

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292816 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.03.06

(22) Дата подачи заявки
2021.05.05

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/00 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 47/48 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА, НАЦЕЛИВАЮЩИЕСЯ НА CLEC12A, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 63/020,806

(32) 2020.05.06

(33) US

(86) PCT/US2021/030773

(87) WO 2021/226163 2021.11.11

(88) 2021.12.16

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

(72) Изобретатель:

Баруах Хеманта, Чан Грегори П., Чзун
Энн Ф., Гринберг Ася (US)

(74) Представитель:

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

(57) Раскрыты белки с вариабельными доменами тяжелой цепи и легкой цепи антитела, которые могут быть спарены с образованием антигенсвязывающего участка, нацеливающегося на CLEC12A на поверхности клетки, фармацевтические композиции, содержащие такие белки, и терапевтические способы с применением таких белков и фармацевтических композиций, в том числе для лечения рака.

A1

202292816

202292816

A1

АНТИТЕЛА, НАЦЕЛИВАЮЩИЕСЯ НА CLEC12A, И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 63/020806, поданной 6 мая 2020 г., которая во всей своей полноте включена в данный документ посредством ссылки.

5 **ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

[0002] В настоящую заявку посредством ссылки во всей своей полноте включена машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей в текстовом формате ASCII. Текстовый файл перечня последовательностей имеет название "14247-539-228_SEQ_LISTING", был создан 3 мая 2021 г. и имеет размер 147674 байта.

10 **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ**

[0003] Настоящая заявка предусматривает белки с вариабельными доменами тяжелой цепи и легкой цепи антитела, которые могут быть спарены с образованием антигенсвязывающего участка, нацеливающегося на CLL-1/CLEC12A на поверхности клетки, фармацевтические композиции, содержащие такие белки, и терапевтические 15 способы с применением таких белков и фармацевтических композиций, в том числе для лечения рака.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Рак продолжает оставаться значительной проблемой для здоровья, несмотря на существенные исследовательские усилия и научные достижения, о которых сообщается в 20 литературе по лечению данного заболевания. Некоторые из наиболее часто диагностируемых видов рака у взрослых предусматривают рак предстательной железы, рак молочной железы и рак легкого. Гематологические злокачественные новообразования, хотя и менее частые, чем виды солидного рака, характеризуются низкими уровнями выживаемости. Существующие варианты лечения этих видов рака не эффективны для 25 всех пациентов и/или могут характеризоваться значительными нежелательными побочными эффектами. Другие типы рака также остаются сложными для лечения с применением существующих терапевтических вариантов.

[0005] Член А семейства 12 лектиновых доменов С-типа (CLEC12A), также известный как молекула-1, подобная лектину С-типа (CLL-1), или миелоидный ингибирующий 30 рецептор, подобный лектину С-типа (M1CL), является представителем суперсемейства лектинов С-типа/доменов, подобных лектину С-типа (CTL/CTLD). Члены данного семейства имеют общую укладку белков и выполняют разнообразные функции, такие как адгезия клеток, межклеточная передача сигналов, гликопротеиновый обмен и роли в воспалении и иммунном ответе. CLEC12A, трансмембранный гликопротеин II типа,

сверхэкспрессируется у более чем 90% пациентов с острым миелоидным лейкозом на лейкозных стволовых клетках, но не на нормальных гемопоэтических клетках.

[0006] Несмотря на многочисленные усилия, предпринятые несколькими биотехнологическими и фармацевтическими компаниями, разработка специфических биологических препаратов, нацеленных на CLEC12A, затруднена ввиду отсутствия антител с хорошими характеристиками реализуемости. Трудности с обнаружением антител к CLEC12A могут быть связаны со сложностью антигена. CLEC12A представляет собой мономерный в высокой степени гликозилированный белок с шестью потенциальными сайтами N-гликозилирования в пределах внеклеточного домена, содержащего 201 аминокислоту. Четыре из шести сайтов N-гликозилирования сгруппированы в проксимальном мембранном домене молекулы и, вероятно, участвуют в презентации мишени на клеточной поверхности. Сообщалось о вариациях статуса гликозилирования CLEC12A на поверхности различных типов клеток (Marshall et al., (2006) Eur J Immunol. 36(8):2159-69). Следовательно, все еще остается потребность в новых и пригодных антителах, которые связывают CLEC12A, особенно в антителах, которые связываются с CLEC12A независимым от гликозилирования образом.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] Настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающие участки, которые связывают CLEC12A человека. Эти антигенсвязывающие участки связывают различные эпитопы во внеклеточном домене CLEC12A, и некоторые из них связывают CLEC12A независимым от гликозилирования образом. Белки и белковые конъюгаты, содержащие такие антигенсвязывающие участки, например, антитела, конъюгаты антитело-лекарственное средство, биспецифические активаторы, привлекающие Т-клетки (BiTE), и иммуноцитокينات, а также иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки), экспрессирующие белок, содержащий такой антигенсвязывающий участок (например, химерный антигенный рецептор (CAR)), применимы для лечения заболеваний, ассоциированных с CLEC12A, таких как рак.

[0008] Соответственно, в одном аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

(а) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область 1 (CDR1), определяющую комплементарность область 2 (CDR2) и определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и

(b) вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно.

[0009] В некоторых вариантах осуществления VH содержит аминокислотную

5 последовательность под SEQ ID NO:49, и VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:17. В определенных вариантах осуществления VH содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% идентичную SEQ ID NO:45, и VL содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% идентичную SEQ ID NO:140. В определенных вариантах осуществления VH
10 содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:45, и VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:140. В некоторых вариантах осуществления VH и VL содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 9 и 10; 13 и 10; 110 и 10; 45 и 10; 122 и 10; 9 и 30; 9 и 34; 9 и 38 или 41 и 42 соответственно.

15 **[0010]** В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 117, 63 и 112 соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные
20 последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно.

[0011] В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 59, 63 и 79 соответственно; и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно, и VL содержит CDR1,
25 CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В некоторых вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 62, 63 и 54 соответственно, и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:115, и VL содержит
30 аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:116. В определенных вариантах осуществления VH и VL содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 29 и 69; 14 и 69; 76 и 69; 29 и 84; 14 и 84 или 76 и 84 соответственно.

[0012] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 33 и 89 соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 106, 92 и 46 соответственно.

5 [0013] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 72, 33 и 107 соответственно; и

10 (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 111, 105 и 46 соответственно.

[0014] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 102 и 89 соответственно; и

15 (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 18, 92 и 46 соответственно.

[0015] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

20 (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 26, 37 и 50 соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 53, 55 и 56 соответственно.

[0016] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

25 (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 64, 68 и 73 соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 77, 78 и 80 соответственно.

30 [0017] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 86, 88 и 127 соответственно; и

(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 90, 91 и 93 соответственно.

[0018] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:

(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 96, 97 и 98 соответственно; и

5 (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 99, 100 и 101 соответственно.

[0019] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который конкурирует с антигенсвязывающим участком, раскрытым выше.

[0020] В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутых аспектов
10 антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A человека с константой диссоциации (KD), составляющей 20 нМ или меньше, как измерено посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR). В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A человека с KD, составляющей 1 нМ или меньше, как измерено посредством SPR. В некоторых вариантах осуществления
15 антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A независимым от гликозилирования образом. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A человека, содержащий мутацию K244Q.

[0021] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде одноцепочечного варибельного фрагмента (scFv). В определенных
20 вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138, и 139.

[0022] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A независимым от гликозилирования образом.

25 **[0023]** В другом аспекте настоящая заявка предусматривает белок, содержащий антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе. В некоторых вариантах осуществления белки дополнительно содержат константную область тяжелой цепи антитела. В определенных вариантах осуществления константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG человека. В
30 определенных вариантах осуществления константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи IgG1 человека. В определенных вариантах осуществления каждая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% идентичную SEQ ID NO:21.

[0024] В определенных вариантах осуществления по меньшей мере одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411, и K439 пронумерованных в соответствии с системой нумерации EU. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO:21, выбранных из Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D, и K439E, пронумерованных в соответствии с системой нумерации EU.

[0025] В определенных вариантах осуществления одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411, и K439; пронумерованных в соответствии с системой нумерации EU. В определенных вариантах осуществления одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замены K360E и K409W по сравнению с SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замены Q347R, D399V и F405T по сравнению с SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации EU. В определенных вариантах осуществления одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену Y349C по сравнению с SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену S354C по сравнению с SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации EU.

[0026] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий белок, раскрытый в данном документе, и фрагмент, представляющий собой лекарственное средство. В определенных вариантах осуществления фрагмент, представляющий собой лекарственное средство, выбран из группы, состоящей из ауристати́на, N-ацетил-γ-калихеамицина, майтанзиноида, пирролобензодиазепина и SN-38.

[0027] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает иммуноцитокин, содержащий антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе, и цитокин. В определенных вариантах осуществления цитокин выбран из группы, состоящей из IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF и IFNα.

[0028] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки, содержащий антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе, и антигенсвязывающий участок, который связывает CD3.

[0029] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий:

- (a) антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе;
- (b) трансмембранный домен; и
- (c) внутриклеточный сигнальный домен.

[0030] В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен выбран из трансмембранных областей альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CLEC12A, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD152 и CD154. В определенных вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен предусматривает первичный сигнальный домен, предусматривающий функциональный сигнальный домен CD3-дзета, общую гамма-цепь FcR (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12. В определенных вариантах осуществления внутриклеточный сигнальный домен дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен, предусматривающий функциональный сигнальный домен костимулирующего рецептора. В определенных вариантах осуществления костимулирующий рецептор выбран из группы, состоящей из OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, лиганда, который связывается с CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS и 4-1BB (CD137) или любой их комбинации.

[0031] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, раскрытый в данном документе.

[0032] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает вектор экспрессии, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту, раскрытую в данном документе.

[0033] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает иммунную эффекторную клетку, содержащую нуклеиновую кислоту или вектор экспрессии, раскрытые в данном документе.

[0034] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает иммунную эффекторную клетку, экспрессирующую CAR, раскрытый в данном документе. В некоторых вариантах осуществления иммунная эффекторная клетка представляет собой Т-клетку. В некоторых вариантах осуществления Т-клетка представляет собой CD8⁺ Т-клетку, CD4⁺ Т-клетку или NKT-клетку. В некоторых вариантах осуществления иммунная эффекторная клетка представляет собой NK-клетку.

[0035] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, иммуноцитокин, биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки, или иммунную эффекторную клетку, раскрытые в данном документе; и фармацевтически приемлемый носитель.

[0036] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает способ лечения рака, при этом способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, иммуноцитокина, биспецифического активатора, привлекающего Т-клетки, иммунной эффекторной клетки или фармацевтической композиции, раскрытых в данном документе.

[0037] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование. В определенных вариантах осуществления гематологическое злокачественное новообразование выбрано из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза (AML), миелодиспластического синдрома (MDS), острого лимфобластного лейкоза (ALL), миелопролиферативных новообразований (MPN), лимфомы, видов неходжкинской лимфомы и классической лимфомы Ходжкина.

[0038] В определенных вариантах осуществления AML выбран из недифференцированного острого миелобластного лейкоза, острого миелобластного лейкоза с минимальным созреванием, острого миелобластного лейкоза с созреванием, острого промиелоцитарного лейкоза (APL), острого миеломоноцитарного лейкоза, острого миеломоноцитарного лейкоза с эозинофилией, острого моноцитарного лейкоза, острого эритроидного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза (AMKL), острого базофильного лейкоза, острого панмиелоза с фиброзом и новообразования из бластных

плазмацитоидных дендритных клеток (BPDCN). В определенных вариантах осуществления AML характеризуется экспрессией CLEC12A на лейкозных стволовых клетках AML (LSC). В определенных вариантах осуществления LSC дополнительно экспрессируют мембранный маркер, выбранный из CD34, CD38, CD123, TIM3, CD25, CD32 и CD96.

[0039] В некоторых вариантах осуществления AML представлен минимальной остаточной болезнью (MRD). В определенных вариантах осуществления MRD характеризуется наличием или отсутствием мутации, выбранной из мутации FLT3-ITD (внутренних tandemных дупликаций (ITD) в гене (Fms-подобной тирозинкиназы 3)), NPM1 (нуклеофосмина 1), DNMT3A (гена ДНК-метилтрансферазы DNMT3A) и IDH (изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (IDH1 и IDH2)). В определенных вариантах осуществления MDS выбран из MDS с мультилинейной дисплазией (MDS-MLD), MDS с однолинейной дисплазией (MDS-SLD), MDS с кольцевыми сидеробластами (MDS-RS), MDS с избытком бластов (MDS-EB), MDS с изолированной del(5q) и неклассифицированного MDS (MDS-U). В определенных вариантах осуществления MDS представляет собой первичный MDS или вторичный MDS.

[0040] В некоторых вариантах осуществления ALL выбран из В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (B-ALL) и Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL). В определенных вариантах осуществления MPN выбрано из истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии (ET) и миелофиброза. В определенных вариантах осуществления неходжкинская лимфома выбрана из В-клеточной лимфомы и Т-клеточной лимфомы. В определенных вариантах осуществления, где лимфома выбрана из хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), лимфобластной лимфомы (LPL), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы Беркитта (BL), первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы (PMBL), фолликулярной лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, волосатоклеточного лейкоза, плазмоклеточной миеломы (PCM) или множественной миеломы (MM), новообразований из зрелых Т-/NK-клеток и гистиоцитарных новообразований. В определенных вариантах осуществления рак характеризуется экспрессией CLEC12A.

[0041] Эти и другие аспекты и преимущества антигенсвязывающих участков, описанных в настоящей заявке, проиллюстрированы следующими фигурами, подробным описанием и формулой изобретения.

[0042] Настоящую заявку можно более полно понять, ссылаясь на следующие графические материалы.

[0043] На **фиг. 1** представлена совокупность кривых, демонстрирующих профили биослойной интерферометрии (BLI) для антител, собранных из супернатантов мышинных гибридом, связывающихся с hCLEC12A.

[0044] На **фиг. 2** представлена совокупность сенсограмм, демонстрирующих SPR-профили для антител, отобранных из субклонов мышинных mAb, связывающихся с hCLEC12A (**фиг. 2A**) и cCLEC12A (**фиг. 2B**).

[0045] На **фиг. 3** представлен линейный график, демонстрирующий связывание очищенных субклонов CLEC12A с линией клеток AML PL21.

[0046] На **фиг. 4** представлена совокупность сенсограмм, демонстрирующих SPR-профили для антител 16B8.C8 и 9F11.B7, связывающихся с гликозилированным, дегликозилированным и десиалилированным hCLEC12A.

[0047] На **фиг. 5** представлена совокупность сенсограмм, демонстрирующих SPR-профили для полиспецифических связывающих белков, содержащих антигенсвязывающий участок, полученный из антитела 16B8.C8.

[0048] На **фиг. 6** представлены линейные графики, демонстрирующие связывание F3'-1304, нацеливающегося на hCLEC12A, F3'-1295 и контрольного полиспецифического связывающего белка, нацеливающегося на CLEC12A, с экспрессирующей hCLEC12A линией клеток RMA-hCLEC12A.

[0049] На **фиг. 7** представлена совокупность сенсограмм, демонстрирующих SPR-профили полиспецифических связывающих белков F3'-1295 и F3'-1602.

[0050] На **фиг. 8** представлены линейные графики, демонстрирующие связывание полиспецифических связывающих белков F3'-1295, F3'-1602, нацеливающих на hCLEC12A, и контрольных полиспецифических связывающих белков, нацеливающих на CLEC12A, с линией клеток Ba/F3, экспрессирующей hCLEC12A (**фиг. 8A**), Ba/F3 дикого типа (**фиг. 8B**), линией раковых клеток HL60 (**фиг. 8C**) и линией раковых клеток PL21 (**фиг. 8D**).

[0051] На **фиг. 9** показаны результаты анализа на основе проточной цитометрии с использованием полиспецифического реагента (PSR) для F3'-1602 и F3'-1295.

[0052] На **фиг. 10** представлены линейные графики, демонстрирующие связывание hF3'-1602 и AB0010 с Ba/F3, экспрессирующей hCLEC12A (**фиг. 10A**), линией раковых клеток HL60 (**фиг. 10B**) и Ba/F3 дикого типа (**фиг. 10C**).

[0053] На **фиг. 11** представлены линейные графики, демонстрирующие связывание полиспецифических связывающих белков, полученных из 9F11.B7, и hF3'-1602, и AB0010, с Ba/F3, экспрессирующей hCLEC12A (**фиг. 11A**), и линией раковых клеток HL60 (**фиг. 11B**).

5 [0054] На **фиг. 12** представлена совокупность сенсограмм, демонстрирующих SPR-профили специфичности связывания hF3'-1602 с CLEC12A человека.

[0055] На **фиг. 13** представлены графики, демонстрирующие специфичность связывания hF3'-1602 с рекомбинантным hCLEC12A-His, построенные с применением данных, полученных посредством SPR (**фиг. 13A**); связывание с пятью неродственными
10 рекомбинантными мишенями, определенное посредством SPR (**фиг. 13B**); количественная оценка исходных данных SPR (**фиг. 13C**); связывание с клетками Ba/F3-CLEC12A, определенное посредством проточной цитометрии (**фиг. 1D**); и связывание с исходными клетками Ba/F3, определенное посредством проточной цитометрии (**фиг. 13E**).

[0056] На **фиг. 14** показаны результаты анализа на основе проточной цитометрии с
15 использованием полиспецифического реагента (PSR) для F3'-1602.

[0057] На **фиг. 15** представлены столбчатые диаграммы, демонстрирующие относительное связывание (Z-показатель) F3'-1602 при значении, составляющем 1, с CLEC12A человека по сравнению с микрочипом полного протеома человека

[0058] На **фиг. 16** показаны модели зон гидрофобности в CLEC12A-связывающем
20 плече hF3'-1602.

[0059] На **фиг. 17** представлены столбчатые диаграммы, полученные на основе моделей длины CDR, поверхностной гидрофобности и поверхностного заряда в CLEC12A-связывающем плече hF3'-1602.

[0060] На **фиг. 18** представлена совокупность графиков результатов проточной
25 цитометрии, демонстрирующих связывание с hCLEC12A вариантов hF3'-1602 с устраненными потенциальными участками неблагоприятных модификаций в последовательности.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0061] Настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающие участки, которые
30 связывают CLEC12A человека. Данные антигенсвязывающие участки связывают различные эпитопы во внеклеточном домене CLEC12A. Белки и белковые конъюгаты, содержащие такие антигенсвязывающие участки, например, антитела, конъюгаты антитело-лекарственное средство, биспецифические активаторы, привлекающие Т-клетки (BiTE), и иммуноцитокينات, а также иммунные эффекторные клетки (например, Т-клетки),

экспрессирующие белок, содержащий такой антигенсвязывающий участок (например, химерный антигенный рецептор (CAR)), применимы для лечения заболеваний, ассоциированных с CLEC12A, таких как рак.

[0062] Настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающие белки, которые связывают CLEC12A на раковой клетке, и фармацевтические композиции, содержащие такие белки, и терапевтические способы с применением таких белков и фармацевтических композиций, в том числе для лечения рака. Различные аспекты антигенсвязывающих участков, описанные в настоящей заявке, изложены в разделах ниже; однако аспекты антигенсвязывающих участков, описанные в настоящей заявке и описанные в одном конкретном разделе, не должны ограничиваться каким-либо конкретным разделом.

[0063] Для облегчения понимания настоящей заявки ниже определен ряд терминов и фраз.

[0064] Используемые в данном документе термины в единственном числе означают "один или несколько" и включают их формы во множественном числе, если контекст не является неподходящим.

[0065] Используемый в данном документе термин "антигенсвязывающий участок" относится к части молекулы иммуноглобулина, которая участвует в связывании антигена. В человеческих антителах антигенсвязывающий участок образован аминокислотными остатками N-концевых вариабельных ("V") областей тяжелой ("H") и легкой ("L") цепей.

Три существенно различающихся отрезка в пределах V-областей тяжелой и легкой цепей называются "гипервариабельными областями", которые расположены между более консервативными фланкирующими отрезками, известными как "каркасные области" или "FR". Таким образом, термин "FR" относится к аминокислотным последовательностям, которые естественным образом обнаруживаются между гипервариабельными областями в иммуноглобулинах, а также прилегают к ним. В молекуле человеческого антитела три гипервариабельных области легкой цепи и три гипервариабельных области тяжелой цепи расположены относительно друг друга в трехмерном пространстве с образованием антигенсвязывающей поверхности. Антигенсвязывающая поверхность комплементарна трехмерной поверхности связанного антигена, а три гипервариабельные области каждой из тяжелой и легкой цепей называются "определяющими комплементарность областями" или "CDR". У определенных животных, таких как верблюды и хрящевые рыбы, антигенсвязывающий участок образован одной цепью антитела, обеспечивающей образование "однодоменного антитела". Антигенсвязывающие участки могут находиться в интактном антителе, в антигенсвязывающем фрагменте антитела, который сохраняет

антигенсвязывающую поверхность, или в рекомбинантном полипептиде, таком как scFv, предусматривающем использование пептидного линкера для соединения вариабельного домена тяжелой цепи с вариабельным доменом легкой цепи в одном полипептиде. Все аминокислотные положения в вариабельных областях тяжелой и легкой цепей, раскрытых в данном документе, пронумерованы в соответствии с нумерацией согласно Kabat.

