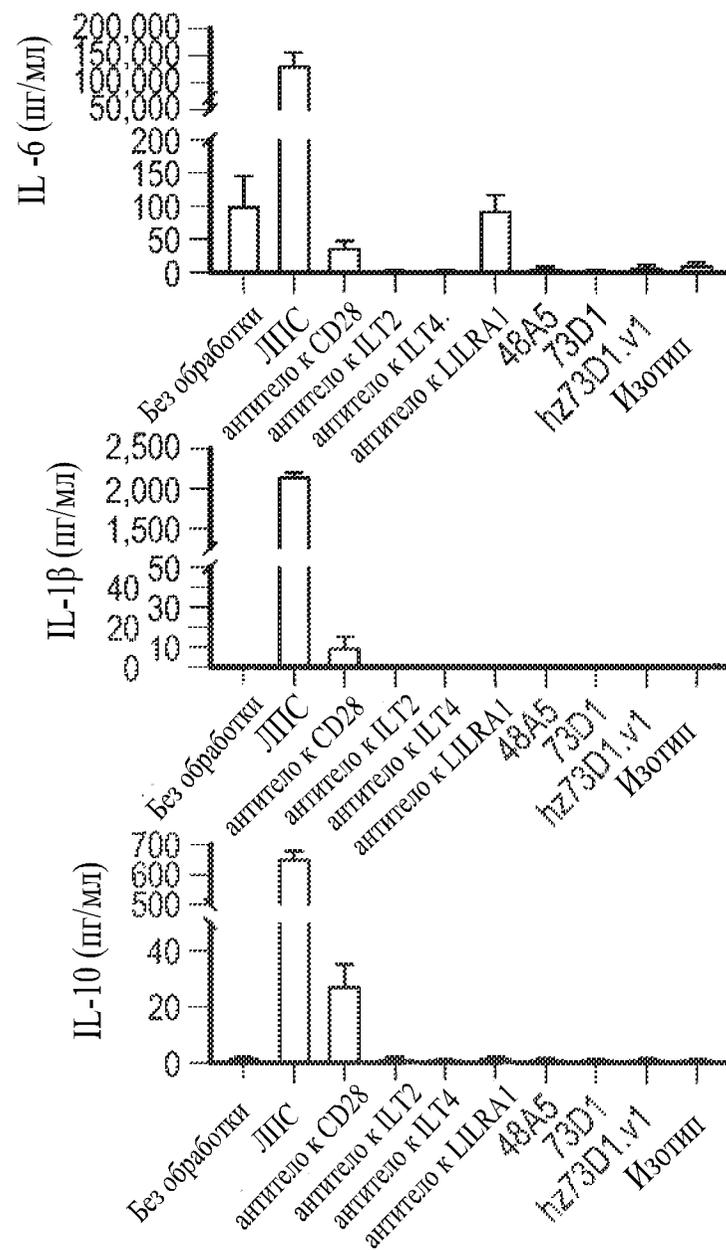
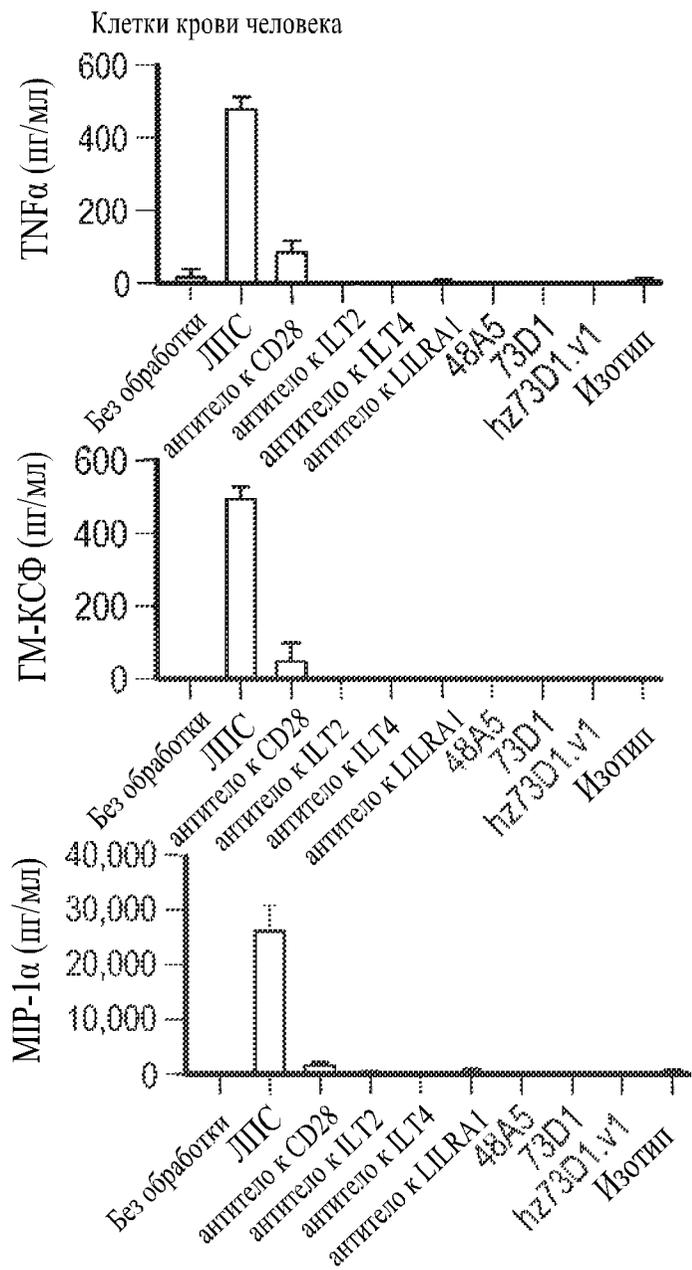
Фиг. 18