[0066] CDR антигенсвязывающего участка можно определить посредством способов, описанных в Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977), и Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991), Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), и MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996). CDR, определенные в соответствии с данными определениями, как правило, содержат перекрывающиеся аминокислотные остатки или подгруппы аминокислотных остатков при сравнении друг с другом. В определенных вариантах осуществления термин "CDR" представляет собой CDR, определенный в MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) и Martin A., Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains, in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001). В определенных вариантах осуществления термин "CDR" представляет собой CDR, определенный в Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) и Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest. (1991). В определенных вариантах осуществления CDR тяжелой цепи и CDR легкой цепи антитела определяют с применением различных соглашений. Например, в определенных вариантах осуществления CDR тяжелой цепи определяют согласно MacCallum (*supra*), а CDR легкой цепи определяют согласно Kabat (*supra*). CDRH1, CDRH2 и CDRH3 обозначают CDR тяжелой цепи, а CDRL1, CDRL2 и CDRL3 обозначают CDR легкой цепи.

[0067] Используемые в данном документе термины "субъект" и "пациент" относятся к организму, подлежащему лечению посредством способов и композиций, описанных в данном документе. Такие организмы предпочтительно включают без ограничения млекопитающих (например, представителей мышиных, обезьянообразных, лошадиных, бычьих, свинообразных, псовых, кошачьих и т. п.) и более предпочтительно включают людей.

[0068] Используемый в данном документе термин "эффективное количество" относится к количеству соединения (например, соединения, описанного в настоящей заявке), достаточному для достижения полезных или требуемых результатов.

Эффективное количество можно вводить за одну или несколько процедур введения, процедур применения или доз, и при этом не предусматривается, что оно ограничено

конкретным составом или путем введения. Используемый в данном документе термин "лечение" включает любой эффект, например, ослабление, уменьшение, модулирование, снижение выраженности или устранение, который в результате приводит к улучшению в отношении течения состояния, заболевания, нарушения и т. п. или снижению

5 выраженности его симптома.

[0069] Используемый в данном документе термин "фармацевтическая композиция" относится к комбинации активного средства с носителем, являющимся инертным или активным, который делает композицию особенно подходящей для диагностического или терапевтического применения *in vivo* или *ex vivo*.

10 **[0070]** Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к любому из стандартных фармацевтических носителей, таких как забуференный фосфатом солевой раствор, вода, эмульсии (например, такие как эмульсии по типу масло/вода или по типу вода/масло) и различные типы смачивающих средств. Композиции также могут содержать стабилизаторы и консерванты. Примеры носителей,

15 стабилизаторов и вспомогательных средств см., например, в Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975].

[0071] Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к любой фармацевтически приемлемой соли (например, кислоты или основания) соединения, описанного в настоящей заявке, которая при введении субъекту

20 способна обеспечивать образование соединения, описанного в настоящей заявке, или его активного метаболита или остатка. Как известно специалистам в данной области техники, "соли" соединений, описанных в настоящей заявке, могут быть получены из неорганических или органических кислот и оснований. Иллюстративные кислоты

25 включают без ограничения хлористоводородную, бромистоводородную, серную, азотную, хлорную, фумаровую, малеиновую, фосфорную, гликолевую, молочную, салициловую, янтарную, толуол-п-сульфоновую, винную, уксусную, лимонную, метансульфоновую, этансульфоновую, муравьиную, бензойную, малоновую, нафталин-2-сульфоновую, бензолсульфоновую кислоту и т. п. Другие кислоты, такие как щавелевая, хотя сами как

30 таковые не являются фармацевтически приемлемыми, могут применяться в получении солей, применимых в качестве промежуточных соединений при получении соединений, описанных в настоящей заявке, и их фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты.

[0072] Иллюстративные основания включают без ограничения гидроксиды щелочных металлов (например, натрия), гидроксиды щелочноземельных металлов (например, магния), аммиак и соединения формулы NW_4^+ , где W представляет собой C_{1-4} алкил, и т. п.

[0073] Иллюстративные соли включают без ограничения ацетат, адипат, альгинат,

5 аспарат, бензоат, бензолсульфонат, бисульфат, бутират, цитрат, камфорат, камфорсульфонат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, фумарат, флюкогептаноат, глицерофосфат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактат, малеат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, оксалат, пальмоат, пектинат, 10 персульфат, фенилпропионат, пикрат, пивалат, пропионат, сукцинат, тартрат, тиоцианат, тозилат, ундеканоат и т. п. Другие примеры солей включают анионы соединений, описанных в настоящей заявке, составленные с подходящим катионом, таким как Na^+ , NH_4^+ и NW_4^+ (где W представляет собой C_{1-4} алкильную группу) и т. п.

[0074] Применительно к терапевтическому применению соли соединений, описанных 15 в настоящей заявке, рассматриваются как фармацевтически приемлемые. Однако соли кислот и оснований, которые не являются фармацевтически приемлемыми, также могут находить применение, например, в получении или очистке фармацевтически приемлемого соединения.

[0075] Используемый в данном документе термин "CLEC12A" (также известный как 20 CLL-1, DCAL-2, MICL и CD371) относится к белку под номером доступа в Uniprot Q5QGZ9 и родственным изоформам.

[0076] На протяжении всего описания, когда композиции описываются как имеющие, содержащие или предусматривающие конкретные компоненты, или когда процедуры и способы описываются как имеющие, включающие или предусматривающие конкретные 25 стадии, предполагается, что дополнительно предусматриваются композиции, описанные в настоящей заявке, которые состоят по существу из или состоят из перечисленных компонентов, а также что предусматриваются процедуры и способы в соответствии с настоящей заявкой, которые состоят по существу из или состоят из указанных стадий обработки.

30 [0077] Как правило, процентное содержание в случае композиций, для которых оно указывается, приводится по весу, если конкретно не указано иное. Кроме того, если переменная не сопровождается определением, то приоритет отдается предыдущему определению переменной.

[0078] Различные признаки и аспекты антигенсвязывающих участков, описанных в настоящей заявке, более подробно обсуждаются ниже.

I. Антигенсвязывающий участок

[0079] В одном аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий

5 участок, который связывает CLEC12A человека. Последовательности VH, VL, CDR и scFv иллюстративных антигенсвязывающих участков перечислены в таблице 1.

Последовательности CDR идентифицируют в соответствии со схемой нумерации согласно Chothia.

Таблица 1. Последовательности иллюстративных антигенсвязывающих участков, которые связывают CLEC12A

Клон	VH	VL
16B8.C8	EVQLQESGPGLVQPSQSL SITCT VSGFSLTNYGLHWVRQSPGKG LEWLGVIWSSGGKTDYNTPFKS RLSISKDISKNQVFFKMNSLQPN DTAIYFCAKYDYDDSLDYWGQ GTSVTVSS [SEQ ID NO:1] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMNQSPSSLSASLGDTIAITCHA SQNINFWLSWYQQKPGNIPKLLIY EASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTL TISSLQPEDIATYYCQQSHSYPLTF GQGTKLEIK [SEQ ID NO:2] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
Гуманизиро- ванное 16B8.C8, представлен- ное в виде scFv-1292 / scFv-1301 (обратные мутации в VH и VL	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGGKTDYNPSLKS RV TISKDTSKNQFSLKLSSVQAND TAVYYCAKYDYDDSLDYWGQ GTLVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFT LTISLQPEDIAATYYCQQSHSYPLT FGQGTKLEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]

Клон	VH	VL
подчеркнуты)	CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	
scFv гуманизированного 16B8.C8 scFv-1292 / scFv-1301	scFv-1292 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:3] scFv-1301 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLLTVSS [SEQ ID NO:12]	
Гуманизированное 16B8.C8 в scFv- 1293/scFv- 1302 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLLTVSS [SEQ ID NO:13] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGQGTKLEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 16B8.C8	scFv-1293 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ	

Клон	VH	VL
scFv-1293 / scFv-1302	MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEA SNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:15] scFv-1302 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIY EASNLTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFG CGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT LVTVSS [SEQ ID NO:16]	
Гуманизированное 16B8.C8 в scFv- 1294/scFv- 1303 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGGKTDYNPSLKS RVTISKDTSKNQFSLKLSSVTANDT AVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT LTVTVSS [SEQ ID NO:110] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLI YEASNLTGVPSRFSGSGSGTRFT LTISLQPEDATYYCQQSHSYPLT FGQGTKLEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 16B8.C8 scFv-1294 / scFv-1303	scFv-1294 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWI GVIWSSGGKTDYNPSLKS RVTISKDTSKNQFSLKLSSVTANDTAVYYC AKYDYDDSLDYWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEA SNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:19] scFv-1303 (VL-VH):	

Клон	VH	VL
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIY EASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFG CGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGKTDYNPSLKS RV TISKDTSKNQFSLKLSSVTANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGLV TVSS [SEQ ID NO:20]	
Гуманизиро- ванное 16B8.C8 в scFv- 1295/scFv- 1304 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGKTDYNPSLKS RV TISKDTSKNQFSLKLSSVQAAD TAVYYCAKYDYDDSLDYWGQ GTLVTVSS [SEQ ID NO:45] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFT LTISLQPEDATYYCQQSHSYPLT FGQGTKLEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизиро- ванного 16B8.C8 scFv-1295 / scFv-1304	scFv-1295 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWI GVIWSSGKTDYNPSLKS RVTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYC AKYDYDDSLDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEA SNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:23] scFv-1304 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIY EASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFG CGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGKTDYNPSLKS RV	

Клон	VH	VL
	TISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGLV TVSS [SEQ ID NO:24]	
Гуманизированное 16B8.C8 в scFv- 1296/scFv- 1305 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWGGKTDYNPSLKSRV TISKDTSKNQFSLKLSSVQAND TAVYYCARYDYDDSLDYWGQ GTLVTVSS [SEQ ID NO:122] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFT LTISSLQPEDIAITYYCQQSHSYPLT FGQGTKLEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 16B8.C8 scFv-1296 / scFv-1305	scFv-1296 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCARYDYDDSLDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISSLQPEDIAITYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIK [SEQ ID NO:27] scFv-1305 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISSLQPEDIAITYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCARYDYDDSLDYWGQGLVTVSS [SEQ ID NO:28]	

Клон	VH	VL
Гуманизированное 16B8.C8 в scFv-1297/scFv-1306 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDIAITYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIK [SEQ ID NO:30] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 16B8.C8 scFv-1297 / scFv-1306	scFv-1297 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDIAITYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIK [SEQ ID NO:31] scFv-1306 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDIAITYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:32]	
Гуманизированное 16B8.C8 в scFv-1298/scFv-	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQAND	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDIAITYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIK

Клон	VH	VL
1307 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	TAVYYCA <u>K</u> YDYDDSLDYWGQ GTLVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	[SEQ ID NO:34] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизирова нного 16B8.C8 scFv-1298 / scFv-1307	scFv-1298 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWI GVIWSSGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYC AKYDYDDSLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIEA SNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:35] scFv-1307 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIY EASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTF GCGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETL SLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSR VTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTL VTVSS [SEQ ID NO:36]	
Гуманизирова нное 16B8.C8 в scFv- 1299/scFv- 1308	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSRV TISKDTSKNQFSLKLSSVQAND TAVYYCA <u>K</u> YDYDDSLDYWGQ GTLVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFT LTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLT FGQGTKLEIK [SEQ ID NO:38] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7]

Клон	VH	VL
	CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизиро- ванного 16B8.C8 scFv-1299 / scFv-1308	scFv-1299 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWI GVIWSSGGKTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYC AKYDYDDSLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYA SNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:39] scFv-1308 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIY EASNLTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTF GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETL SLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKS RTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTL VTVSS [SEQ ID NO:40]	
Гуманизиро- ванное 16B8.C8 в scFv- 1300/scFv- 1309	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSRT TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARYDYDDSLDYWGQG TLVTVSS [SEQ ID NO:41] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLI YEASNLTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLT FGQGTKLEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизиро-	scFv-1300 (VH-VL):	

Клон	VH	VL
анного 16B8.C8 scFv-1300 / scFv-1309	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWI GVIWSSGGKTDYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARYDYDDSLDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEA SNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:43] scFv-1309 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLI YEASNLTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLT FGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSET LSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYDYDDSLDYWGQGT LVTVSS [SEQ ID NO:44]	
Гуманизиров анное 16B8.C8 в scFv- 1602/scFv- 2061	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGGKTDYNPSLKS RV TISKDT SKNQFSLKLSSVQAAD TAVYYCAKYDYDDSLDYWGQ GTLVTVSS [SEQ ID NO:45] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLI YEASNLTGVPSRFSGSGSGTRFT LTISLQPED ^I ATYYCQQSHSYPLT FGGGTKLEIK [SEQ ID NO:140] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизиров анного 16B8.C8 scFv-1602 / scFv-2061	scFv-1602 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWI GVIWSSGGKTDYNPSLKS RVTISKDT SKNQFSLKLSSVQAADTAVYYC AKYDYDDSLDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEA SNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPED ^I ATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK	

Клон	VH	VL
	[SEQ ID NO:47] scFv-2061 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTF GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETL SLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSR VTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT LTVSS [SEQ ID NO:48]	
Гуманизированное 16B8.C8 Консенсусная последовательность	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWSSGGKTDYNPSLKSRV TISX ₁ DTSKNQFSLKLSSVX ₂ AX ₃ DTAVYYCAX ₄ YDYDDSLDYWG QGT LTVSS где X ₁ представляет собой V или K, X ₂ представляет собой T или Q, X ₃ представляет собой A или N, и X ₄ представляет собой R или K [SEQ ID NO:49] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WSGGK [SEQ ID NO:4] CDR3: YDYDDSLDY [SEQ ID NO:5]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKX ₁ PKLL IYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTX ₂ F TLTISLQPEDX ₃ ATYYCQQSHSYPLTFG X ₄ GTKLEIK где X ₁ представляет собой A или I, X ₂ представляет собой D или R, X ₃ представляет собой F или I, и X ₄ представляет собой Q или G [SEQ ID NO:17] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
Гуманизированное 16B8.C8, представленное в виде AB0305 / AB5030	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVIWVGATDYNPSLKSR VTISVDTSKNQFSLKLSSVQAA DTAVYYCAKGDYGD TLDYWG QGT LTVSS [SEQ ID NO:128]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLT FGSGTKLEIK [SEQ ID NO:129]

Клон	VH	VL
(Цистеиновые мутации, способствующие гетеродимеризации, подчеркнуты. Такие мутации могут способствовать образованию дисульфидного мостика между VH и VL scFv.)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGK <u>CL</u> EWIGVIWVGGATDYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVQAA DTAVYYCAKGDYGD ¹⁴⁷ TLDYWG QGTLVTVSS [SEQ ID NO:147] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: WVGGGA [SEQ ID NO:130] CDR3: GDYGD ¹⁴⁷ TDY [SEQ ID NO:131]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSHSYPLT FG <u>C</u> GTKLEIK [SEQ ID NO:148] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизованного 16B8.C8 AB0305/ AB5030	AB0305 (VH-VL): QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWVGGATDYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGD ¹⁴⁷ TLDYWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:132] AB5030 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSET LSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWVGGATDYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGD ¹⁴⁷ TLDYWGQGT LTVSS	

Клон	VH	VL
	[SEQ ID NO:133]	
Гуманизированное 16B8.C8, представленное в виде AB0147/ AB7410	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGL EWIGVILSGGWTDYNPSLKSRV TISKDTSKNQFSLKLSSVQAAD TAVYYCAKGDYGDALDYWGQ GTLVTVSS [SEQ ID NO:134] CDR1: GFSLTNY [SEQ ID NO:11] CDR2: LSGGW [SEQ ID NO:136] CDR3: GDYGDALDY [SEQ ID NO:137]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCH ASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLI YEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFT LTISSLQPEDIATYYCQQSHSYPLT FGSGTKLEIK [SEQ ID NO:135] CDR1: HASQNINFWLS [SEQ ID NO:6] CDR2: EASNLHT [SEQ ID NO:7] CDR3: QQSHSYPLT [SEQ ID NO:8]
scFv гуманизированного 16B8.C8 AB0147/ AB7410	AB0147 (VH-VL) QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVILSGGWTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGDALDYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISSLQPEDIATYYCQQSHSYPLTFGC GTKLEIK [SEQ ID NO:138] AB7410 (VL-VH) DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISSLQPEDIATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVILSGGWTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGDALDYWGQGTLTVTVSS [SEQ ID NO:139]	

Клон	VH	VL
9F11.B7	EVQLQESGGGLVQPGGSRKLS AASGFTFNSFGMHWVRQAPEK GLEWVAFISSGSTSIYYANTVK GRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRS EDTAMYYCARDGYPTGGAMD YWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:60] CDR1: GFTFNSF [SEQ ID NO:59] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: DGYPTGGAMDY [SEQ ID NO:54]	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCK ASQDIYNYLSWFQLKPGKSPRPLI YRANILVSGVPSKFSGSGSGQDYS LTINSLEYEDLGIYYCLQFDAFPFT FGSGTKLEIK [SEQ ID NO:61] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQFDAFPFT [SEQ ID NO:67]
Гуманизированное 9F11.B7 в AB0191/AB0 185 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	<u>EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSC</u> AASGFTFNSFGMHWVRQAPGK GLEWVAFISSGSTSIYYANTVK GRFTISRDNPKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDGYPTGGAM DYWGQGT <u>SVTVSS</u> [SEQ ID NO:29] CDR1: GFTFNSF [SEQ ID NO:59] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: DGYPTGGAMDY [SEQ ID NO:54]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQDIYNYLSWF <u>QQKPGKAPKPLI</u> YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDY <u>T</u> FTISLQPEDATYYCLQFDAFPFTF GSGTKLEIK [SEQ ID NO:69] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQFDAFPFT [SEQ ID NO:67]
scFv гуманизированного 9F11.B7 AB0191 / AB0185	AB0191 (VH-VL): EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLE WVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDNPKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGYPTGGAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTFITISLQPEDATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIK [SEQ ID NO:51] AB0185 (VL-VH):	

Клон	VH	VL
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTF T ISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSIYYANTV KGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDY WGQGT S TVVSS [SEQ ID NO:52]	
Гуманизиров анное 9F11.B7 в AB0192/AB0 186 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты , замена потенциальн ых участков неблагоприя тных модификаци й в последовател ьности выделена курсивом)	<u>E</u> VQLVESGGGVVQPGGSLRLSC AASGFTFNAFGMHWVRQAPGK GLEWVAFISSGSTSIYYANTVK GRFTISRDN S KNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDGYPTGGAM DYWGQGT S TVVSS [SEQ ID NO:14] CDR1: GFTFNAF [SEQ ID NO:62] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: DGYPTGGAMDY [SEQ ID NO:54]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQDIYNYLSWF <u>Q</u> QKPGKAPK <u>P</u> LI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDY <u>T</u> FTISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GSGTKLEIK [SEQ ID NO:69] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQFDAFPFT [SEQ ID NO:67]
scFv гуманизирова нного 9F11.B7 AB0192/ AB0186	AB0192 (VH-VL): EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLE WVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGYPTGGAMDYWGQGT S TVVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI	

Клон	VH	VL
	YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTF T IS S LQPED I ATYYCLQF D AF P P F T F GCGTKLEIK [SEQ ID NO:70] AB0186 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTF T IS S LQPED I ATYYCLQF D AF P P F T F GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSIYYANTV KGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDY WGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:71]	
Гуманизированное 9F11.B7 в AB0193/AB0187 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты , замена потенциаль ных участков неблагоприя тных модификаци й в последовател ьности выделена курсивом)	<u>E</u> VQLVESGGGVVQPGGSLRLSC AASGFTFNSFGMHWVRQAPGK GLEWVAFISSGSTSIYYANTVK GRFTISRDN S KNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAR <u>S</u> GYPTGGAMD YWGQGT <u>S</u> TVTVSS [SEQ ID NO:76] CDR1: GFTFNSF [SEQ ID NO:59] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: <i>S</i> GYPTGGAMDY [SEQ ID NO:79]	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQDIYNYLSWF <u>Q</u> QKPGKAPK <u>P</u> LI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDY <u>T</u> FTIS S LQPED I ATYYCLQF D AF P P F T F GSGTKLEIK [SEQ ID NO:69] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQF D AF P P F T [SEQ ID NO:67]

Клон	VH	VL
scFv гуманизиров анного 9F11.B7 AB0193/ AB0187	AB0193 (VH-VL): EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLE WVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARSGYPTGGAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTFTISLQPEDATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIK [SEQ ID NO:74] AB0187 (VL-VH): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTFTISLQPEDATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSIYYANTV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYPTGGAMDYW GQGTSVTVSS [SEQ ID NO:75]	
Гуманизиров анное 9F11.B7 в AB0194/AB0 188 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты)	<u>E</u> VQLVESGGGVVQPGGSLRLSC AASGFTFNSFGMHWVRQAPGK GLEWVAFISSGSTSIYYANTVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYC <u>A</u> RDGYPTGGAM DYWGQGT <u>S</u> TVTVSS [SEQ ID NO:29] CDR1: GFTFNSF [SEQ ID NO:59] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: DGYPTGGAMDY [SEQ ID NO:54]	DI <u>Q</u> MTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQDIYNYLSWF <u>Q</u> QKPGKAPK <u>P</u> LI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQ <u>D</u> Y <u>T</u> <u>L</u> TISSLQPEDATYYCLQFDAFPFT FGSGTKLEIK [SEQ ID NO:84] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQFDAFPFT [SEQ ID NO:67]
scFv гуманизиров анного 9F11.B7 AB0194/ AB0188	AB0194 (VH-VL): EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLE WVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGYPTGGAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI	