Фиг. 19

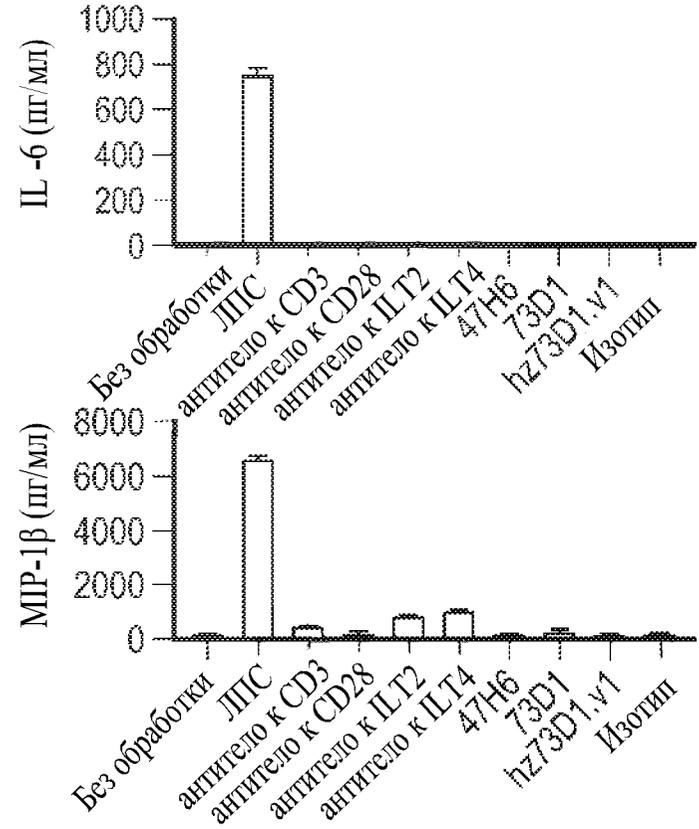
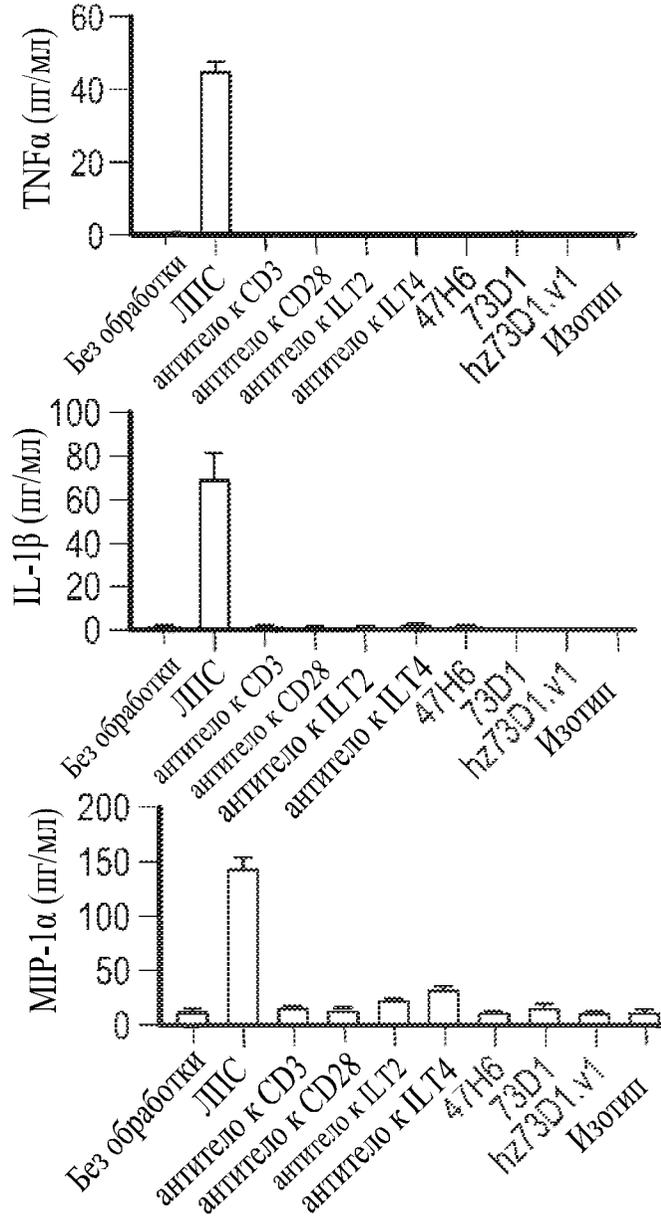