Клон	VH	VL
	YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIK [SEQ ID NO:81] AB0188 (VL-VH): DIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSIYYANTV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDY WGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:82]	
Гуманизированное 9F11.B7 в AB0195/AB0189 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты, замена потенциальных участков неблагоприятных модификаций в последовательности выделена курсивом)	<u>E</u> VQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDYWGQGT <u>S</u> TVTVSS [SEQ ID NO:14] CDR1: GFTFNAF [SEQ ID NO:62] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: DGYPTGGAMDY [SEQ ID NO:54]	DI <u>K</u> MTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWF <u>Q</u> QKPGKAPK <u>P</u> LIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDY <u>T</u> <u>L</u> TISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTFGSGTKLEIK [SEQ ID NO:84] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQFDAFPFT [SEQ ID NO:67]

Клон	VH	VL
scFv гуманизиров анного 9F11.B7 AB0195/ AB0189	AB0195 (VH-VL): EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLE WVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARDGYPTGGAMDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIK [SEQ ID NO:118] AB0189 (VL-VH): DIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSIYYANTV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDY WGQGTSTVTVSS [SEQ ID NO:119]	
Гуманизиров анное 9F11.B7 в AB0196/AB0 190 (обратные мутации в VH и VL подчеркнуты , замена потенциальн ых участков неблагоприя тных модификаци й в	<u>E</u> VQLVESGGGVVQPGGSLRLSC AASGFTFNSFGMHWVRQAPGK GLEWVAFISSGSTSIYYANTVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYC <u>A</u> RGYPTGGAMD YWGQGT <u>S</u> TVTVSS [SEQ ID NO:76] CDR1: GFTFNSF [SEQ ID NO:59] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: <u>S</u> GYPTGGAMDY [SEQ ID NO:79]	DI <u>K</u> MTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQDIYNYLSW <u>F</u> QQKPGKAPK <u>P</u> LI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQ <u>D</u> Y <u>T</u> <u>L</u> TISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFT FGSGTKLEIK [SEQ ID NO:84] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQFDAFPFT [SEQ ID NO:67]

Клон	VH	VL
последовательности выделена курсивом)		
scFv гуманизированного 9F11.B7 AB0196/ AB0190	AB0196 (VH-VL): EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLE WVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY YCARSGYPTGGAMDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIK [SEQ ID NO:120] AB0190 (VL-VH): DIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLI YRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTF GCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGS LRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSIYYANTV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYPTGGAMDYW GQGTSVTVSS [SEQ ID NO:121]	
Гуманизированное 9F11.B7 Консенсусная последовательность	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNX₁FGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARX₂GYPTGGAMDYWGQGTSVTVSS где X₁ представляет собой S или A, и X₂ представляет собой D или S [SEQ ID NO:115]	DIX₁MTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTX₂TISSLQPEDIATYYCLQFDAFPFTFGSGTKLEIK где X₁ представляет собой Q или K, и X₂ представляет собой F или L [SEQ ID NO:116] CDR1: KASQDIYNYLS [SEQ ID NO:65] CDR2: RANILVS [SEQ ID NO:66] CDR3: LQFDAFPFT [SEQ ID NO:67]

Клон	VH	VL
	CDR1: GFTFNXF, где X представляет собой S или A [SEQ ID NO:117] CDR2: SSGSTS [SEQ ID NO:63] CDR3: XGYPTGGAMDY, где X представляет собой D или S [SEQ ID NO:112]	
30A9.E9	EVQLQESGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTSFGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGSTDSNAAFISRLTITKDNSKSQVFFKMNSLQATDTAIYYCARSYFAMDYWGQGTSVSVSS [SEQ ID NO:113] CDR1: GFSLTSF [SEQ ID NO:87] CDR2: WSGGS [SEQ ID NO:33] CDR3: SYFAMDY [SEQ ID NO:89]	DIVMTQSPSSLAVTAGEKVTMRC KSSQSLLWNVNQNNYLLWYQQK QGQPPKLLIYGASIRESWVPDRFT GS GSGTDFTLTISNVHVEDLAVYY CQHNHGSFLPYTFGGGGTKLEIK [SEQ ID NO:114] CDR1: KSSQSLLWNVNQNNYLL [SEQ ID NO:106] CDR2: GASIRES [SEQ ID NO:92] CDR3: QHNHGSFLPYT [SEQ ID NO:46]
23A5.H8	QVQLRQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVMWSGGSTDYNAAFMSRLSISKDNSKSQVFFTMNSLQADDTAIYYCARTHFGMDYWGQGTPVTVSS [SEQ ID NO:108] CDR1: GFSLTSY [SEQ ID NO:72] CDR2: WSGGS [SEQ ID NO:33] CDR3: THFGMDY [SEQ ID NO:107]	GIVMTQSPSSLAVTAGEKVTMRC KSSQSLLWSVNQNNYLLWYQQK QGQPPKLLIYGASIRQSWVPDRFT GS GSGTDFTLSISNVHAEDLAVYY CQHNHGSFLPYTFGGGGTKLEIK [SEQ ID NO:109] CDR1: KSSQSLLWSVNQNNYLL [SEQ ID NO:111] CDR2: GASIRQS [SEQ ID NO:105] CDR3: QHNHGSFLPYT [SEQ ID NO:46]
20D6.H8	EVQLQESGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTSFGIHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGNTDSNAAFISRLSITKDISKSQVFFKMNSLQVTD	GIVMTQSPSSLAVTAGEKVTMRC KSSQSLLWNVNQNNYL V WYQQK QGQPPKLLIYGASIRESWVPDRFT

Клон	VH	VL
	AIYYCARSYFAMDYWGQGTSV TVSS [SEQ ID NO:104] CDR1: GFSLTSF [SEQ ID NO:87] CDR2: WSGGN [SEQ ID NO:102] CDR3: SYFAMDY [SEQ ID NO:89]	GSGSGTDFTLTISNVHAEDLAVYY CQHNHGSFLPYTFGGGKLEIK [SEQ ID NO:103] CDR1: KSSQSLLWNVNQNNYL V [SEQ ID NO:18] CDR2: GASIRES [SEQ ID NO:92] CDR3: QHNHGSFLPYT [SEQ ID NO:46]
15A10.G8	EVQLQESGAELVRSGASIKLSC AASAFNIKDYFIHWVRQRPDQG LEWIGWIDPENDDTEYAPKFQD KATMTADTSSNTAYLQLSSLTS ADTAVYYCNALWSRGGYFDY WGQGTTTLTVSS [SEQ ID NO:22] CDR1: AFNIKDY [SEQ ID NO:26] CDR2: DPENDD [SEQ ID NO:37] CDR3: LWSRGGYFDY [SEQ ID NO:50]	EVLLTQSPAIIAASPGKVTITCSA RSSVSYMSWYQQKPGSSPKIWIYG ISKLASGVPARFSGSGSGTYFSFTI NNLEAEDVATYYCQQRSYYPFTF GSGTKLEIK [SEQ ID NO:25] CDR1: SARSSVSYMS [SEQ ID NO:53] CDR2: GISKLAS [SEQ ID NO:55] CDR3: QQRSYYPFT [SEQ ID NO:56]
13E1.A4	EVQLQESGPELEKPGASVRISCK ASGYSFTAYNMNWVKQSNGKS LEWIGNIDPSYGDATYNQKFKG KATLTVDKSSSTAYMQLKSLTS EDSAVYYCARDNYYGSGYFDY WGQGTTTLTVSS [SEQ ID NO:57] CDR1: GYSFTAY [SEQ ID NO:64] CDR2: DPSYGD [SEQ ID NO:68] CDR3: DNYYGSGYFDY [SEQ ID NO:73]	SVLMTQTPLSLPVSLGDRASISCRS SQGIVHINGNTYLEWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSG TDFTLKISRVEAEDLGYYCFQGS HVPWTFGGGKLEIK [SEQ ID NO:58] CDR1: RSSQGIVHINGNTYLE [SEQ ID NO:77] CDR2: KVSNRFS [SEQ ID NO:78] CDR3: FQGSHVPWT [SEQ ID NO:80]

Клон	VH	VL
12F8.H7	EVQLQESGAELVRSGASVKLSC TVSGFNIKDYMHVVKQRPEQ GLEWIGWIDPENGDTENVPKFQ GKATMTADTSSNTAYLQLRSLT SEDTAVYYCKSYYYDSSSRVYV DVWGAGTTVTVSS [SEQ ID NO:83] CDR1: GFNIKDY [SEQ ID NO:86] CDR2: DPENGD [SEQ ID NO:88] CDR3: YYYDSSSRVYDV [SEQ ID NO:127]	GIVMTQAPLTLSTIGQPASISCKS SQSLDSDGKTFLNWFLQRPGQSP KRLISLVSKLDSGVPDRFTGSGSG TDFTLKL SRVEPEDLG VYYCWQG THFPYTFGGG TKLEIK [SEQ ID NO:85] CDR1: KSSQSLDSDGKTFLN [SEQ ID NO:90] CDR2: LVSKLDS [SEQ ID NO:91] CDR3: WQGTHFPYT [SEQ ID NO:93]
9E4.B7	EVQLQESGAELMKPGASVKISC RTTGYTFSTYWIEWVKQRPGR GPEWIGELFPGNSDTTLNEKFT GKATFTADSSSNTAYMQLSSLT SEDSAVYYCARSGYYGSSLDY WGQGTTTLTVSS [SEQ ID NO:94] CDR1: GYTFSTY [SEQ ID NO:96] CDR2: FPGNSD [SEQ ID NO:97] CDR3: SGYYGSSLDY [SEQ ID NO:98]	GIVMTQSPASLSASVGETVTITCR AGENIHSYLA WYQQKQ GKSPQLL VYNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQF SLKINSLQPEDFGSYQCQHHYGTP RTFGGG TKLEIK [SEQ ID NO:95] CDR1: RAGENIHSYLA [SEQ ID NO:99] CDR2: NAKTLAE [SEQ ID NO:100] CDR3: QHHYGTPRT [SEQ ID NO:101]

[0080] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящей заявке содержит вариабельный домен тяжелой цепи антитела (VH), который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную VH антитела, раскрытого в таблице 1,

и вариабельный домен легкой цепи антитела (VL), который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную VH того же антитела, раскрытого в таблице 1. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, определенные согласно Kabat (см. Kabat et al., (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, NIH Publication No. 91-3242, Bethesda), Chothia (см, например, Chothia C & Lesk A M, (1987), *J Mol Biol* 196: 901-917), MacCallum (см. MacCallum R M *et al.*, (1996) *J. Mol. Biol.* 262: 732-745) или любому другому известному из уровня техники способу определения CDR последовательностей VH и VL антитела, раскрытых в таблице 1. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи антитела, раскрытого в таблице 1.

15 **[0081]** В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из 16B8.C8. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:1, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:2. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно.

[0082] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1292 или scFv-1301. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (а) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 3 или 12.

[0083] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1293 или scFv-1302. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:13, и VL, который

содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 15 или 16.

[0084] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1294 или scFv-1303. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:110, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В

определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 19 или 20.

[0085] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1295 или scFv-1304. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:45, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по

меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 23 или 24.

[0086] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1296 или scFv-1305. Например, в

5 определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%)
10 идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:122, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:10. В определенных
15 вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH,
20 который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит
25 аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 27 или 28.

[0087] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок,

30 описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1297 или scFv-1306. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%,

по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:30. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 31 или 32.

[0088] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1298 или scFv-1307. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:34. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В

определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В

определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные

5 последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по 10 меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 35 или 36.

[0089] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1299 или scFv-1308. Например, в

15 определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%)

20 идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:38. В определенных

25 вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В

определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, 30 который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные

последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит

аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 39 или 40.

5 [0090] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1300 или scFv-1309. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:41, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:42. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 43 или 44.

30 [0091] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из scFv-1602 или scFv-2601. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность,

на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%)

идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:45, и VL, который

- 5 содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:140. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие
- 10 аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные
- 15 последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей
- 20 мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 47 или 48. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по
- 25 меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 47.

[0092] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок,

описанный в настоящей заявке, получают из гуманизированного 16B8.C8. Например, в

- 30 определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%)

идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:49, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:17. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно.

определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно.

[0093] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из AB0305 или AB5030. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:128, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:129. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:147, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по

меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:148. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 130 и 131 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 130 и 131 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 132 или 133.

[0094] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из AB0147 или AB7410. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:134, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:135. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 136 и 137 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные

последовательности под SEQ ID NO: 11, 136 и 137 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит

5 аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 138 или 139.

[0095] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок,

10 описанный в настоящей заявке, получают из 9F11.B7. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную

15 аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:60, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:61. В определенных вариантах

20 осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В

25 определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно.

30 **[0096]** В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из AB0191 или AB0185. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по

меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%)

идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:29, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по

5 меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:69. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие

аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно. В

10 определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В

определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные

последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно; и (b) VL, который

15 содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления

антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит

аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по

20 меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 51 или 52.

[0097] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок,

описанный в настоящей заявке, получают из AB0192 или AB0186. Например, в

определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в

25 настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по

меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%)

идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:14, и VL, который

30 содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%,

по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:69. В определенных

вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие

аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 62, 63 и 54 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 62, 63 и 54 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 70 или 71.

[0098] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из AB0193 или AB0187. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:76, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:69. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 79 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 79 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления

антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 74 или 75.

[0099] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из AB0194 или AB0188. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:29, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:84. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 81 или 82.

[0100] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из AB0195 или AB0189. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в

настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%)

5 идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:14, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:84. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 62, 63 и 54 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, 15 который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 62, 63 и 54 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит 20 аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 118 или 119.

[0101] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, 25 описанный в настоящей заявке, получают из AB0196 или AB0190. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, 30 по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:76, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере

98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:84. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 79 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 59, 63 и 79 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок представлен в виде scFv, где scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO: 120 или 121.

[0102] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из гуманизированного 9F11.B7. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:115, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:116. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 117, 63 и 112 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 117, 63 и 112 соответственно; и (b) VL, который

содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно.

[0103] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из 30A9.E9. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:113, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:114. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 33 и 89 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 106, 92 и 46 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 33 и 89 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 106, 92 и 46 соответственно.

[0104] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из 23A5.H8. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:108, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%,

по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:109. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 72, 33 и 107 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие

5 аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 111, 105 и 46 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 72, 33 и 107 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под
10 SEQ ID NO: 111, 105 и 46 соответственно.

[0105] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из 20D6.H8. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей
15 мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:104, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей
20 мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:103. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 102 и 89 соответственно. В определенных
25 вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 18, 92 и 46 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 102 и 89 соответственно; и (b) VL, который
30 содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 18, 92 и 46 соответственно.

[0106] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из 15A10.G8. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке,

содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную

5 аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:22, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:25. В определенных вариантах
10 осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 26, 37 и 50 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 53, 55 и 56 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH,
15 который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 26, 37 и 50 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 53, 55 и 56 соответственно.

[0107] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок,
20 описанный в настоящей заявке, получают из 13E1.A4. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную
25 аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:57, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:58. В определенных вариантах
30 осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 64, 68 и 73 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 77, 78 и 80 соответственно. В

определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 64, 68 и 73 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 77, 78 и 80 соответственно.

[0108] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из 12F8.H7. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:83, и VL, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:85. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 86, 88 и 127 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 90, 91 и 93 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 86, 88 и 127 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 90, 91 и 93 соответственно.

[0109] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, получают из 9E4.B7. Например, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, содержит VH, который содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:94, и VL, который содержит

аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:95. В определенных вариантах осуществления VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 96, 97, 98 соответственно. В определенных вариантах осуществления VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 99, 100, 101 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит (a) VH, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 96, 97, 98 соответственно; и (b) VL, который содержит CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 99, 100, 101 соответственно.

[0110] В каждом из вышеприведенных вариантов осуществления в настоящем документе предполагается, что последовательности VH и/или VL, которые вместе связывают CLEC12A, могут содержать аминокислотные изменения (например, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или 10 аминокислотных замен, делеций или добавлений) в каркасных областях VH и/или VL без существенного влияния на их способность связываться с CLEC12A.

[0111] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, связывает CLEC12A человека с K_D (т. е. константой диссоциации), составляющей 1 нМ или ниже, 5 нМ или ниже, 10 нМ или ниже, 15 нМ или ниже или 20 нМ или ниже, как измерено посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (например, с применением способа, описанного в примере 1 *infra*) или посредством биослойной интерферометрии (BLI), и/или связывает CLEC12A из жидкости, ткани и/или клетки организма субъекта. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, характеризуется K_d (т. е. скоростью диссоциации, также называемой K_{off}), составляющей 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 5×10^{-3} , 0,01, 0,02 или 0,05 1/с или ниже, как измерено посредством SPR (например, с применением способа, описанного в примере 1 *infra*) или посредством BLI.

[0112] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, полученный из 15A10.G8 или 20D6.A8, связывает CLEC12A яванского макака с K_D (т. е. константой диссоциации), составляющей 5 нМ или ниже, 10 нМ или ниже, 15 нМ или ниже, 20 нМ или ниже или 30 нМ или ниже, как измерено посредством поверхностного

плазмонного резонанса (SPR) (например, с применением способа, описанного в примере 1 *infra*) или посредством биослойной интерферометрии (BLI), и/или связывает CLEC12A из жидкости, ткани и/или клетки организма субъекта. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке,

5 характеризуется K_d (т. е. скоростью диссоциации, также называемой K_{off}), составляющей 1×10^{-3} , 5×10^{-3} , 0,01, 0,02 или 0,03 1/с или ниже, как измерено посредством SPR (например, с применением способа, описанного в примере 1 *infra*) или посредством BLI.

[0113] Сообщалось о вариациях статуса гликозилирования CLEC12A на поверхности различных типов клеток (Marshall et al., (2006) Eur J Immunol. 36(8):2159-69). CLEC12A, экспрессируемый на поверхности клеток AML у разных пациентов, также может иметь разные паттерны гликозилирования. Более того, разветвленные гликаны могут ограничивать доступ к белковому компоненту CLEC12A, ограничивая разнообразие доступных эпитопов. Определенные антигенсвязывающие участки, описанные в

10 настоящей заявке, способны преодолевать вариации гликозилирования. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, например, антигенсвязывающий участок, полученный из 16B8.C8, гуманизированного 16B8.C8, 9F11.B7 или гуманизированного 9F11.B7, связывает CLEC12A (например, CLEC12A человека) независимым от гликозилирования образом, т. е. связывает как

гликозилированный CLEC12A, так и дегликозилированный CLEC12A. В определенных вариантах осуществления соотношение K_D , при котором антигенсвязывающий участок связывает дегликозилированный CLEC12A, и K_D , при котором антигенсвязывающий участок связывает гликозилированный CLEC12A, находится в диапазоне от 1:10 до 10:1 (например, в диапазоне от 1:5 до 5:1, от 1:3 до 3:1 или от 1:2 до 2:1). В определенных вариантах осуществления соотношение составляет приблизительно 1:5, приблизительно

15 1:3, приблизительно 1:2, приблизительно 1:1,5, приблизительно 1:1, приблизительно 1,5:1, приблизительно 2:1, приблизительно 3:1 или приблизительно 5:1. В определенных вариантах осуществления соотношение составляет приблизительно 1:1. В другом аспекте настоящее изобретение предусматривает антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A (например, CLEC12A человека) независимым от гликозилирования

30 образом.

[0114] CLEC12A, содержащий замену K244Q, представляет собой полиморфный вариант, распространенный у приблизительно 30% населения. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе, связывает CLEC12A-K244Q. В определенных вариантах осуществления соотношение K_D , при

котором антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A-K244Q, и K_D, при котором антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A дикого типа, находится в диапазоне от 1:2 до 2:1. В определенных вариантах осуществления соотношение составляет приблизительно 1:2, приблизительно 1:1,5, приблизительно 1:1, приблизительно 1,5:1 или приблизительно 2:1. В определенных вариантах осуществления соотношение составляет приблизительно 1:1.

[0115] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает антигенсвязывающий участок, который конкурирует за связывание с CLEC12A (например, CLEC12A человека) с антигенсвязывающим участком, описанным выше. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, конкурирует с антигенсвязывающим участком, полученным из 16B8.C8, раскрытым выше, за связывание с CLEC12A. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с 16B8.C8 за связывание с CLEC12A. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок по настоящей заявке конкурирует с антигенсвязывающим участком, полученным из гуманизированного 16B8.C8, раскрытым выше, за связывание с CLEC12A. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с гуманизированным 16B8.C8 за связывание с CLEC12A. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, конкурирует с антигенсвязывающим участком, полученным из 9F11.B7, раскрытым выше, за связывание с CLEC12A. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с 9F11.B7 за связывание с CLEC12A. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, конкурирует с антигенсвязывающим участком, полученным из гуманизированного 9F11.B7, раскрытым выше, за связывание с CLEC12A. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с гуманизированным 9F11.B7 за связывание с CLEC12A. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, конкурирует с антигенсвязывающим участком, полученным из 12F8.H7, 13E1.A4, 15A10.E8, 20D6.H8 или 23A5.H8, раскрытым выше, за связывание с CLEC12A. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий участок конкурирует с 12F8.H7, 13E1.A4, 15A10.E8, 20D6.H8 или 23A5.H8 за связывание с CLEC12A.

Белки с антигенсвязывающими участками

[0116] Раскрытый в данном документе антигенсвязывающий участок может присутствовать в антителе или его антигенсвязывающем фрагменте. Антитело может

представлять собой моноклональное антитело, химерное антитело, диатело, Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент, Fv, биспецифическое антитело, биспецифический Fab₂, биспецифическое (mab)₂, гуманизированное антитело, искусственно созданное человеческое антитело, биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки,

- 5 биспецифический активатор, привлекающий NK-клетки, одноцепочечное антитело (например, одноцепочечный Fv-фрагмент или scFv), triomab, IgG с общей легкой цепью, полученный посредством подхода "выступы-во впадины", crossmab, IgG с орто-Fab , DVD-Ig, 2 в 1-IgG, IgG-scFv, sdFv2-Fc, би-наноантитело, tandAb, перенацеливающееся антитело с двойной аффинностью (DART), DART-Fc, scFv-HSA-scFv (где HSA =
10 человеческий сывороточный альбумин) или Fab3, полученный посредством подхода стыковка-и-блокирование (DNL).

- [0117] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе, связан с аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или
15 100%) идентичной константной области антитела, например, константным областям тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE; в частности, выбранным, например, из константных областей тяжелой цепи (например, человека) IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. В другом варианте осуществления антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе, может быть связан с константной областью легкой цепи, выбранной,
20 например, из константных областей легкой цепи (например, человека) каппа или лямбда. Константная область может быть изменена, например, мутирована, для модификации свойств антитела (например, для повышения или снижения одного или нескольких из связывания Fc-рецептора, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, функции эффекторных клеток и/или функции комплемента). В одном варианте
25 осуществления антитело характеризуется эффекторной функцией и способно фиксировать комплемент. В других вариантах осуществления антитело не рекрутирует эффекторные клетки или не фиксирует комплемент. В другом варианте осуществления антитело характеризуется сниженной способностью к связыванию Fc-рецептора или вовсе не характеризуется ею. Например, оно относится к изотипу или подтипу, представляет собой
30 фрагмент или другой мутантный вариант, которые не поддерживают связывание с Fc-рецептором, например, оно содержит измененную с применением мутагена или deletированную область связывания Fc-рецептора.

[0118] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связан с константной областью IgG, включая шарнир, домены CH2 и CH3 с доменом CH1 или без

него. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность константной области на по меньшей мере 90% (например, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентична константной области человеческого антитела, такой как константная область человеческого IgG1, константная область человеческого IgG2, константная область человеческого IgG3 или константная область человеческого IgG4. В одном варианте осуществления Fc-домен антитела или его часть, достаточная для связывания CD16, содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную последовательности Fc человеческого IgG1 дикого типа.

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID

NO:21). В некоторых других вариантах осуществления аминокислотная последовательность константной области на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентична константной области антитела другого млекопитающего, такого как кролик, собака, кошка, мышь или лошадь. Одна или несколько мутаций могут быть включены в константную область по сравнению с константной областью человеческого IgG1, например, в Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и/или K439. Иллюстративные замены предусматривают, например, Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, T350V, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, T394W, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D, и K439E.

[0119] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок связан с частью Fc-домена антитела, достаточной для связывания CD16. В Fc-домене связывание CD16 опосредуется шарнирной областью и доменом CH2. Например, в IgG1 человека

взаимодействие с CD16 в первую очередь сосредоточено на аминокислотных остатках Asp 265 – Glu 269, Asn 297 – Thr 299, Ala 327 – Ile 332, Leu 234 – Ser 239 и углеводном остатке N-ацетил-D-глюкозамин в домене CH2 (см. Sondermann *et al.*, Nature, 406 (6793):267-273).

На основе известных доменов можно выбирать мутации для усиления или снижения

- 5 аффинности связывания с CD16, как например с использованием библиотек, представленных в фаговом дисплее, или библиотек cDNA, отображаемых на поверхности дрожжей, или их можно разрабатывать на основе известной трехмерной структуры взаимодействия.

- [0120] В определенных вариантах осуществления мутации, которые могут быть
10 включены в CH1 константной области IgG1 человека, могут затрагивать аминокислоты V125, F126, P127, T135, T139, A140, F170, P171 и/или V173. В определенных вариантах осуществления мутации, которые могут быть включены в Cκ константной области IgG1 человека, могут затрагивать аминокислоты E123, F116, S176, V163, S174 и/или T164.

- [0121] В некоторых вариантах осуществления константный домен антитела содержит
15 домен CH2 и домен CH3 антитела IgG, например, человеческого антитела IgG1. В некоторых вариантах осуществления в константный домен антитела вводят мутации для обеспечения гетеродимеризации с другим константным доменом антитела. Например, если константный домен антитела получен из константного домена человеческого IgG1, то константный домен антитела может содержать аминокислотную последовательность,
20 на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотам 234-332 человеческого антитела IgG1 и отличающуюся в одном или нескольких положениях, выбранных из группы, состоящей из Q347, Y349,
25 L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411, и K439. Все аминокислотные положения в Fc-домене или шарнирной области, раскрытые в данном документе, пронумерованы в соответствии с нумерацией EU.

- [0122] Для облегчения образования асимметричного белка предполагается
30 гетеродимеризация Fc-доменов. Мутации (например, аминокислотные замены) в Fc-домене, которые способствуют гетеродимеризации, описаны, например, в публикации международной патентной заявки № WO 2019157366, которая не включена в данный документ посредством ссылки.

[0123] Белки, описанные выше, можно получать с применением технологии рекомбинантной ДНК, хорошо известной специалисту в данной области техники.

Например, первая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая первую тяжелую цепь иммуноглобулина, может быть клонирована в первый вектор экспрессии;

5 вторая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вторую тяжелую цепь иммуноглобулина, может быть клонирована во второй вектор экспрессии; третья последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая первую легкую цепь иммуноглобулина, может быть клонирована в третий вектор экспрессии; четвертая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая вторую легкую цепь
10 иммуноглобулина, может быть клонирована в четвертый вектор экспрессии; при этом первым, вторым, третьим и четвертым векторами экспрессии можно стабильно совместно трансфицировать клетки-хозяева с получением мультимерных белков.

[0124] Для достижения наиболее высокого выхода белков можно исследовать различные соотношения первого, второго, третьего и четвертого векторов экспрессии,
15 чтобы определить оптимальное соотношение для трансфекции клеток-хозяев. После трансфекции отдельные клоны могут быть выделены для создания банка клеток с применением способов, известных из уровня техники, таких как предельное разбавление, ELISA, FACS, микроскопия или Clonepix.

[0125] Клоны можно культивировать в условиях, подходящих для масштабирования при продуцировании в биореакторе и поддержания экспрессии белка, содержащего антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе. Белок можно выделить и
20 очистить с применением способов, известных из уровня техники, включая центрифугирование, глубинную фильтрацию, лизис клеток, гомогенизацию, замораживание-оттаивание, аффинную очистку, гель-фильтрацию, ионообменную хроматографию, ионообменную хроматографию гидрофобного взаимодействия и
25 хроматографию в смешанном режиме.

[0126] Соответственно, в другом аспекте настоящая заявка предусматривает одну или несколько выделенных нуклеиновых кислот, содержащих последовательности, кодирующие переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина и/или легкой цепи
30 иммуноглобулина из любого из вышеуказанных антител. Настоящая заявка предусматривает один или несколько векторов экспрессии, которые экспрессируют переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина и/или легкой цепи иммуноглобулина из любого из вышеуказанных антител. Сходным образом, настоящая

заявка предусматривает клетки-хозяева, содержащие одно или несколько из вышеуказанных векторов экспрессии и/или выделенных нуклеиновых кислот.

[0127] В определенных вариантах осуществления антитело связывает CLEC12A с K_D , составляющей 25 нМ, 20 нМ, 15 нМ, 10 нМ, 9 нМ, 8 нМ, 7 нМ, 6 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, 1 нМ, 0,1 нМ или ниже, как измерено с применением стандартных анализов связывания, например, поверхностного плазмонного резонанса или биослойной интерферометрии. В определенных вариантах осуществления антитело связывает CLEC12A из жидкости, ткани и/или клетки организма субъекта.

[0128] Из уровня техники известны конкурентные анализы для определения того, связывается ли антитело с тем же эпитопом, что и раскрытое антитело, или конкурирует ли оно за связывание с ним. Иллюстративные конкурентные анализы предусматривают иммуноанализы (например, анализы ELISA, анализы RIA), поверхностный плазмонный резонанс (например, анализ BIAcore), биослойную интерферометрию и проточную цитометрию.

[0129] Как правило, конкурентный анализ предусматривает применение антигена (например, белка CLEC12A человека или его фрагмента), связанного с твердой поверхностью или экспрессируемого на клеточной поверхности, тестируемого CLEC12A-связывающего антитела и эталонного антитела. Эталонное антитело является меченым, а тестируемое антитело является немеченым. Конкурентное ингибирование измеряют посредством определения количества меченого эталонного антитела, связанного с твердой поверхностью или клетками, в присутствии тестируемого антитела. Обычно тестируемое антитело присутствует в избытке (например, в 1х, 5х, 10х, 20х или 100х). Антитела, идентифицированные посредством конкурентного анализа (например, конкурирующие антитела), предусматривают антитела, связывающиеся с тем же эпитопом или сходными (например, перекрывающимися) эпитопами, что и эталонное антитело, и антитела, связывающиеся с соседним эпитопом, достаточно проксимальным по отношению к эпитопу, связанному эталонным антителом, для возникновения стерических препятствий.

[0130] Конкурентный анализ можно проводить в обоих направлениях, чтобы гарантировать, что присутствие метки не препятствует или иным образом не ингибирует связывание. Например, в первом направлении эталонное антитело является меченым, а тестируемое антитело является немеченым, а во втором направлении тестируемое антитело является меченым, а эталонное антитело является немеченым.

[0131] Тестируемое антитело конкурирует с эталонным антителом за специфическое связывание с антигеном, если избыток одного антитела (например, 1х, 5х, 10х, 20х или

100x) ингибирует связывание другого антитела, например, на по меньшей мере 50%, 75%, 90%, 95% или 99%, как измерено в анализе конкурентного связывания.

[0132] Можно определить, что два антитела связываются с одним и тем же эпитопом, если практически все аминокислотные мутации в антигене, которые снижают или

5 устраняют связывание одного антитела, снижают или устраняют связывание другого.

Можно определить, что два антитела связываются с перекрывающимися эпитопами, если только подгруппа аминокислотных мутаций, которые снижают или устраняют связывание одного антитела, снижает или устраняет связывание другого.

[0133] Антитела, раскрытые в данном документе, могут быть дополнительно

10 оптимизированы (например, подвергнуты созреванию аффинности) для улучшения биохимических характеристик, включая аффинность и/или специфичность, улучшения биофизических свойств, включая агрегацию, стабильность, преципитацию и/или неспецифические взаимодействия, и/или для снижения иммуногенности. Процедуры созреваания аффинности известны специалистам в данной области техники. Например, 15 разнообразие может быть введено в тяжелую цепь иммуноглобулина и/или легкую цепь иммуноглобулина посредством шаффлинга ДНК, шаффлинга цепей, шаффлинга CDR, случайного мутагенеза и/или сайт-специфического мутагенеза.

[0134] В определенных вариантах осуществления выделенные человеческие антитела содержат одну или несколько соматических мутаций. В этих случаях антитела можно 20 модифицировать с получением человеческой последовательности зародышевого типа для оптимизации антитела (например, посредством способа, называемого модифицирование на уровне генов зародышевого типа).

[0135] Обычно оптимизированное антитело характеризуется по меньшей мере такой же или практически такой же аффинностью к антигену, что и неоптимизированное (или 25 исходное) антитело, из которого оно получено. Предпочтительно оптимизированное антитело характеризуется более высокой аффинностью к антигену по сравнению с исходным антителом.

[0136] Если антитело предназначено для применения в качестве терапевтического средства, оно может быть конъюгировано с эффекторным средством, таким как

30 низкомолекулярный токсин или радионуклид, с применением стандартных химических методов конъюгации *in vitro*. Если эффекторное средство представляет собой полипептид, то антитело может быть химически конъюгировано с эффектором или присоединено к эффектору в виде слитого белка. Конструирование слитых белков известно специалистам в данной области техники.

[0137] Антитело может быть конъюгировано с эффекторным фрагментом, таким как низкомолекулярный токсин или радионуклид, с применением стандартных химических методов конъюгации *in vitro*. Если эффекторный фрагмент представляет собой полипептид, то антитело может быть химически конъюгировано с эффектором или присоединено к эффектору в виде слитого белка. Конструирование слитых белков известно специалистам в данной области техники.

Т-клетки с CAR, CLEC12A/CD3-направленные биспецифические активаторы, привлекающие Т-клетки, иммуноцитокينات, конъюгаты антитело-лекарственное средство и иммунотоксины

[0138] Другой аспект настоящей заявки предусматривает молекулу или комплекс, содержащие антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, как раскрыто в данном документе. Иллюстративные молекулы или комплексы включают без ограничения химерные антигенные рецепторы (CAR), активаторы, привлекающие Т-клетки (например, CLEC12A/CD3-направленные биспецифические активаторы, привлекающие Т-клетки), иммуноцитокينات, конъюгаты антитело-лекарственное средство и иммунотоксины.

[0139] Можно использовать любой антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, как раскрыто в данном документе. В определенных вариантах осуществления последовательности VH, VL и/или CDR антигенсвязывающего участка, который связывает CLEC12A, представлены в таблице 1. В определенных вариантах

осуществления антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, представляет собой scFv. В определенных вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138, и 139. В определенных вариантах осуществления scFv содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138, и 139.

[0140] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A в молекуле или комплексе (например, CAR, активаторе, привлекающем Т-клетки, иммуноцитокине, конъюгате антитело-лекарственное средство или иммунотоксине), содержит вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий

последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и вариабельный домен легкой цепи, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В

- 5 определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичной
- 10 аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:45, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности
- 15 под SEQ ID NO:140. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит scFv, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:47
- 20 или SEQ ID NO:48. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит scFv, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:47.

25 *Химерные антигенные рецепторы (CAR)*

[0141] В определенных вариантах осуществления настоящая заявка предусматривает CAR, нацеливающийся на CLEC12A, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, как раскрыто в данном документе (см., например, таблицу 1). CAR, нацеливающийся на CLEC12A, может содержать Fab-фрагмент или scFv.

- 30 [0142] Термин "химерный антигенный рецептор" или, в качестве альтернативы, "CAR", относится к рекомбинантной полипептидной конструкции, содержащей по меньшей мере внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, предусматривающий функциональный сигнальный

домен, полученный из стимулирующей молекулы (также называемый в данном документе как "первичный сигнальный домен").

[0143] Соответственно, в определенных вариантах осуществления CAR содержит внеклеточный антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, раскрытый в данном документе, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, предусматривающий первичный сигнальный домен. В определенных вариантах осуществления CAR дополнительно содержит один или несколько функциональных сигнальных доменов, полученных из по меньшей мере одной костимулирующей молекулы (также называемый "костимулирующим сигнальным доменом").

[0144] В определенных вариантах осуществления CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A (например, CLEC12A-связывающий scFv), раскрытый в данном документе как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, предусматривающий первичный сигнальный домен. В определенных вариантах осуществления CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A (например, CLEC12A-связывающий scFv), раскрытый в данном документе как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий костимулирующий сигнальный домен и первичный сигнальный домен. В определенных вариантах осуществления CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A (например, CLEC12A-связывающий scFv), раскрытый в данном документе как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий два костимулирующих сигнальных домена и первичный сигнальный домен. В определенных вариантах осуществления CAR предусматривает химерный слитый белок, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A (например, CLEC12A-связывающий scFv), раскрытый в данном документе как внеклеточный антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, содержащий по меньшей мере два костимулирующих сигнальных домена и первичный сигнальный домен.

[0145] Например, в определенных вариантах осуществления внеклеточный антигенсвязывающий домен содержит антигенсвязывающий участок (например, scFv), содержащий вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями под SEQ ID NO:

11, 4 и 5 соответственно; и вариабельный домен легкой цепи, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, представленные аминокислотными последовательностями под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит вариабельный домен тяжелой цепи с аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:45, и вариабельный домен легкой цепи с аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:140. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит scFv, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:47 или SEQ ID NO:48. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок содержит scFv, содержащий аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную SEQ ID NO:47.

[0146] Что касается трансмембранного домена, то в различных вариантах осуществления CAR сконструирован таким образом, что содержит трансмембранный домен, который слит с внеклеточным доменом CAR. В одном варианте осуществления трансмембранный домен представляет собой домен, который естественным образом ассоциирован с одним из доменов в CAR. В некоторых случаях трансмембранный домен может быть выбран или модифицирован посредством аминокислотной замены для избежания связывания таких доменов с трансмембранными доменами того же белка или других поверхностных мембранных белков, чтобы свести к минимуму взаимодействия с другими представителями рецепторного комплекса. В другом варианте осуществления трансмембранный домен способен к гомодимеризации с другим CAR на поверхности Т-клетки с CAR. В другом варианте осуществления аминокислотная последовательность

трансмембранного домена может быть модифицирована или заменена таким образом, чтобы свести к минимуму взаимодействия со связывающими доменами нативного партнера по связыванию, присутствующего в той же Т-клетке с CAR.

[0147] Трансмембранный домен может быть получен из любого встречающегося в

5 природе белка, связанного с мембраной, или трансмембранного белка. В одном варианте осуществления трансмембранная область способна передавать сигнал внутриклеточному домену(доменам) всякий раз, когда CAR связывается с мишенью. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен содержит трансмембранную область(области) одного или нескольких белков, выбранных из группы, состоящей из α -цепи TCR, β -цепи TCR, ζ -цепи TCR, CD28, CD3 ϵ , CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CLEC12A, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 и CD154. В некоторых вариантах осуществления трансмембранный домен содержит трансмембранную область(области) одного или нескольких белков, выбранных из группы, состоящей из KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R β , IL2R γ , IL7R α , ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (тактильного), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D, и NKG2C.

[0148] Домен внеклеточного CLEC12A-связывающего домена (например, CLEC12A-связывающего домена scFv) может быть соединен с трансмембранным доменом посредством шарнирной области. Можно применять различные шарниры, включая без

25 ограничения шарнир человеческого Ig (иммуноглобулина) (например, шарнир IgG4, шарнир IgD), линкер Gly-Ser, линкер (G4S)₄, шарнир KIR2DS2 и шарнир CD8 α .

[0149] Внутриклеточный сигнальный домен CAR, описанный в настоящей заявке, отвечает за активацию по меньшей мере одной из специализированных функций иммунной клетки (например, цитолитической активности или хелперной активности, включая секрецию цитокинов, Т-клетки), на поверхность которой был помещен CAR. Таким образом, используемый в данном документе термин "внутриклеточный сигнальный домен" относится к части белка, которая передает эффекторный функциональный сигнал и направляет клетку на выполнение специализированной функции. Хотя обычно можно применять весь внутриклеточный сигнальный домен, во многих случаях нет

30

необходимости использовать всю цепь. В той степени, в которой используют усеченную часть внутриклеточного сигнального домена, такую усеченную часть можно использовать вместо интактной цепи, если она передает эффекторный функциональный сигнал. Таким образом, подразумевается, что термин внутриклеточный сигнальный домен

5 предусматривает любую усеченную часть внутриклеточного сигнального домена, достаточную для передачи эффекторного функционального сигнала.

[0150] Внутриклеточный сигнальный домен CAR содержит первичный сигнальный домен (т. е. функциональный сигнальный домен, полученный из стимулирующей молекулы) и один или несколько костимулирующих сигнальных доменов (т. е. функциональных сигнальных доменов, полученных из по меньшей мере одной костимулирующей молекулы).

[0151] Используемый в данном документе термин "стимулирующая молекула" относится к молекуле, экспрессируемой иммунной клеткой, например, Т-клеткой, НК-клеткой или В-клеткой, которая обеспечивает цитоплазматическую сигнальную последовательность(последовательности), регулирующую активацию иммунной клетки стимулирующим образом, для по меньшей мере некоторых аспектов сигнального пути иммунной клетки. В одном варианте осуществления сигнал представляет собой первичный сигнал, который инициируется, например, посредством связывания комплекса TCR/CD3 с молекулой МНС, загруженной пептидом, и который приводит к опосредованию Т-клеточного ответа, включая без ограничения пролиферацию, активацию, дифференцировку и т. п.

[0152] Первичные сигнальные домены, которые действуют стимулирующим образом, могут содержать сигнальные мотивы, которые известны как иммунорецепторные активирующие мотивы на основе тирозина или ITAM. Примеры ITAM, содержащего цитоплазматические сигнальные последовательности, которые особенно применимы в настоящей заявке, включают ITAM, полученный из CD3-дзета, общей гамма-цепи FcR (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12. В одном варианте осуществления первичный сигнальный домен в любом одном или нескольких CAR, описанных в настоящей заявке, содержит цитоплазматическую сигнальную последовательность, полученную из CD3-дзета.

[0153] В некоторых вариантах осуществления первичный сигнальный домен представляет собой функциональный сигнальный домен TCR-дзета, FcR-гамма, FcR-бета, CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD66d, 4-1BB и/или

CD3-дзета. В варианте осуществления внутриклеточный сигнальный домен предусматривает функциональный сигнальный домен CD3-дзета, общей гамма-цепи FcR (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и/или DAP12. В конкретном варианте осуществления

5 первичный сигнальный домен представляет собой функциональный сигнальный домен дзета-цепи, ассоциированный с комплексом Т-клеточного рецептора.

[0154] Используемый в данном документе термин "костимулирующая молекула" относится к когнатному партнеру по связыванию на поверхности Т-клетки, который специфически связывается с костимулирующим лигандом, опосредуя таким образом

10 костимулирующий ответ Т-клетки, такой как без ограничения пролиферация.