Фиг. 20

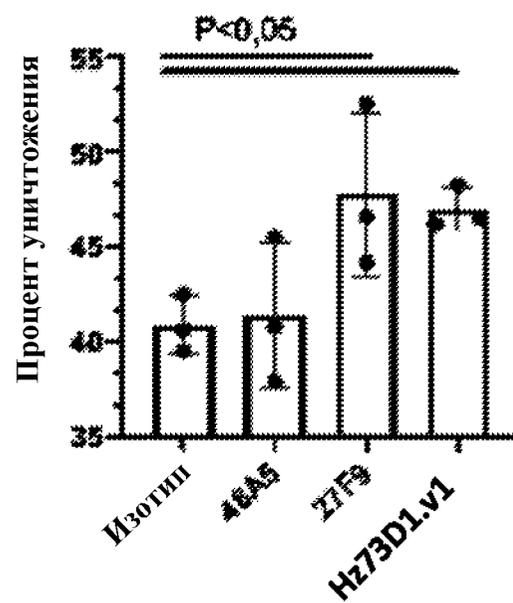


Фиг. 21

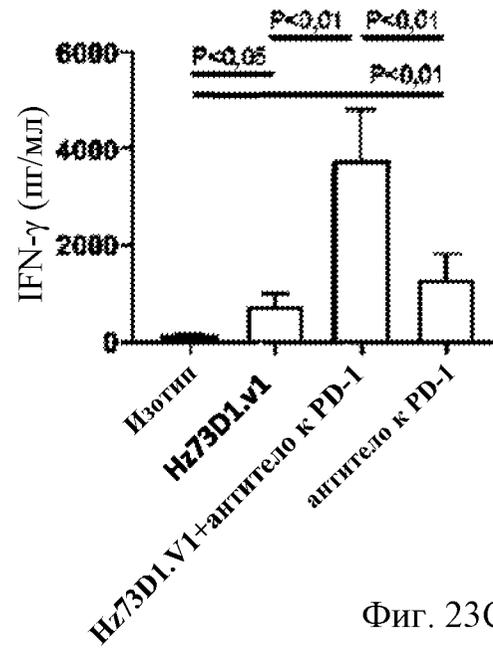
Клетки яванского макака



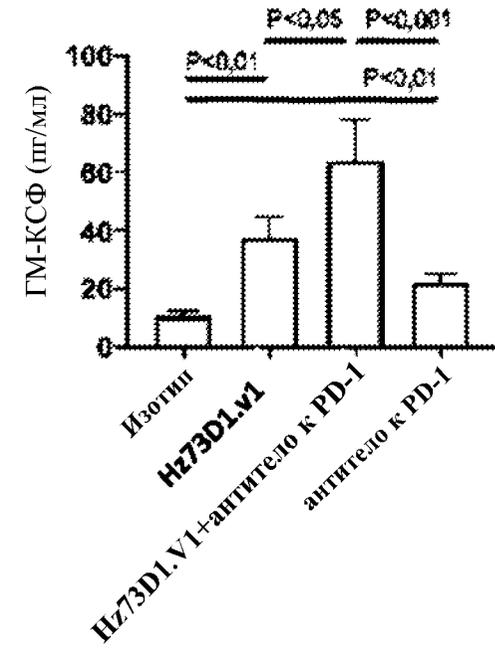
Фиг. 22



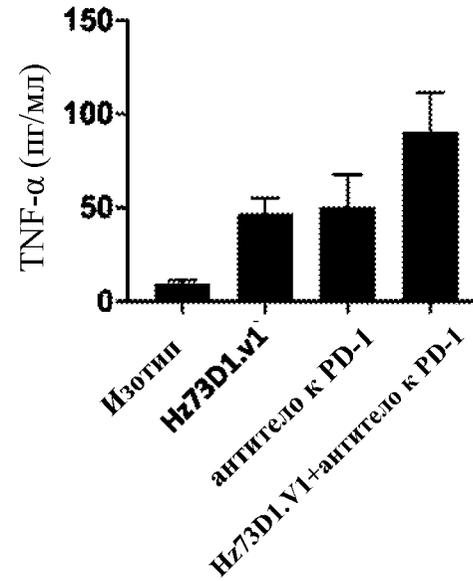
Фиг. 23А



Фиг. 23В



Фиг. 23С



Фиг. 24