Костимулирующая молекула представляет собой молекулу клеточной поверхности, отличную от антигенного рецептора или его лигандов, которая необходима для эффективного ответа лимфоцитов на антиген. Примеры таких молекул включают CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, антиген-1, ассоциированный с

15 функцией лимфоцитов (LFA-1, CD11a/CD18), CD2, CD7, CD258 (LIGHT), NKG2C, B7-H3 и лиганд, который специфически связывается с CD83, и т. п. Дополнительные примеры таких костимулирующих молекул включают CD5, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8-альфа, CD8-бета, IL2R бета, IL2R-гамма, IL7R-альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4,

20 CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (тактильный), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME

25 (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp и лиганд, который специфически связывается с CD83. В некоторых вариантах осуществления костимулирующий сигнальный домен CAR представляет собой функциональный сигнальный домен костимулирующей молекулы, описанной в данном документе, например, OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3,

30 лиганд, который связывается с CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS и 4-1BB (CD137) или любая их комбинация.

[0155] Используемый в данном документе термин "сигнальный домен" относится к функциональной части белка, которая действует посредством передачи информации внутри клетки для регуляции клеточной активности посредством определенных

сигнальных путей, вызывая образование вторичных мессенджеров или функционируя в качестве эффекторов посредством ответа на такие мессенджеры.

[0156] Цитоплазматические сигнальные последовательности в пределах цитоплазматической сигнальной части CAR, описанные в настоящей заявке, могут быть связаны друг с другом в случайном или конкретном порядке. Необязательно, связь может образовывать короткий олиго- или полипептидный линкер, например, длиной от 2 до 10 аминокислот.

[0157] Другой аспект настоящей заявки предусматривает нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, нацеливающийся на CLEC12A, раскрытый в данном документе.

Нуклеиновая кислота применима для экспрессии CAR в эффекторной клетке (например, Т-клетке) посредством введения нуклеиновой кислоты в клетку.

[0158] В последовательность могут быть внесены модификации для получения эквивалентного или улучшенного варианта, например, посредством замены одного или нескольких кодонов в соответствии с таблицей вырожденных кодонов. Таблица вырожденных кодонов ДНК представлена в таблице 2.

Таблица 2. Кодоны аминокислот						
Аминокислоты	Однобуквенный код	Трехбуквенный код	Кодоны			
Аланин	A	Ala	GC A	GC C	GC G	GC U
Цистеин	C	Cys	UG C	UG U		
Аспарагиновая кислота	D	Asp	GA C	GA U		
Глутаминовая кислота	E	Glu	GA A	GA G		
Фенилаланин	F	Phe	UU C	UU U		
Глицин	G	Gly	GG A	GG C	GG G	GG U
Гистидин	H	His	CA C	CA U		
Изолейцин	I	Iso	AU A	AU C	AU U	

Лизин	K	Lys	AA A	AA G					
Лейцин	L	Leu	UU A	UU G	CU A	CU C	CU G	CU U	
Метионин	M	Met	AU G						
Аспарагин	N	Asn	AA C	AA U					
Пролин	P	Pro	CC A	CCC	CC G	CC U			
Глутамин	Q	Gln	CA A	CA G					
Аргинин	R	Arg	AG A	AG G	CG A	CG C	CG G	CG U	
Серин	S	Ser	AG C	AG U	UC A	UC C	UC G	UC U	
Треонин	T	Thr	AC A	AC C	AC G	AC U			
Валин	V	Val	GU A	GU C	GU G	GU U			
Триптофан	W	Trp	UG G						
Тирозин	Y	Tyr	UA C	UA U					

[0159] В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой молекулу ДНК (например, молекулу cDNA). В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит последовательность для контроля экспрессии (например, промотор и/или энхансер), функционально связанную с последовательностью, кодирующей CAR. В определенных вариантах осуществления настоящая заявка предусматривает вектор, содержащий нуклеиновую кислоту. Вектор может представлять собой вирусный вектор (например, вектор на основе AAV, лентивирусный вектор или аденовирусный вектор) или невирусный вектор (например, плазмиду).

[0160] В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой молекулу РНК (например, молекулу mRNA). Способ получения mRNA для применения в трансфекции может включать транскрипцию матрицы *in vitro* со специально разработанными праймерами с последующим добавлением поли-А с получением РНК-конструкции, содержащей 3'- и 5'-нетранслируемые последовательности, 5'-кэп и/или внутренний участок посадки рибосомы (IRES), при этом длина нуклеиновой кислоты, подлежащей экспрессии, и хвоста поли-А обычно составляет 50-2000 оснований.

Молекула РНК может быть дополнительно модифицирована для повышения эффективности трансляции и/или стабильности, например, как раскрыто в патентах США №№ 8278036; 8883506 и 8716465. Полученными таким образом молекулами РНК можно эффективно трансфицировать различные типы клеток.

[0161] В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность, содержащую сигнальный пептид на амино-конце CAR. Такой сигнальный пептид может способствовать локализации CAR на клеточной поверхности, когда он экспрессируется в эффекторной клетке, и отщепляется от CAR в ходе клеточного процессинга. В одном варианте осуществления нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность, содержащую сигнальный пептид на N-конце внеклеточного CLEC12A-связывающего домена (например, CLEC12A-связывающего домена scFv).

[0162] РНК или ДНК могут быть введены в клетки-мишени с применением любого из множества различных способов, например, коммерчески доступных способов, которые включают без ограничения электропорацию, трансфекцию, опосредованную катионными липосомами, с применением липофекции, полимерную инкапсуляцию, трансфекцию, опосредованную пептидами, или биолистические системы доставки частиц, такие как "генные пушки" (см., например, Nishikawa, et al. Hum Gene Ther., 12(8):861-70 (2001)).

[0163] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает иммунную эффекторную клетку, экспрессирующую CAR, нацеливающийся на CLEC12A. Также предусмотрена иммунная эффекторная клетка, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, нацеливающийся на CLEC12A. Иммунные эффекторные клетки включают без ограничения Т-клетки и NK-клетки. В определенных вариантах осуществления Т-клетка выбрана из CD8⁺ Т-клетки, CD4⁺ Т-клетки или NKT-клетки. Т-клетка или NK-клетка может представлять собой первичную клетку или линию клеток.

[0164] Иммунные эффекторные клетки могут быть получены из множества источников, включая моноклеональные клетки периферической крови, костный мозг, ткань

лимфатических узлов, пуповинную кровь, ткань тимуса, ткань из очага инфекции, асцит, плевральный выпот, ткань селезенки и опухоли, посредством способов, известных из уровня техники. Иммунные эффекторнные клетки также можно дифференцировать *in vitro* из плюрипотентных или мультипотентных клеток (например, гемопоэтической стволовой клетки). В некоторых вариантах осуществления настоящая заявка предусматривает плюрипотентную или мультипотентную клетку (например, гемопоэтическую стволовую клетку), экспрессирующую CAR, нацеливающийся на CLEC12A (например, экспрессирующую CAR на плазматической мембране), или содержащую нуклеиновую кислоту, раскрытую в данном документе.

[0165] В определенных вариантах осуществления иммунные эффекторнные клетки выделяют и/или очищают. Например, регуляторные Т-клетки можно удалить из популяции Т-клеток с применением CD25-связывающего лиганда. Эффекторнные клетки, экспрессирующие белок контрольной точки (например, PD-1, LAG-3 или TIM-3), можно удалить сходными способами. В определенных вариантах осуществления эффекторнные клетки выделяют на стадии положительного отбора. Например, популяцию Т-клеток можно выделить посредством инкубации с гранулами, конъюгированными с антителами к CD3/антителами к CD28. Другие маркеры клеточной поверхности, такие как IFN- γ , TNF- α , IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, гранзим В и перфорин, также можно использовать для положительного отбора.

[0166] Иммунные эффекторнные клетки могут быть активированы и размножены обычно с применением способов, известных из уровня техники, например, описанных в патентах США №№ 6352694; 6534055; 6905680; 6692964; 5858358; 6887466; 6905681; 7144575; 7067318; 7172869; 7232566; 7175843; 5883223; 6905874; 6797514; 6867041; и публикациях патентных заявок США №№ 2006/0121005 и 2016/0340406. Например, в определенных вариантах осуществления Т-клетки можно размножить и/или активировать посредством контакта с антителом к CD3 и антителом к CD28 в условиях, подходящих для стимуляции пролиферации Т-клеток. Клетки можно размножить в культуре в течение периода времени, составляющего от нескольких часов (например, приблизительно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 18, 21 часов) до приблизительно 14 дней (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 дней). В одном варианте осуществления клетки размножаются в течение периода времени, составляющего от 4 до 9 дней. Многократные циклы стимуляции могут требоваться для длительного культивирования клеток (например, культивирования в течение периода времени, составляющего 60 дней или больше). В определенных вариантах осуществления культура клеток содержит сыворотку крови

(например, фетальную бычью или человеческую сыворотку крови), интерлейкин-2(IL-2), инсулин, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β , TNF- α или их комбинацию. Другие добавки для роста клеток, известные специалисту в данной области техники, например, поверхностно-активное вещество, плазманат и восстанавливающие средства, такие как N-ацетилцистеин и 2-меркаптоэтанол, также могут быть включены в культуру клеток. В определенных вариантах осуществления иммунная эффекторная клетка по настоящей заявке представляет собой клетку, полученную посредством размножения *in vitro*.

[0167] Дополнительные варианты осуществления CAR, нацеливающегося на CLEC12A (например, регулируемого CAR), нуклеиновой кислоты, кодирующей CAR, и эффекторных клеток, экспрессирующих CAR или содержащих нуклеиновую кислоту, представлены в патентах США №№ 7446190 и 9181527, публикациях патентных заявок США №№ 2016/0340406 и 2017/0049819 и публикации международной патентной заявки № WO2018/140725.

CLEC12A/CD3-направленные биспецифические активаторы, привлекающие Т-клетки

[0168] В определенных вариантах осуществления настоящая заявка предусматривает CLEC12A/CD3-направленный биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, раскрытый в данном документе. В определенных вариантах осуществления CLEC12A/CD3-направленный биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки, содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138, и 139. В определенных вариантах осуществления цитокин соединен с Fc-доменом непосредственно или посредством линкера.

[0169] В определенных вариантах осуществления CLEC12A/CD3-направленный биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки, дополнительно содержит антигенсвязывающий участок, который связывает CD3. Иллюстративные антигенсвязывающие участки, которые связывают CD3, раскрыты в публикациях международных патентных заявок №№ WO2014/051433 и WO2017/097723.

[0170] Другой аспект настоящей заявки предусматривает нуклеиновую кислоту, кодирующую по меньшей мере один полипептид CLEC12A/CD3-направленного биспецифического активатора, привлекающего Т-клетки, где полипептид содержит антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A. В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, который при экспрессии находится на N-конце одного или нескольких полипептидов CLEC12A/CD3-направленного биспецифического активатора, привлекающего Т-клетки. Также предусмотрены вектор (например, вирусный вектор), содержащий нуклеиновую кислоту, клетка-продуцент, содержащая нуклеиновую кислоту или вектор, и клетка-продуцент, экспрессирующая CLEC12A/CD3-направленный биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки.

Иммуноцитокينات

[0171] В определенных вариантах осуществления настоящая заявка предусматривает иммуноцитокин, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, раскрытый в данном документе, и цитокин. Можно использовать любой цитокин (например, провоспалительные цитокины), известный из уровня техники, включая без ограничения IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF, IFN α , IFN γ и GM-CSF. Другие иллюстративные цитокины раскрыты в патенте США № 9567399. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок соединен с цитокином посредством химической конъюгации (например, ковалентной или нековалентной химической конъюгации). В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий участок соединен с цитокином посредством слияния с полипептидом. Иммуноцитокин может дополнительно содержать Fc-домен, соединенный с антигенсвязывающим участком, который связывает CLEC12A. В определенных вариантах осуществления иммуноцитокин содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138, и 139. В определенных вариантах осуществления цитокин соединен с Fc-доменом непосредственно или посредством линкера.

[0172] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает нуклеиновую кислоту, кодирующую по меньшей мере один полипептид иммуноцитокина, где полипептид содержит антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A. В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, который при экспрессии находится на N-конце одного или нескольких полипептидов иммуноцитокина. Также предусмотрены вектор (например, вирусный вектор), содержащий нуклеиновую кислоту, клетка-продуцент, содержащая нуклеиновую кислоту или вектор, и клетка-продуцент, экспрессирующая иммуноцитокин.

10 *Конъюгаты антитело-лекарственное средство*

[0173] В определенных вариантах осуществления настоящая заявка предусматривает конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, раскрытый в данном документе, и фрагмент, представляющий собой цитотоксическое лекарственное средство. Иллюстративные фрагменты, представляющие собой цитотоксические лекарственные средства, раскрыты в публикациях международных патентных заявок №№ WO2014/160160 и WO2015/143382. В определенных вариантах осуществления фрагмент, представляющий собой цитотоксическое лекарственное средство, выбран из ауристатина, N-ацетил-γ-калихеамицина, майтанзиноида, пирролобензодиазепина и SN-38. Антигенсвязывающий участок может быть соединен с фрагментом, представляющим собой цитотоксическое лекарственное средство, посредством химической конъюгации (например, ковалентной или нековалентной химической конъюгации). В определенных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство дополнительно содержит Fc-домен, соединенный с антигенсвязывающим участком, который связывает CLEC12A. В определенных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138, и 139. В определенных вариантах осуществления фрагмент, представляющий собой цитотоксическое лекарственное средство, соединен с Fc-доменом непосредственно или посредством линкера.

Иммунотоксины

[0174] В определенных вариантах осуществления настоящая заявка предусматривает иммунотоксин, содержащий антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, раскрытый в данном документе, и цитотоксический пептидный фрагмент. Можно использовать любой цитотоксический пептидный фрагмент, известный из уровня техники, включая без ограничения рицин, дифтерийный токсин и экзотоксин A *Pseudomonas*. Больше иллюстративных цитотоксических пептидов раскрыто в публикациях международных патентных заявок №№ WO2012/154530 и WO2014/164680. В определенных вариантах осуществления цитотоксический пептидный фрагмент соединен с белком посредством химической конъюгации (например, ковалентной или нековалентной химической конъюгации). В определенных вариантах осуществления цитотоксический пептидный фрагмент соединен с белком посредством слияния с полипептидом. Иммунотоксин может дополнительно содержать Fc-домен, соединенный с антигенсвязывающим участком, который связывает CLEC12A. В определенных вариантах осуществления иммунотоксин содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% (например, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138, и 139. В определенных вариантах осуществления цитотоксический пептидный фрагмент соединен с Fc-доменом непосредственно или посредством линкера.

[0175] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает нуклеиновую кислоту, кодирующую по меньшей мере один полипептид иммунотоксина, где полипептид содержит антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A. В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота дополнительно содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую сигнальный пептид, который при экспрессии находится на N-конце одного или нескольких полипептидов иммунотоксина. Также предусмотрены вектор (например, вирусный вектор), содержащий нуклеиновую кислоту, клетка-продуцент, содержащая нуклеиновую кислоту или вектор, и клетка-продуцент, экспрессирующая иммунотоксин.

II. Терапевтические композиции и их применение

[0176] Настоящая заявка предусматривает способы лечения рака с применением белка, конъюгата или клеток, содержащих антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном

документе, и/или фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

Способы можно использовать для лечения различных видов рака, которые характеризуются экспрессией CLEC12A, посредством введения пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества белка, конъюгата или клеток,

5 содержащих антигенсвязывающий участок, раскрытый в данном документе.

[0177] Терапевтический способ может быть охарактеризован в зависимости от вида рака, подлежащего лечению. Например, в некоторых вариантах осуществления рак представляет собой острый миелоидный лейкоз, множественную миелому, диффузную В-крупноклеточную лимфому, тимому, аденоидную кистозную карциному, рак желудочно-кишечного тракта, рак почки, рак молочной железы, глиобластому, рак легкого, рак яичника, рак головного мозга, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы или меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование или лейкемию. В определенных вариантах осуществления рак представляет собой острый миелоидный лейкоз (AML),

10 острый лимфобластный лейкоз (ALL), миелодисплазию, миелодиспластические синдромы, острый Т-лимфобластный лейкоз или острый промиелоцитарный лейкоз, хронический миеломоноцитарный лейкоз или миелоидный бластный криз хронического миелоидного лейкоза.

[0178] В определенных вариантах осуществления AML представлен минимальной остаточной болезнью (MRD). В определенных вариантах осуществления MRD характеризуется наличием или отсутствием мутации, выбранной из мутации CLEC12A-ITD (внутренних tandemных дупликаций (ITD) в гене (Fms-подобной тирозинкиназы 3)), NPM1 (нуклеофосмина 1), DNMT3A (гена ДНК-метилтрансферазы DNMT3A) и IDH (изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (IDH1 и IDH2)). В определенных вариантах осуществления

20 MDS выбран из MDS с мультилинейной дисплазией (MDS-MLD), MDS с однолинейной дисплазией (MDS-SLD), MDS с кольцевыми сидеробластами (MDS-RS), MDS с избытком бластов (MDS-EB), MDS с изолированной del(5q) и неклассифицированного MDS (MDS-U). В определенных вариантах осуществления MDS представляет собой первичный MDS или вторичный MDS.

30 [0179] В определенных вариантах осуществления ALL выбран из В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (B-ALL) и Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL). В определенных вариантах осуществления MPN выбрано из истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии (ЕТ) и миелофиброза. В определенных вариантах осуществления неходжкинская лимфома выбрана из В-клеточной лимфомы и

Т-клеточной лимфомы. В определенных вариантах осуществления лимфома выбрана из хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), лимфобластной лимфомы (LPL), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы Беркитта (BL), первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы (PMBL), фолликулярной лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, волосатоклеточного лейкоза, плазмоклеточной миеломы (PCM) или множественной миеломы (MM), новообразований из зрелых Т-/NK-клеток и гистиоцитарных новообразований.

[0180] В определенных вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В определенных других вариантах осуществления рак представляет собой рак головного мозга, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак шейки матки, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия, рак пищевода, лейкоз, рак легкого, рак печени, меланому, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак прямой кишки, рак почки, рак желудка, рак яичка или рак матки. В еще одних вариантах осуществления рак представляет собой васкуляризованную опухоль, плоскоклеточную карциному, аденокарциному, мелкоклеточную карциному, меланому, глиому, нейробластому, саркому (например, ангиосаркому или хондросаркому), рак гортани, рак околоушной железы, рак желчных путей, рак щитовидной железы, акральную лентигинозную меланому, актинические кератозы, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, аденоидную кистозную карциному, аденомы, аденосаркому, аденосквамозную карциному, рак анального канала, анальный рак, аноректальный рак, астроцитарную опухоль, карциному бартолиновой железы, базальноклеточную карциному, рак желчевыводящих путей, рак кости, рак костного мозга, рак бронхов, карциному бронхиальной железы, карциноид, холангиокарциному, хондросаркому, папиллому/карциному хориоидного сплетения, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, светлоклеточную карциному, рак соединительной ткани, цистаденому, рак пищеварительной системы, рак двенадцатиперстной кишки, рак эндокринной системы, опухоль эндодермального синуса, гиперплазию эндометрия, стромальную саркому эндометрия, эндометриоидную аденокарциному, эндотелиальноклеточный рак, эпендимальный рак, эпителиальноклеточный рак, саркому Юинга, рак глаза и орбиты, рак женских половых органов, очаговую узловую гиперплазию, рак желчного пузыря, рак антрального отдела желудка, рак дна желудка, гастриному, глиобластому, глюкагоному, рак сердца, гемангиобластомы, гемангиоэндотелиому, гемангиомы, аденому печени, аденоматоз печени, гепатобилиарный рак, гепатоцеллюлярную карциному, болезнь Ходжкина, рак

подвздошной кишки, инсулиному, интраэпителиальную неоплазию, интерэпителиальную плоскоклеточную неоплазию, рак внутриспеченочных желчных протоков, инвазивную плоскоклеточную карциному, рак тощей кишки, рак сустава, саркому Капоши, рак малого таза, крупноклеточную карциному, рак толстой кишки, лейомиосаркому, злокачественные лентиги-меланомы, лимфому, рак мужских половых органов, злокачественную меланому, злокачественные мезотелиальные опухоли, медуллобластому, медуллоэпителиому, рак мозговых оболочек, мезотелиальный рак, метастатическую карциному, рак ротовой полости, мукоэпидермоидную карциному, множественную миелому, рак мышц, рак носового канала, рак нервной системы, нейроэпителиальную аденокарциному, узловую меланому, неэпителиальный рак кожи, неходжкинскую лимфому, овсяноклеточную карциному, олигодендроглиальный рак, рак полости рта, остеосаркому, папиллярную серозную аденокарциному, рак полового члена, рак глотки, опухоли гипофиза, плазмоцитому, псевдосаркому, легочную бластому, рак прямой кишки, почечноклеточную карциному, рак дыхательной системы, ретинобластому, рабдомиосаркому, саркому, серозную карциному, рак придаточных пазух носа, рак кожи, мелкоклеточную карциному, рак тонкой кишки, рак гладких мышц, рак мягких тканей, соматостатин-секретирующую опухоль, рак позвоночника, плоскоклеточную карциному, рак поперечно-полосатых мышц, субмезотелиальный рак, поверхностно-распространяющуюся меланому, Т-клеточный лейкоз, рак языка, недифференцированную карциному, рак мочеочника, рак уретры, рак мочевого пузыря, рак мочевыделительной системы, рак шейки матки, рак тела матки, увеальную меланому, рак влагалища, веррукозную карциному, ВИПому, рак вульвы, высокодифференцированную карциному или опухоль Вильмса.

[0181] В определенных других вариантах осуществления рак представляет собой неходжкинскую лимфому, такую как В-клеточная лимфома или Т-клеточная лимфома. В определенных вариантах осуществления неходжкинская лимфома представляет собой В-клеточную лимфому, такую как диффузная В-крупноклеточная лимфома, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, фолликулярная лимфома, мелкоклеточная лимфоцитарная лимфома, лимфома из клеток мантийной зоны, В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны, экстранодальная В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны, узловая В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны, селезеночная В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны, лимфома Беркитта, лимфоплазмочитарная лимфома, волосатоклеточный лейкоз или первичная лимфома центральной нервной системы (ЦНС). В определенных других вариантах осуществления

неходжкинская лимфома представляет собой Т-клеточную лимфому, такую как Т-лимфобластная лимфома из клеток-предшественников, периферическая Т-клеточная лимфома, кожная Т-клеточная лимфома, ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома, экстранодальная лимфома из естественных киллерных клеток/Т-клеток, Т-клеточная лимфома энтеропатического типа, Т-клеточная лимфома типа подкожного панникулита, анапластическая крупноклеточная лимфома или периферическая Т-клеточная лимфома.

[0182] Рак, подлежащий лечению, может быть охарактеризован в соответствии с присутствием определенного антигена, экспрессируемого на поверхности раковой клетки. В определенных вариантах осуществления раковая клетка может экспрессировать одно или несколько из следующего в дополнение к CLEC12A: CD2, CD19, CD20, CD30, CD38, CD40, CD52, CD70, EGFR/ERBB1, IGF1R, HER3/ERBB3, HER4/ERBB4, MUC1, TROP2, cMET, SLAMF7, PSCA, MICA, MICB, TRAILR1, TRAILR2, MAGE-A3, B7.1, B7.2, CTLA4 и PD1.

[0183] В некоторых вариантах осуществления рак, подлежащий лечению, выбран из острого миелоидного лейкоза (AML), миелодиспластического синдрома (MDS), острого лимфобластного лейкоза (ALL), миелопролиферативных новообразований (MPN), лимфомы, неходжкинских лимфом и классической лимфомы Ходжкина.

[0184] В некоторых вариантах осуществления рак, подлежащий лечению, представляет собой AML. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки AML выбран из недифференцированного острого миелобластного лейкоза, острого миелобластного лейкоза с минимальным созреванием, острого миелобластного лейкоза с созреванием, острого промиелоцитарного лейкоза (APL), острого миеломоноцитарного лейкоза, острого миеломоноцитарного лейкоза с эозинофилией, острого моноцитарного лейкоза, острого эритроидного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза (AMKL), острого базофильного лейкоза, острого панмиелоэоза с фиброзом и новообразования из бластных плазмцитоподобных дендритных клеток (BPDCN). В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки предусматривается лечение AML, характеризующегося экспрессией CLL-1 на лейкозных стволовых клетках (LSC) AML. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки LSC у субъекта с AML дополнительно экспрессируют мембранный маркер, выбранный из CD34, CD38, CD123, TIM3, CD25, CD32 и CD96. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки AML характеризуется как минимальное остаточное заболевание (MRD). В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки AML в форме MRD характеризуется наличием или отсутствием мутации, выбранной из мутации *FLT3-ITD* (внутренних tandemных дупликаций (ITD)) в

гене (Fms-подобной тирозинкиназы 3)), *NPM1* (нуклеофосмина 1), *DNMT3A* (гена ДНК-метилтрансферазы *DNMT3A*) и *IDH* (изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (IDH1 и IDH2)).

[0185] В определенных вариантах осуществления настоящей заявки рак представляет собой MDS, выбранный из MDS с мультилинейной дисплазией (MDS-MLD), MDS с
5 однолинейной дисплазией (MDS-SLD), MDS с кольцевыми сидеробластами (MDS-RS), MDS с избытком бластов (MDS-EB), MDS с изолированной del(5q) и неклассифицированного MDS (MDS-U).

[0186] В определенных вариантах осуществления настоящей заявки подлежащий лечению ALL выбран из В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (B-ALL) и Т-
10 клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL). В определенных вариантах осуществления настоящей заявки подлежащее лечению MPN выбрано из истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии (ЕТ) и миелофиброза. В определенных вариантах осуществления настоящей заявки подлежащая лечению неходжкинская лимфома выбрана из В-клеточной лимфомы и Т-клеточной лимфомы. В определенных
15 вариантах осуществления настоящей заявки подлежащая лечению лимфома выбрана из хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), лимфобластной лимфомы (LPL), диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), лимфомы Беркитта (BL), первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы (PMBL), фолликулярной лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, волосатоклеточного лейкоза, плазмоклеточной
20 миеломы (PCM) или множественной миеломы (MM), новообразований из зрелых Т-/NK-клеток и гистиоцитарных новообразований.

[0187] Предполагается, что белок, конъюгат, клетки и/или фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно использовать для лечения различных
25 видов рака, без ограничения видов рака, раковые клетки которых экспрессируют CLEC12A. Например, в определенных вариантах осуществления белок, конъюгат, клетки и/или фармацевтические композиции, раскрытые в данном документе, можно использовать для лечения видов рака, которые ассоциированы с иммунными клетками, экспрессирующими CLEC12A. CLEC12A экспрессируется во многих линиях
30 дифференцировки, и миелоидные клетки, инфильтрирующие опухоль (например, ассоциированные с опухолью макрофаги), могут способствовать прогрессированию рака и метастазированию. Таким образом, способы, раскрытые в данном документе, можно использовать для лечения различных видов рака, при которых CLEC12A экспрессируется как на раковых клетках, так и на иммунных клетках.

III. Комбинированная терапия

[0188] В другом аспекте настоящая заявка предусматривает комбинированную терапию. Белки, конъюгаты и клетки, содержащие антигенсвязывающий участок, описанный в данном документе, можно использовать в комбинации с дополнительными терапевтическими средствами для лечения рака.

[0189] Иллюстративные терапевтические средства, которые можно использовать в качестве части комбинированной терапии в лечении рака, предусматривают, например, лучевую терапию, митомицин, третиноин, рибомустин, гемцитабин, винкристин, этопозид, кладрибин, митобронитол, метотрексат, доксорубин, карбоксон, пентостатин, нитракрин, зиностин, цетрореликс, летрозол, ралтитрексед, даунорубин, фадрозол, фотемустин, тималфазин, собузоксан, недаплатин, цитарабин, бикалутамид, винорелбин, веснаринон, аминоглутетимид, амсакрин, проглумид, ацетат эллиптиния, кетансерин, доксифлуридин, этретинат, изотретиноин, стрептозоцин, нимустин, виндезин, флутамид, дрогенил, буютин, кармофур, разоксан, сизофилан, карбоплатин, митолактол, тегафур, ифосфамид, преднимустин, пицибанил, левамизол, тенипозид, импросульфам, эноцитабин, лизурид, оксиметолон, тамоксифен, прогестерон, мепитиостан, эпителиостанол, форместан, интерферон-альфа, интерферон-2 альфа, интерферон-бета, интерферон-гамма, колониестимулирующий фактор-1, колониестимулирующий фактор-2, денилейкин дифтитокс, интерлейкин-2, рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона и варианты вышеупомянутых средств, которые могут проявлять дифференциальное связывание со своим когнатным рецептором и повышать или уменьшать период полужизни в сыворотке крови.

[0190] Дополнительным классом средств, которые можно применять в качестве составной части комбинированной терапии в лечении рака, являются ингибиторы контрольных точек иммунного ответа. Иллюстративные ингибиторы контрольных точек иммунного ответа предусматривают средства, которые ингибируют один или несколько из (i) цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного антигена 4 (CTLA4), (ii) белка 1 запрограммированной гибели клеток (PD1), (iii) PDL1, (iv) LAG3, (v) B7-H3, (vi) B7-H4 и (vii) TIM3. Ингибитор CTLA4 ипилиумаб был одобрен Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США для лечения меланомы.

[0191] Еще другие средства, которые можно применять в качестве составной части комбинированной терапии в лечении рака, представляют собой средства на основе моноклональных антител, которые нацелены на мишени, не относящиеся к контрольным

точкам иммунного ответа (например, герцептин), а также нецитотоксичные средства (например, ингибиторы тирозинкиназы).

[0192] Еще другие категории противораковых средств включают, например, (i)

ингибитор, выбранный из ингибитора ALK, ингибитора ATR, антагониста A2A,

ингибитора белков, участвующих в эксцизионной репарации оснований, ингибитора

тирозинкиназы Bcr-Abl, ингибитора тирозинкиназы Брутона, ингибитора CDC7,

ингибитора CHK1, ингибитора циклинзависимой киназы, ингибитора DNA-PK,

ингибитора, ингибирующего как DNA-PK, так и mTOR, ингибитора DNMT1, ингибитора DNMT1 плюс 2-хлордезоксиаденозин, ингибитора HDAC, ингибитора компонентов

сигнального пути Hedgehog, ингибитора IDO, ингибитора JAK, ингибитора mTOR,

ингибитора MEK, ингибитора MELK, ингибитора MTH1, ингибитора PARP, ингибитора

фосфоинозитид-3-киназы, ингибитора, ингибирующего как PARP1, так и DHODH,

ингибитора протеасом, ингибитора топоизомеразы-II, ингибитора тирозинкиназы,

ингибитора VEGFR и ингибитора WEE1; (ii) агонист OX40, CD137, CD40, GITR, CD27,

HNEM, TNFRSF25 или ICOS и (iii) цитокин, выбранный из IL-12, IL-15, GM-CSF и G-CSF.

[0193] Белки, описанные в настоящей заявке, также можно использовать в качестве дополнения к хирургическому удалению первичного очага.

[0194] Количество белка, конъюгата или клеток, раскрытых в данном документе, и

дополнительного терапевтического средства, а также относительное время введения могут быть выбраны для достижения требуемого комбинированного терапевтического эффекта.

Например, в случае введения средства комбинированной терапии пациенту,

нуждающемуся в таком введении, терапевтические средства в комбинации или

фармацевтическую композицию или композиции, содержащие терапевтические средства,

можно вводить в любом порядке, таком как, например, последовательно, параллельно,

совместно, одновременно и т. п. Дополнительно, например, белок, конъюгат или клетку,

раскрытые в данном документе, можно вводить в то время, когда дополнительное

терапевтическое средство(средства) проявляет свой профилактический или

терапевтический эффект, или *vice versa*.

IV. Фармацевтические композиции

[0195] В настоящем описании также представлены фармацевтические композиции,

которые содержат терапевтически эффективное количество белка, описанного в данном

документе. Композиция может быть составлена для применения в различных системах

доставки лекарственных средств. В композицию для надлежащего составления также

может быть включено одно или несколько физиологически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. Подходящие составы для применения в настоящем изобретении можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985. Краткий обзор способов доставки лекарственных средств см.,

5 например, в Langer (Science 249:1527-1533, 1990).

[0196] В одном аспекте настоящее изобретение предусматривает состав на основе белка, который содержит CLEC12A-связывающий участок, описанный в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

[0197] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция
10 содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:1, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по
15 меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:2. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90%
20 (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:10. В определенных вариантах
25 осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:13, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся
30 аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по

меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:110, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

5 идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной

10 аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:45, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит

15 антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:122, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей

20 мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:10. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90%

25 (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:30. В определенных вариантах

30 осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:134, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся

аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:135. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:128, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:129. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:147, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:148. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:34. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:9, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:38. В определенных вариантах осуществления состав

содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:41, и с варибельным

5 доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:42. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи,

10 характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:45, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

15 идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:140. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной

20 аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:60, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:61. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит

25 антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:29, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей

30 мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:69. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90%

- (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:14, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)
- 5 идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:69. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной
- 10 аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:76, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:69. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит
- 15 антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:29, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей
- 20 мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:84. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90%
- 25 (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:14, и с переменным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:84. В определенных
- 30 вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с переменным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:76, и с переменным доменом

легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:84. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит

5 антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:113, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей

10 мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:114. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90%

15 (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:108, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:109. В определенных

20 вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:104, и с варибельным доменом

25 легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:103. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с варибельным доменом тяжелой цепи,

30 характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:22, и с варибельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%)

идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:25. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с вариабельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:57, и с вариабельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:58. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с вариабельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:83, и с вариабельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:85. В определенных вариантах осуществления состав содержит белок, который содержит антигенсвязывающий участок с вариабельным доменом тяжелой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:94, и с вариабельным доменом легкой цепи, характеризующимся аминокислотной последовательностью, на по меньшей мере 90% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%) идентичной аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:95.

[0198] Композиция может быть составлена для применения в различных системах доставки лекарственных средств. В композицию для надлежащего составления может быть включено одно или несколько физиологически приемлемых вспомогательных веществ или носителей. Подходящие составы для применения в настоящем изобретении можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985. Краткий обзор способов доставки лекарственных средств см., например, в Langer (Science 249:1527-1533, 1990).

[0199] Например, настоящее изобретение может существовать в виде водного фармацевтического состава, содержащего терапевтически эффективное количество белка

в буферизованном растворе, образующем состав. Водные носители могут предусматривать стерильную воду для инъекций (SWFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), буферизованный раствор для доведения pH (например, буферизованный фосфатом солевой раствор), стерильный солевой раствор, раствор

- 5 Рингера или раствор декстрозы. В определенных вариантах осуществления получают водный состав, содержащий белок, раскрытый в данном документе, в буферизованном растворе для доведения pH. Значения pH препаратов обычно будут составлять 3-11, более предпочтительно 5-9 или 6-8 и наиболее предпочтительно 7-8, как например 7-7,5. Предполагается, что диапазоны, промежуточные по отношению к вышеприведенным
- 10 значениям pH, также являются частью настоящего изобретения. Например, предполагается, что включены диапазоны значений, в которых используется комбинация любых из вышеприведенных значений в качестве верхнего и/или нижнего пределов. Примеры буферов, которые будут обеспечивать контроль pH в пределах данного диапазона, включают ацетатный (например, на основе ацетата натрия), сукцинатный (как
- 15 например на основе сукцината натрия), глюконатный, гистидиновый, цитратный и другие буферы на основе органических кислот. В определенных вариантах осуществления буферная система включает моногидрат лимонной кислоты, цитрат натрия, дигидрат динатрийфосфата и/или дигидрат дигидрофосфата натрия. В определенных вариантах осуществления буферная система содержит приблизительно 1,3 мг/мл лимонной кислоты
- 20 (например, 1,305 мг/мл), приблизительно 0,3 мг/мл цитрата натрия (например, 0,305 мг/мл), приблизительно 1,5 мг/мл дигидрата фосфата динатрия (например, 1,53 мг/мл), приблизительно 0,9 мг/мл дигидрата дигидрофосфата натрия (например, 0,86) и приблизительно 6,2 мг/мл хлорида натрия (например, 6,165 мг/мл). В определенных вариантах осуществления буферная система содержит 1-1,5 мг/мл лимонной кислоты, от
- 25 0,25 до 0,5 мг/мл цитрата натрия, от 1,25 до 1,75 мг/мл дигидрата фосфата динатрия, от 0,7 до 1,1 мг/мл дигидрата дигидрофосфата натрия и от 6,0 до 6,4 мг/мл хлорида натрия. Значение pH жидкого состава можно установить посредством добавления фармацевтически приемлемой кислоты и/или основания. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемой кислотой может являться
- 30 хлористоводородная кислота. В определенных вариантах осуществления основание может представлять собой гидроксид натрия.

[0200] В некоторых вариантах осуществления состав содержит водный носитель, который является фармацевтически приемлемым (безопасным и нетоксичным для введения человеку) и применим для получения жидкого состава. Иллюстративные

носители предусматривают стерильную воду для инъекций (SWFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), буферизованный раствор для доведения pH (например, буферизованный фосфатом солевой раствор), стерильный солевой раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы.

5 [0201] В состав также может быть включен полиол, который действует как регулятор тоничности и может стабилизировать антитело. Полиол добавляют в состав в количестве, которое может варьироваться в зависимости от требуемой изотоничности состава. В определенных вариантах осуществления водный состав может быть изотоническим. Количество добавляемого полиола также может изменяться в зависимости от

10 молекулярной массы полиола. Например, может быть добавлено меньшее количество моносахарида (например, маннита) по сравнению с дисахаридом (таким как трегалоза). В определенных вариантах осуществления полиол, который можно применять в составе в качестве средства, регулирующего тоничность, представляет собой маннит. В определенных вариантах осуществления концентрация маннита может составлять от

15 приблизительно 5 до приблизительно 20 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация маннита может составлять от приблизительно 7,5 до приблизительно 15 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация маннита может составлять от приблизительно 10 до приблизительно 14 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация маннита может составлять приблизительно 12 мг/мл. В

20 определенных вариантах осуществления в состав может быть включен полиол, представляющий собой сорбит.

[0202] В состав также могут быть добавлены детергент или поверхностно-активное вещество. Иллюстративные детергенты включают неионогенные детергенты, такие как полисорбаты (например, полисорбаты 20, 80 и т. д.) или поллоксамеры (например,

25 поллоксамер 188). Количество добавляемого детергента таково, что оно уменьшает агрегацию составляемого антитела, и/или сводит к минимуму образование частиц в составе, и/или уменьшает адсорбцию. В определенных вариантах осуществления состав может содержать поверхностно-активное вещество, которое представляет собой полисорбат. В определенных вариантах осуществления состав может содержать детергент

30 полисорбат 80 или Tween 80. Tween 80 представляет собой термин, используемый для описания полиоксиэтилен (20) сорбитанмоноолеата (см. Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4th ed., 1996). В определенных вариантах осуществления состав может содержать полисорбат 80 в концентрации от приблизительно 0,1 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл или от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл. В

определенных вариантах осуществления в состав может быть добавлено приблизительно 0,1% полисорбата 80.

[0203] В определенных вариантах осуществления жидкий состав по настоящему изобретению может быть получен в виде раствора с концентрацией 10 мг/мл в

комбинации с сахаром при стабилизирующих уровнях. В определенных вариантах осуществления жидкий состав может быть получен в водном носителе. В определенных вариантах осуществления стабилизатор может быть добавлен в количестве, не превышающем количество, которое может привести в результате к нежелательной или не подходящей для внутривенного введения вязкости. В определенных вариантах осуществления сахар может быть представлен дисахаридами, например, сахарозой. В определенных вариантах осуществления жидкий состав может также содержать одно или несколько буферных средств, поверхностно-активное вещество и консервант, которые добавляют в составы в данном документе для снижения бактериальной активности.

Добавление консерванта может, например, облегчить получение многодозового (многодозового) состава.

[0204] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает состав с увеличенным сроком хранения, содержащий белок по настоящему изобретению в комбинации с маннитом, моногидратом лимонной кислоты, цитратом натрия, дигидратом фосфата динатрия, дигидратом дигидрофосфата натрия, хлоридом натрия, полисорбатом 80, водой и гидроксидом натрия.

[0205] Дезамидирование является распространенным вариантом продукта на основе пептидов и белков, который может иметь место в ходе ферментации, сбора/осветления клеток, очистки, хранения лекарственного вещества/лекарственного продукта и в ходе анализа образцов. Дезамидирование представляет собой потерю NH_3 из белка с образованием сукцинимидного промежуточного соединения, которое может подвергаться гидролизу. Сукцинимидное промежуточное соединение обуславливает в результате уменьшение массы родительского пептида на 17 дальтон. Последующий гидролиз обуславливает в результате увеличение массы на 18 дальтон. Выделение сукцинимидного промежуточного соединения затруднено ввиду нестабильности в водных условиях. Таким образом, дезамидирование обычно поддается обнаружению по увеличению массы на 1 дальтон. Дезамидирование аспарагина обеспечивает в результате образование либо аспарагиновой, либо изоаспарагиновой кислоты. Параметры, влияющие на скорость дезамидирования, включают pH, температуру, диэлектрическую константу растворителя, ионную силу, первичную последовательность, локальную конформацию полипептида и

третичную структуру. Аминокислотные остатки, прилегающие к Asn в пептидной цепи, влияют на значения скорости дезамидирования. Gly и Ser, следующие за Asn в белковых последовательностях, обуславливают в результате более высокую восприимчивость к дезамидированию. В определенных вариантах осуществления жидкий состав по

5 настоящему изобретению может храниться в условиях pH и влажности, обеспечивающих предупреждение дезаминирования белкового продукта.

[0206] В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой лиофилизированный состав. В определенных вариантах осуществления состав является сублимированным (лиофилизированным) и содержится в приблизительно 12-60 флаконах.

10 В определенных вариантах осуществления состав является сублимированным, и в одном флаконе может содержаться 45 мг сублимированного состава. В определенных вариантах осуществления в одном флаконе содержится от приблизительно 40 мг до приблизительно 100 мг сублимированного состава. В определенных вариантах осуществления сублимированный состав из 12, 27 или 45 флаконов объединяют с получением

15 терапевтической дозы белка в составе на основе лекарственного средства для внутривенного введения. Состав может представлять собой жидкий состав. В некоторых вариантах осуществления жидкий состав хранится в количестве от приблизительно 250 мг/флакон до приблизительно 1000 мг/флакон. В определенных вариантах осуществления жидкий состав хранится в количестве, составляющем приблизительно 600 мг/флакон. В
20 определенных вариантах осуществления жидкий состав хранится в количестве, составляющем приблизительно 250 мг/флакон.

[0207] В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный состав содержит белки, описанные в данном документе, и лиопротектор. Лиопротектор может быть представлен сахаром, например, дисахаридами. В определенных вариантах осуществления
25 лиопротектор может представлять собой сахарозу или мальтозу. Леофилизированный состав может также предусматривать одно или несколько из буферного средства, поверхностно-активного вещества, объемообразующего средства и/или консерванта. Количество сахарозы или мальтозы, применимое для стабилизации лиофилизированного лекарственного продукта, может быть представлено при весовом соотношении белка и
30 сахарозы или мальтозы, составляющем по меньшей мере 1:2. В определенных вариантах осуществления весовое соотношение белка и сахарозы или мальтозы может составлять от 1:2 до 1:5.

[0208] В определенных вариантах осуществления значение pH состава перед лиофилизацией можно установить посредством добавления фармацевтически приемлемой

кислоты и/или основания. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемой кислотой может являться хлористоводородная кислота. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемым основанием может являться гидроксид натрия. Перед лиофилизацией значение pH раствора, содержащего белок по
5 настоящему изобретению, может быть доведено до 6-8. В определенных вариантах осуществления диапазон pH лиофилизированного лекарственного продукта может составлять 7-8.

[0209] В определенных вариантах осуществления может быть добавлено "объемообразующее средство". "Объемообразующее средство" представляет собой
10 соединение, которое увеличивает массу лиофилизированной смеси и вносит вклад в физическую структуру лиофилизированной массы (например, способствует получению по существу однородной лиофилизированной массы, которая сохраняет структуру с открытыми порами). Иллюстративные объемообразующие средства включают маннит, глицин, полиэтиленгликоль и сорбит. Лиофилизированные составы на основе белка,
15 содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, могут содержать такие объемообразующие средства.

[0210] В определенных вариантах осуществления лиофилизированный продукт на основе белка составлен с водным носителем. Предусматриваемый в данном документе водный носитель, представляющий интерес, представляет собой водный носитель,
20 который является фармацевтически приемлемым (например, безопасным и нетоксичным для введения человеку) и является применимым для получения жидкого состава после лиофилизации. Иллюстративные растворители предусматривают стерильную воду для инъекций (SWFI), бактериостатическую воду для инъекций (BWFI), буферизованный раствор для доведения pH (например, буферизованный фосфатом солевой раствор),
25 стерильный солевой раствор, раствор Рингера или раствор декстрозы. В определенных вариантах осуществления лиофилизированный лекарственный продукт по настоящему изобретению восстанавливают с помощью либо стерильной воды для инъекций, USP (SWFI), либо 0,9% раствора хлорида натрия для инъекций, USP. Во время восстановления лиофилизированный порошок растворяется в растворе. В определенных вариантах
30 осуществления лиофилизированный белковый продукт по настоящему изобретению восстанавливают до объема, составляющего приблизительно 4,5 мл воды для инъекций, и разбавляют 0,9% солевым раствором (раствором хлорида натрия).

[0211] Композиции на основе белка можно стерилизовать с применением общепринятых методик стерилизации или можно подвергать стерилизующей фильтрации.

Полученные в результате водные растворы могут быть упакованы для применения в исходном виде или лиофилизированы, при этом перед введением лиофилизированный препарат объединяют со стерильным водным носителем. Полученные в результате композиции в твердой форме могут быть упакованы в несколько емкостей с однократной дозой, каждая из которых содержит фиксированное количество вышеупомянутых средства или средств. Композиция в твердой форме также может быть упакована в контейнер для адаптированного количества.

[0212] Фактические уровни дозировки активных ингредиентов в фармацевтических композициях на основе белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, могут варьироваться для получения количества активного ингредиента, которое является эффективным для достижения требуемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, без проявления токсичности в отношении пациента.

[0213] Конкретная доза может представлять собой одинаковую дозу для каждого пациента, например 50-5000 мг белка. В качестве альтернативы, доза для пациента может быть индивидуализирована по отношению к примерному весу тела или площади поверхности тела пациента. Другие факторы при определении подходящей дозы могут включать заболевание или состояние, подлежащее лечению или предупреждению, тяжесть заболевания, путь введения, а также возраст, пол пациента и его состояние с медицинской точки зрения. Дальнейшее уточнение расчетов, необходимых для определения подходящей дозы для лечения, рутинно выполняется специалистами в данной области техники, особенно в свете информации относительно дозы и анализов, раскрытых в данном документе. Доза также может быть определена посредством применения известных анализов для определения доз, применяемых в сочетании с соответствующими данными относительно зависимости ответа от дозы. Индивидуальная доза для пациента может быть скорректирована в ходе наблюдения за течением заболевания. Уровни целевых конструкций или комплекса в крови пациента могут быть измерены, чтобы определить, имеется ли необходимость в корректировке дозы для достижения или поддержания эффективной концентрации. Фармакогеномику можно использовать для определения того, какие целевые конструкции и/или комплексы и их дозировки наиболее вероятно будут эффективны для данного индивидуума (Schmitz *et al.*, *Clinica. Chimica. Acta.* 308: 43-53, 2001; Steimer *et al.*, *Clinica. Chimica. Acta.* 308: 33-41, 2001).

[illegible]

веса тела, от приблизительно 10 мг до приблизительно 50 мг/кг веса тела, от приблизительно 50 мг до приблизительно 100 мг/кг веса тела. Дозы можно вводить один или несколько раз в день, еженедельно, ежемесячно или ежегодно или даже один раз в 2-20 лет. Специалисты в данной области техники могут легко оценить частоту повторного введения дозы на основе измеренных значений времени удержания и концентраций целевых конструкции или комплекса в физиологических жидкостях или тканях организма. Введение белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, может быть внутривенным, внутриартериальным, интраперитонеальным, внутримышечным, подкожным, интраплевральным, интратекальным, внутриполостным, посредством перфузии с помощью катетера или прямой инъекции в очаг поражения. Их можно вводить один или несколько раз в день, один или несколько раз в неделю, один или несколько раз в месяц и один или несколько раз в год.

[0215] В вышеприведенном описании описано множество аспектов и вариантов осуществления белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке. В настоящей патентной заявке конкретно рассматриваются все комбинации аспектов и вариантов осуществления, а также изменения порядка их элементов.

[0216] На протяжении всего описания, если композиции описаны как имеющие, содержащие или предусматривающие конкретные компоненты, или если процедуры и способы описаны как имеющие, включающие или предусматривающие конкретные стадии, то предполагается, что дополнительно предусмотрены композиции на основе белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, которые состоят по существу из или состоят из перечисленных компонентов, а также то, что предусмотрены процессы и способы в соответствии с настоящей заявкой, которые состоят по существу из или состоят из перечисленных стадий обработки.

[0217] В настоящей заявке, если указано, что элемент или компонент включен в перечень перечисленных элементов или компонентов или выбран из него, следует понимать, что элемент или компонент может представлять собой любой из перечисленных элементов или компонентов, или элемент или компонент может быть выбран из группы, состоящей из двух или более перечисленных элементов или компонентов.

[0218] Дополнительно следует понимать, что элементы и/или признаки композиции или способа, описанные в данном документе, можно комбинировать различными путями без отклонения от сущности и объема настоящей заявки, явно или неявно описанных в

данном документе. Например, если приводится ссылка на конкретное соединение, то данное соединение можно использовать в различных вариантах осуществления композиций на основе белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, и/или в способах применения белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, если иное не следует из контекста. Другими словами, в данной заявке варианты осуществления были описаны и изображены таким образом, чтобы можно было написать и отобразить четкую и краткую заявку, но предполагается и будет понятно, что варианты осуществления можно различным образом комбинировать или разделять без отрыва от идей настоящего изобретения. Например, будет понятно, что все признаки, описанные и отображенные в данном документе, можно применять ко всем аспектам белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный и отображенный в данном документе.

[0219] Следует понимать, что выражение "по меньшей мере один из" включает индивидуально каждый из перечисленных объектов после выражения и различные комбинации двух или более перечисленных объектов, если иное не следует из контекста и применения. Выражение "и/или" в связи с тремя или более перечисленными объектами следует понимать как имеющее то же значение, если иное не следует из контекста.

[0220] Применение термина "включать", "включает", "включая", "имеют", "имеет", "характеризующийся", "содержать", "содержит" или "содержащий", включая их грамматические эквиваленты, обычно следует понимать как открытое и не ограничивающее, например, не исключающее дополнительные неперечисленные элементы или стадии, если иное специально не указано или не понятно из контекста.

[0221] Если термин "приблизительно" используется перед количественным значением, то настоящая заявка также предусматривает конкретное количественное значение как таковое, если специально не указано иное. Используемый в данном документе термин "приблизительно" относится к отклонению $\pm 10\%$ от номинального значения, если не указано или не предполагается иное.

[0222] Следует понимать, что порядок стадий или порядок выполнения определенных действий не имеет значения до тех пор, пока белок, содержащий антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, остается функциональным. Более того, две или более стадий или действий можно выполнять одновременно.

[0223] Применение любых и всех примеров или иллюстративной формулировки перед примером в данном документе, например, "такой как" или "включая", предназначено лишь для того, чтобы лучше проиллюстрировать белок, содержащий

антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, и не представляет собой ограничение объема белка, содержащего антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, если не заявлено иное. Никакую формулировку в настоящем описании не следует толковать как указывающую на какой-либо незаявленный элемент как

5 существенный для осуществления настоящего изобретения на практике по настоящей заявке.

ПРИМЕРЫ

[0224] Следующие примеры являются только иллюстративными и никоим образом не

10 предназначены для ограничения объема или содержания настоящей заявки каким-либо образом.

Пример 1. Определение характеристик супернатантов выбранных гибридных клонов

[0225] Антитела, специфические к CLEC12A, получали посредством иммунизации

15 мышей BALB/c с введением слитого белка hCLEC12A-His. Супернатанты 16 гибридом оценивали в отношении связывания CLEC12A посредством биослойной интерферометрии (BLI) связывания с использованием OctetRed384 (ForteBio). Указанные 16 гибридом дополнительно анализировали в отношении связывания с CLEC12A человека и яванского макака, экспрессируемого на клеточной поверхности изогенных клеток; при этом

20 связывание с CLEC12A яванского макака не наблюдали. Расчетные кинетические параметры представлены в **таблице 3**, и кривые связывания показаны на **фиг. 1**. Для дальнейшего исследования отбирали девять клонов. Способность выбранных девяти клонов связывать раковые клеточные линии U937 и PL21, экспрессирующие RMA hCLEC12A-His и CLEC12A, дополнительно анализировали посредством поверхностного

25 плазмонного резонанса высокого разрешения (SPR). Эксперимент выполняли с использованием прибора Biacore 8K при 37°C для имитации физиологической температуры.

Таблица 3. Кинетические параметры и значения аффинности связывания CLEC12A-His с антителами, полученными из гибридом-кандидатов

Тестируемые образцы	Профиль сортировки (биннинга)	SPR при 37°C			Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) связывания с клетками		
		k_a (1/Mc)	k_d (1/c)	K_D (нМ)	RMA-hCLEC12A	RMA-cCLEC12A	U937
9E04	Конкурент	247,0	$3,51 \times 10^{-2}$	108,0	549,0	755,0	40,6
9F11	Конкурент	549,0	$5,57 \times 10^{-3}$	18,5	779,0	889,0	50,9
11E02	-	779,0	$7,28 \times 10^{-3}$	22,0	76,7	122,0	40,4
12F08	Уникальный	76,7	$6,23 \times 10^{-3}$	23,7	79,5	97,4	46,0
13E01	Уникальный	178,0	$7,50 \times 10^{-3}$	10,3	-	-	-
15A10	Уникальный	79,5	$2,23 \times 10^{-3}$	15,8	372,0	167,0	83,8
15D11	-	372,0	$6,64 \times 10^{-3}$	20,7	71,1	90,5	44,0
16B08	Конкурент	Гетерогенное связывание			819,0	1132,0	44,1
20D06	Уникальный	819,0	$5,25 \times 10^{-2}$	2310,0	90,2	179,0	46,5
23A05	Уникальный	90,2	$4,49 \times 10^{-2}$	446,0	77,2	92,9	42,9
30A09	-	Гетерогенное связывание			74,7	149,0	42,8
6D07	-	Несвязывающая молекула			247,0	264,0	40,3
12B06	-	Несвязывающая молекула			178,0	335,0	41,5

Тестируемые образцы	Профиль сортировки (биннинга)	SPR при 37°C			Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) связывания с клетками		
		k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (нМ)	RMA-hCLEC12A	RMA-cCLEC12A	U937
20G10	-	Несвязывающая молекула			82,2	98,7	41,6
30H07	-	Несвязывающая молекула			76,3	121,0	45,7
32A03	-	Несвязывающая молекула			71,4	93,4	46,6

[0226] Сортировку слитых гибридом в сравнении с референтными mAb осуществляли посредством BLI с использованием OctetRed384 (ForteBio). Если вкратце, супернатанты гибридом загружали на наконечники сенсоров (с предварительно иммобилизованным антителом к IgG мыши) в течение 15 минут и уравнивали в течение 5 минут в PBSF.

- 5 Сенсоры погружали в 200 нМ hCLEC12A-His и оставляли для ассоциации в течение 180 секунд с последующим погружением в 100 нМ референтного mAb к CLEC12A.

Увеличение единиц ответа указывало на то, что гибридома не являлась конкурентом референтному mAb, тогда как отсутствие увеличения сигнала указывало на то, что гибридома действительно конкурировала с референтным mAb. Последовательности VH и

- 10 VL данных эталонных антител представлены в **таблице 4**.

Таблица 4. Референтные антитела

мAb к CLEC12A	Источни к	ID последовательности	Эпитоп
Merus-CLL1	Merus US 2014/0 120096A1	VH [SEQ ID NO:123] EVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYTFTSY YMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQ KFQGRVTMTRDTSTST VYMELSSLRSEDNAVY YCARGNYGDEFDYWG QGTLVTVSS VL [SEQ ID NO:124] DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFA TYYCQQSYSTPPTFGQ GTKVEIK	Неизвестный

mAб к CLEC12A	Источни к	ID последовательности	Эпитоп
Genentech-h6E7	Genentech US 2016/0075 787A1	VH [SEQ ID NO:125] DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSVSTSSY NYMHWYQQKPGKPPK LLIKYASNLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQHSWEIPL TFGQGTKVEIK VL [SEQ ID NO:126] EVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGYSFTDY YMHWRQAPGQGLE WIGRINPYNGAAFYSQ NFKDRVTLTVDTSTST AYLELSSLRSEDYAVY YCAIERGADLEGYAMD YWGQGTLVTVSS	Лектин, подобный домену C-типа, остатки 142-158

[0227] Анализ с сортировкой продемонстрировал, что антитела, полученные из пяти гибридом, а именно 12F8.G3, 13E01, 15A10.G8, 20D6.A8 и 23A5.D4, не конкурировали с референтными антителами за связывание с hCLEC12A-His. Связывание гибридом с изогенным CLEC12A человека (hCLEC12A) и перекрестную реактивность с CLEC12A яванского макака (cCLEC12A) также оценивали путем измерения связывания антител с изогенными клетками RMA, экспрессирующими CLEC12A, и с раковой клеточной линией U937 AML.

[0228] Вкратце, клетки RMA трансдуцировали ретровирусным вектором, кодирующим cCLEC12A или hCLEC12A. Связывание mAб к α -CLEC12A из неочищенных собранных гибридом с изогенными клеточными линиями, экспрессирующими hCLEC12A или cCLEC12A, а также раковыми клеточными линиями U937 CLEC12A+ (номер по каталогу ATCC CRL-1593.2) осуществляли следующим образом. Добавляли по 100000 клеток RMA или U937 на лунку 96-луночного круглодонного планшета. Клетки осаждали

центрифугированием и осадок осторожно диссоциировали посредством перемешивания на вортексе. Добавляли по 100 мкл на лунку красителя Zombie live/dead (PBS + краситель 1:2000) и планшет инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 20 минут. Клетки промывали с использованием 200 мкл буфера для FACS (PBS + 2% FBS). К

5 промытым клеткам добавляли 50 мкл супернатантов гибридом и смеси инкубировали в течение 30 минут на льду в темноте. Клетки два раза промывали буфером для FACS, добавляли 50 мкл реагента, представляющего собой вторичное антитело к Fc-PE мыши (разбавление 1:200), и смесь инкубировали в течение 20 минут на льду в темноте. После инкубации клетки промывали буфером для FACS и затем фиксировали с применением 50

10 мкл 4% параформальдегида в течение 15 минут на льду. Фиксированные клетки промывали и затем ресуспендировали в 200 мкл буфера для FACS и хранили при 4°C до начала анализа. Образцы клеток, ресуспендированных в буфере для FACS, анализировали на BD FACSCelesta, оснащенной HTS (высокопроизводительным пробоотборником) для определения аффинности связывания антител с изогенными клетками RMA,

15 экспрессирующими CLEC12A, и с раковой клеточной линией U937 AML.

[0229] Также измеряли аффинность связывания супернатантов гибридом с раковыми клетками PL21 AML (номер по каталогу DSMZ ACC536), клеточной линией AML, которая, как сообщалось, экспрессирует CLEC12A. Как показано в **таблице 3 *supra***, девять клонов демонстрировали аффинность связывания с раковыми клетками,

20 экспрессирующими hCLEC12A. Связывание с cCLEC12A не выявили.

Пример 2. Анализ очищенных мышинных антител к CLEC12A

[0230] В данном примере анализировали кинетические параметры и значения аффинности связывания очищенных мышинных антител к CLEC12A. На основе данных, полученных в анализе, описанном в примере 1, восемь гибридом (9F11.B7, 12F8.G3,

25 16B8.C8, 15A10.G8, 20D6.A8, 9E4.B7, 13E1.A4 и 23A5.D4) отбирали для субклонирования и секвенирования. Каждый субклон выделяли из гибридомной культуры и посредством SPR оценивали его в отношении связывания с hCLEC12A-His и cCLEC12A-His. Данные, полученные в этих экспериментах, показаны на **фиг. 2**. Антитела 9E4.B7, 9F11.B7, 12F8.G3 и 16B8.C8 связывались только с hCLEC12A (**фиг. 2A**), тогда как антитела

30 13E1.A4, 15A10.G8, 20D6.A8 и 23A5.D4 связывались как с hCLEC12A, так и с cCLEC12A (**фиг. 2B**). Кинетические константы и значения аффинности связывания hCLEC12A и cCLEC12A с очищенными мышинными субклонированными mAb представлены в таблице 5.

Таблица 5. Кинетические параметры и значения аффинности связывания hCLEC12A с очищенными мышинными субклонами

Тестируемый образец	CLEC12A-His человека			CLEC12A-His яванского макака		
	k_a (M ⁻¹ с ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _D (нМ)	k_a (M ⁻¹ с ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _D (нМ)
9E4.B7	Низкоаффинное гетерогенное взаимодействие			Связывание отсутствует		
9F11.B7	$1,14 \times 10^6$	$1,57 \times 10^{-3}$	1,4	Связывание отсутствует		
12F8.G3	$3,97 \times 10^5$	$1,39 \times 10^{-3}$	3,5	Связывание отсутствует		
16B8.C8*	$4,05 \times 10^6$	$4,44 \times 10^{-5}$	0,01	Связывание отсутствует		
13E1.A4	Низкоаффинное гетерогенное взаимодействие			Низкоаффинное гетерогенное взаимодействие		
15A10.G8	$3,01 \times 10^5$	$4,94 \times 10^{-4}$	1,6	$1,96 \times 10^5$	$6,59 \times 10^{-4}$	3,3
20D6.A8	$1,31 \times 10^7$	$9,50 \times 10^{-2}$	7,2	$9,16 \times 10^5$	$2,46 \times 10^{-2}$	26
23A5.D4	Низкоаффинное гетерогенное взаимодействие			Низкоаффинное гетерогенное взаимодействие		

[0231] Способность восьми очищенных субклонированных mAb связываться с

клетками, экспрессирующими CLEC12A, оценивали посредством анализа FACS с

5 применением линии раковых клеток CLEC12A+ PL21 человека. Как показано на **фиг. 3**,

все из 9E4.B7, 9F11.B7 и 16B8.C8 связывались с линией клеток PL21 со значениями EC50

в субнанолярном диапазоне; однако только 9F11.B7 и 16B8.C8 удовлетворяли как

критериям связывания рекомбинантного белка, так и критериям связывания клеток,

поскольку 9E4.B7 демонстрировал низкоаффинное гетерогенное связывание с

10 рекомбинантным hCLEC12A-His (**таблица 6**). Хотя 15A10.G8, 13E1.A4, 20D6.A8 и

23A5.D4 продемонстрировали связывание с рекомбинантным CLEC12A человека и

яванского макака в анализе SPR, эти mAb были не способны распознавать раковые клетки,

что свидетельствует о конформационных отличиях в связываемом эпитопе между

рекомбинантным и экспрессируемым на клеточной поверхности эпитопом CLEC12A.

Было продемонстрировано, что как mAb Merus-CLL1, так и mAb Genentech-h6E7 связывались с PL21 со значительно более низкими значениями EC50 по сравнению с новыми гибридными клонами CLEC12A.

Таблица 6. Подтверждение клеточного связывания очищенных мышинных mAb с человеческой клеточной линией PL21

Тестируемый образец	EC ₅₀ (нМ)	Макс. MFI
9E4.B7	0,64	186
9F11.B7	0,56	217
12F8.G3	Несвязывающая молекула	n/a*
16B8.C8	0,18	300
13E1.A4	Несвязывающая молекула	n/a
15A10.G8	Несвязывающая молекула	n/a
20D6.A8	Несвязывающая молекула	n/a
23A5.D4	Несвязывающая молекула	n/a
Merus-CLL1 [#]	2,02	201
Genentech-h6E7 [#]	5	265

[0232] Чтобы оценить, связываются ли mAb с CLEC12A независимо от гликозилирования образом, связывание клонов 16B8.C8 и 9F11.B7 с гликозилированным, десиалилированным и обработанным PNGазой hCLEC12A оценивали посредством SPR. Как продемонстрировано на сенсограммах на **фиг. 4** и посредством количественного определения в **таблице 7**, как 16B8.C8, так и 9F11.B7 связывались с десиалилированными и дегликозилированными версиями hCLEC12A без потери аффинности, что свидетельствует о том, что на взаимодействия антител с hCLEC12A не влияет статус гликозилирования мишени.

Таблица 7. Кинетические параметры и значения аффинности связывания для 16B8.C8 и 9F11.B7 по отношению к дифференциально гликозилированному hCLEC12A, определенные посредством SPR

Тестируемый образец	Аналит	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _d (нМ)
Мышиное mAb 16B8	Гликозилированный hCLEC12A	4,05 x 10 ⁶	4,70 x 10 ⁻⁵	0,012
Мышиное mAb 16B8	Десиалилированный hCLEC12A	5,25 x 10 ⁶	3,62 x 10 ⁻⁵	0,007

Тестируемый образец	Аналит	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _D (нМ)
Мышиное mAb 16B8	Дегликозилированный hCLEC12A	4,26 x 10 ⁶	4,45 x 10 ⁻⁵	0,011
Мышиное F3'-9F11	Гликозилированный hCLEC12A	1,15 x 10 ⁶	1,11 x 10 ⁻³	0,96
Мышиное F3'-9F11	Десиалилированный hCLEC12A	1,58 x 10 ⁶	9,80 x 10 ⁻⁴	0,62
Мышиное F3'-9F11	Дегликозилированный hCLEC12A	1,11 x 10 ⁶	3,74 x 10 ⁻⁴	0,34

Пример 3. Анализ потенциальных участков неблагоприятных модификаций в последовательности

[0233] Исследовали потенциальные участки неблагоприятных модификаций в последовательностях CDR (идентифицированных согласно Chothia) антител 16B8.C8 и 9F11.B7. Учитывались следующие потенциальные участки неблагоприятных модификаций: M (потенциальный участок окисления); мотивы последовательности NG, NS и NT (потенциальный участок дезамидирования); мотивы последовательности DG, DS и DT (потенциальный участок изомеризации); мотив последовательности DP (потенциальный участок химического гидролиза). Результаты сведены в **таблице 8**.

Таблица 8. Потенциальные участки неблагоприятных модификаций в последовательностях CDR выбранных мышиных mAb

ID клона	Потенциальный мотив неблагоприятной модификации в последовательности	Расположение
16B8.C8	DS (участок изомеризации)	CDRH3
9F11.B7	M (участок окисления)	CDRH3
	DG (участок изомеризации)	CDRH3
	NS (участок дезамидирования)	CDRH1

[0234] Варианты данных антител были сконструированы с удалением потенциальных мотивов неблагоприятных модификаций в последовательности.

Пример 4. Гуманизация субклонов

[0235] Исходя из полученных данных кинетических параметров и аффинности в отношении рекомбинантного белка hCLEC12A, связывания с hCLEC12A, экспрессируемым на клеточной поверхности, и связывания с раковыми клеточными линиями AML, для гуманизации отбирали два мышиных гибридных субклона, а именно 16B8.C8 и 9F11.B7.

[0236] Выполняли гуманизацию антитела 16B8.C8. Обратные мутации вводили в каркасные области с получением вариантов, имеющих последовательности VH и VL из от scFv-1292 до scFv-1309, а также scFv-1602 и scFv-2061.

[0237] Выполняли гуманизацию антитела 9F11.B7. Обратные мутации вводили в каркасные области с получением вариантов от AB0186 до AB0196.

Пример 5. Анализ гуманизированного антитела, связывающего CLEC12A

[0238] Значения аффинности связывания 18 гуманизированных вариантов scFv клона 16B8.C8 с hCLEC12A и полиспецифических связывающих белков, полученных из указанных вариантов, оценивали посредством SPR при скрининге. Полиспецифические связывающие белки содержат scFv, который связывает CLEC12A, по меньшей мере один антигенсвязывающий участок, который связывает неродственный белок, и Fc-область антитела. Полиспецифический связывающий белок, описанный в приведенных примерах *infra*, обозначен в данном документе как hF3' или F3', за которым следует вариант scFv CLEC12A, который он содержит, например, hF3'-1602 содержит scFv-1602.

[0239] Сигналы связывания для восьми полиспецифических связывающих белков составляли менее 5 RU (примерно 15% ожидаемого сигнала в данном анализе), и, следовательно, эти полиспецифические связывающие белки рассматривались как молекулы, не связывающиеся с hCLEC12A. Остальные десять полиспецифических связывающих белков связывались с hCLEC12A с аффинностью, составляющей < 10 нМ, как показано на **фиг. 5** и в **таблице 9**. Однако потенциальный участок N-гликозилирования был непреднамеренно введен в восемь из десяти полиспецифических связывающих белков посредством введения мышиной обратной мутации N в положении H85. Только конструкции F3'-1295 и F3'-1304 (содержащие A в положении H85) не продемонстрировали потенциальные участки неблагоприятных модификаций, представляющих собой N-гликозилирование; поэтому только эти две конструкции использовали для дальнейшего определения характеристик.

Таблица 9. Кинетические параметры и значения аффинности связывания hCLEC12A с полученными гуманизированными полиспецифическими связывающими белками.

[0240]

Тестируемый образец	Ориентация и scFv	Количество обратных мутаций и остатков, ревертированных в человеческие	Потенциальный участок неблагоприятной модификации в последовательности, представляющей собой N-гликозилирование	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _D (нМ)
F3'-1292	VH-VL	7 BM	Да	4,0 2 × 10 ⁵	1,3 0 × 10 ⁻³	3,22
F3'-1293	VH-VL	6 BM, K(H71)V*	Да	4,5 8 × 10 ⁵	1,7 5 × 10 ⁻³	3,81
F3'-1294	VH-VL	6 BM, Q(H83)T	Да	Сигнал связывания < 5 RU		
F3'-1295	VH-VL	6 BM, N(H85)A	Нет	5,2 0 × 10 ⁵	1,5 3 × 10 ⁻³	2,94
F3'-1296	VH-VL	6 BM, K(H94)R	Да	8,7 4 × 10 ⁵	1,1 7 × 10 ⁻³	1,34
F3'-1297	VH-VL	6 BM, I(L43)A	Да	5,0 4 × 10 ⁵	1,4 1 × 10 ⁻³	2,79
F3'-1298	VH-VL	6 BM, R(L70)D	Да	6,4 4 × 10 ⁵	1,8 5 × 10 ⁻³	2,87
F3'-1299	VH-VL	6 BM, I(L83)F	Да	4,2 6 × 10 ⁵	1,2 1 × 10 ⁻³	2,83

Тестируемы й образец	Ориентаци и scFv	Количество обратных мутаций и остатков, ревертированн ых в человеческие	Потенциальный участок неблагоприятной модификации в последовательност и, представляющей собой N- гликозилирование	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _D (нМ)
F3'-1300	VH-VL	BM отсутствует	Нет	Сигнал связывания < 5 RU		
F3'-1301	VL-VH	7 BM	Да	Сигнал связывания < 5 RU		
F3'-1302	VL-VH	6 BM, K(H71)V	Да	Сигнал связывания < 5 RU		
F3'-1303	VL-VH	6 BM, Q(H83)T	Да	Сигнал связывания < 5 RU		
F3'-1304	VL-VH	6 BM, N(H85)A	Нет	4,8 0 × 10 ⁵	1,3 0 × 10 ⁻³	2,70
F3'-1305	VL-VH	6 BM, K(H94)R	Да	Сигнал связывания < 5 RU		
F3'-1306	VL-VH	6 BM, I(L43)A	Да	9,4 8 × 10 ⁶	4,8 9 × 10 ⁻²	5,16
F3'-1307	VL-VH	6 BM, R(L70)D	Да	9,1 4 × 10 ⁵	1,0 0 × 10 ⁻³	1,10

Тестируемый образец	Ориентация и scFv	Количество обратных мутаций и остатков, ревертированных в человеческие	Потенциальный участок неблагоприятной модификации в последовательности, представляющей собой N-гликозилирование	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _D (нМ)
F3'-1308	VL-VH	6 BM, I(L83)F	Да	Сигнал связывания < 5 RU		
F3'-1309	VL-VH	BM отсутствует	Нет	Сигнал связывания < 5 RU		
m16B8.C8**	Мышиное mAb		Да	3,0 3 × 10 ⁶	2,3 5 × 10 ⁻⁵	0,00 8

*В обозначении "остатков, ревертированных в человеческие" первая буква представляет собой мышинный остаток, буква и цифра в скобках указывают на положение ревертированных остатков в тяжелой и легкой цепях, а последняя буква представляет собой человеческий остаток, например, в K(H71)V мышинный K в положении 71 тяжелой цепи заменен человеческим остатком V.

** Мышиное родительское mAb 16B8.C8 было полностью очищенным.

[0238] F3'-1295 и F3'-1304 тестировали в отношении связывания с изогенными клетками RMA hCLEC12A +, как показано на **фиг. 6**. Связывание F3'-1295 с hCLEC12A, экспрессируемым на клеточной поверхности, было сопоставимо с контрольным полиспецифическим связывающим белком hcFAE-A49.CL1-Merus, который получен из антитела Merus, описанного *supra*, тогда как связывание F3'-1304 с hCLEC12A, экспрессируемым на клеточной поверхности, было более слабым по сравнению с контрольным полиспецифическим связывающим белком hcFAE-A49.CL1-Merus.

[0239] Чтобы определить, был ли человеческий остаток в положении (L43) ответственным за повышение термостабильности, как в F3'-1306, так и в F3'-1297 мышинный остаток I(L43) подвергали обратной мутации в остаток A(L43) исходной

человеческой каркасной области. Кроме того, мышинный Pe в положении L43 F3'-1295 заменяли человеческим Ala, в результате чего был получен F3'-1602. Чтобы понять, влияет ли замена I(L43)A на аффинность полиспецифического связывающего белка в отношении hCLEC12A, связывание hCLEC12A с F3'-1295 и F3'-1602 определяли посредством SPR (Biacore) при 37°C (фиг. 7) и с применением способов, описанных в примере 1 *supra*. Кинетические константы и значения равновесной аффинности связывания перечислены в **таблице 10**. Оба полиспецифических связывающих белка характеризуются очень сходными значениями скорости диссоциации, однако F3'-1602 демонстрирует в приблизительно 2 раза более низкую K_D вследствие его более высокой скорости ассоциации. Следовательно, замена I(L43)A оказывала влияние на K_D .

Таблица 10. Кинетические параметры и значения аффинности связывания F3'-1295 и F3'-1602 с hCLEC12A, определенные посредством SPR

Тестируемый образец	Мишень	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (нМ)
F3'1295	hCLEC12A-His	$4,11 \times 10^5$	$5,87 \times 10^{-4}$	1,43
	hCLEC12A-His	$4,15 \times 10^5$	$5,89 \times 10^{-4}$	1,42
	hCLEC12A-His	$4,19 \times 10^5$	$6,05 \times 10^{-4}$	1,44
	hCLEC12A-His	$4,16 \times 10^5$	$5,96 \times 10^{-4}$	1,43
Среднее значение $\pm$ станд. отклон.		$(4,15 \pm 0,03) \times 10^5$	$(5,94 \pm 0,09) \times 10^{-4}$	$1,43 \pm 0,01$
F3'1602	hCLEC12A-His	$8,54 \times 10^5$	$4,94 \times 10^{-4}$	0,58
	hCLEC12A-His	$8,33 \times 10^5$	$4,94 \times 10^{-4}$	0,59
	hCLEC12A-His	$8,63 \times 10^5$	$4,89 \times 10^{-4}$	0,57
	hCLEC12A-His	$8,26 \times 10^5$	$4,99 \times 10^{-4}$	0,60
Среднее значение $\pm$ станд. отклон.		$(8,44 \pm 0,17) \times 10^5$	$(4,94 \pm 0,04) \times 10^{-4}$	$0,57 \pm 0,01$

[0240] F3'-1295 и F3'-1602 тестировали в отношении их способности связывать изогенные клетки Ba/F3, экспрессирующие человеческий CLEC12A, по сравнению с родительскими клетками Ba/F3 (показано на **фиг. 8A**, и данные перечислены в **таблице 11**). F3'-1602 было способно связывать Ba/F3 hCLEC12A+ с приблизительно в 2 раза более низким значением EC50, но со сходным максимальным MFI связывания по сравнению с F3'-1295. Связывание с родительской клеткой Ba/F3, у которой отсутствует экспрессия CLEC12A, не было выявлено ни в случае F3'-1295, ни в случае F3'-1602 (**фиг. 8B**), что

свидетельствует о высокой специфичности связывания полиспецифического связывающего белка с hCLEC12A.

Таблица 11. EC50 и максимальная MFI полиспецифического связывающего белка, связывающегося с линией изогенных клеток Ba/F3 hCLEC12A+.

Тестируемый образец	Клеточная линия Ba/F3 hCLEC12A+		Родительская клеточная линия Ba/F3	
	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI
F3'-1295	26,1	48040	Связывание отсутствует	
F3'-1602	14,4	50160	Связывание отсутствует	
hcFAE-A49.CLL-Merus	14,3	39740	Связывание отсутствует	

5 **[0241]** F3'-1295 и F3'-1602 дополнительно тестировали в отношении их способности связывать линии раковых клеток AML HL60 (**фиг. 8C**) и PL21 (**фиг. 8D**). F3'-1602 было способно связываться с обеими линиями клеток с более низкими значениями EC50, но со сходной максимальной MFI связывания по сравнению с F3'-1295.

[0242] Нецелевые эффекты лекарственного средства должны оцениваться при
10 разработке белковых терапевтических средств. Анализ с использованием полиспецифического реагента (PSR) на основе проточной цитометрии позволяет определять антитела, которые обладают более высокой вероятностью к неспецифическому связыванию. F3'-1295 и F3'-1602 тестировали в отношении неспецифического связывания с препаратом мембранных белков клеток CHO,
15 солюбилизованных детергентом, в анализе с применением PSR. Оба гуманизированных F3'-1602 и F3'-1295 не связывались с PSR (отсутствовал сдвиг сигнала вправо), и они демонстрировали очень сходные профили с трастузумабом в качестве контроля для PSR, показанные на **фиг. 9**, что свидетельствует о высокой специфичности полиспецифических связывающих белков. В данном анализе ритуксимаб использовали в качестве
20 положительного контроля. F3'-1602 был выбран для дополнительного сравнения с дополнительными полиспецифическими связывающими белками, описанными в следующих экспериментах.

[0243] Влияние разных форматов полиспецифических связывающих белков на изменение эффективности тестировали экспериментально. Полиспецифические
25 связывающие белки различных форматов, F3'-1602 и AB0010, тестировали в отношении их способности связывать клетки Ba/F3, экспрессирующие CLEC12A человека (**фиг. 10A**),

и линию раковых клеток AML (**фиг. 10B**). AB0010 содержит scFv-1602 в формате Fab, а не scFv; молекула, связывающая неродственный белок, напротив, присутствует в виде scFv. Значение EC50 для F3'-1602 превышало данное значение для AB0010 в отношении клеток HL-60, которое было ниже в приблизительно 2 раза (**таблица 12**). Ни AB0010, ни F3'-1602 не демонстрировали какого-либо связывания с родительскими клетками Ba/F3, демонстрируя высокую специфичность связывания с CLEC12A (**фиг. 10C**).

Таблица 12. EC50 связывания и макс. MFI F3'-1602 и AB0010 в отношении клеток Ba/F3 и HL60 hCLEC12A+ AML

Формат	Тестируемый образец	Ba/F3 hCLEC12A+ Клеточная линия		HL60		Ba/F3 Родительская клеточная линия	
		Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)
F3'	F3'-1602	36920	3,20	3820	1,1	Связывание отсутствует	
F3	AB0010	54827	6,13	6064	4,2	Связывание отсутствует	

[0244] Для получения полиспецифических связывающих белков 9F11.B7 все 12

вариантов scFv 9F11.B7 объединяли с молекулой, связывающей неродственный белок, и Fc-доменом антитела. Значения аффинности для 10 полуочищенных (белок А) полиспецифических связывающих белков в отношении к hCLEC12A оценивали посредством SPR в режиме скрининга, показанном в **таблице 13**. Три (AB0190, AB0193 и AB0196) полиспецифических связывающих белка на основе 9F11.B7 демонстрировали гетерогенное связывание и не могли быть согласованы с кинетической моделью 1:1 с высокой достоверностью. Кинетические параметры связывания для 7 остальных полиспецифических связывающих белков были сходны с кинетическими параметрами химерного родительского мышиного mAb 9F11.B7, что свидетельствует о том, что ни гуманизация, ни преобразование Fab в scFv не влияли на аффинность в отношении hCLEC12A.

Таблица 13. Кинетические параметры и значения аффинности связывания hCLEC12A с полуочищенным гуманизированным полиспецифическим связывающим белком.

Тестируемый образец	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	K _D (нМ)	Комментарии
AB0185	$7,26 \times 10^5$	$1,01 \times 10^{-3}$	1,40	

Тестируемый образец	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (нМ)	Комментарии
AB0186	$1,12 \times 10^6$	$1,17 \times 10^{-3}$	1,04	
AB0188	$5,69 \times 10^5$	$9,01 \times 10^{-4}$	1,58	Низкий уровень образования гетеродимеров
AB0189	$1,04 \times 10^6$	$1,27 \times 10^{-3}$	1,21	
AB0190	$1,55 \times 10^7$	$1,77 \times 10^{-2}$	1,14	Расчетное/гетерогенное связывание
AB0191	$7,28 \times 10^5$	$1,26 \times 10^{-3}$	1,73	
AB0192	$1,09 \times 10^6$	$1,38 \times 10^{-3}$	1,26	
AB0193	$1,97 \times 10^7$	$2,07 \times 10^{-2}$	1,04	Расчетное/гетерогенное связывание
AB0195	$7,66 \times 10^5$	$1,29 \times 10^{-3}$	1,68	
AB0196	Слабое гетерогенное связывание; данных для оценки недостаточно			
m9F11-hIgG1	$9,50 \times 10^5$	$1,02 \times 10^{-3}$	1,07	

[0245] Связывание 9 полностью очищенных гуманизированных полиспецифических связывающих белков 9F11.B7 с линиями раковых клеток AML Ba/F3 и HL60 hCLEC12A+, показанное на **фиг. 11А** и **фиг. 11В**, тестировали посредством FACS. AB0190, AB0193 и AB0196 демонстрировали более низкие значения EC50 связывания в отношении обеих

5 линий клеток (**таблица 14**), что коррелирует с неудовлетворительными характеристиками, полученными в SPR-анализе, описанными в **таблице 12**. Значения EC50 для 6 остальных клонов были сходными, демонстрируя корреляцию с данными SPR.

Таблица 14. EC50 связывания и макс. MFI для полиспецифических связывающих белков на основе 9F11.B7 в отношении изогенных линий клеток AML Ba/F3 и HL60 hCLEC12A+

Тестируемый образец	Изогенная клеточная линия Ba/F3 hCLEC12A+		Раковая клеточная линия HL60	
	EC50 (нМ)	Макс. связывание, MFI	EC50 (нМ)	Макс. связывание, MFI
AB0185	0,7	8025	0,4	372
AB0186	0,7	8160	0,5	412
AB0189	1,3	8760	0,7	420
AB0190	2,9	5139	N/A	n/a

Тестируемый образец	Изогенная клеточная линия		Раковая клеточная линия HL60	
	Ba/F3 hCLEC12A+			
AB0191	0,6	7941	0,6	420
AB0192	0,7	10158	0,6	503
AB0193	2,9	7732	19	345
AB0195	0,6	10775	0,7	551
AB0196	2,7	7427	135	650
F3'-1602	2,0	14712	1,6	924

Пример 6. Анализ молекулярного формата и дизайна, структуры, аффинности, активности, специфичности и перекрестной реактивности F3'-1602

Поверхностный плазмонный резонанс (SPR)

[0246] Значения аффинности связывания F3'-1602 в отношении рекомбинантного

5 CLEC12A человека (hCLEC12A) или CLEC12A яванского макака (cCLEC12A) измеряли посредством SPR с применением прибора Biacore 8K при физиологической температуре 37°C. Вкратце, антитела, специфические к человеческому Fc, подвергали ковалентной иммобилизации при плотности приблизительно 8000-10000 резонансных единиц (RU) на карбоксиметилдекстрановой матрице биосенсорного чипа CM5 с получением чипа с IgG к hFc. Образцы F3'-1602 вводили на чип с IgG к hFc с расходом 10 мкл/мин в течение 60
10 секунд с достижением уровня захвата приблизительно 250 RU. hCLEC12A-His или cCLEC12A-His серийно разбавляли (от 100 нМ до 0,14 нМ) в трехкратных разбавлениях буфером для анализа и вводили при расходе 30 мкл/мин поверх захваченных тестируемых образцов. Ассоциацию отслеживали в течение 300 секунд, а диссоциацию отслеживали в
15 течение 900 секунд. Поверхности регенерировали между циклами посредством трех впрыскиваний 10 мМ глицина-HCl (pH 1,7) продолжительностью 20 секунд при 100 мкл/мин.

[0247] Кинетические константы и значения равновесной аффинности связывания представлены в **таблице 15**, а исходные данные и модели аппроксимации показаны на
20 **фиг. 12**. Комплекс, образуемый F3'-1602 и CLEC12A человека, является прочным, о чем свидетельствует низкая константа скорости диссоциации, составляющая $4,94 \pm 0,09 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$. Равновесная аффинность связывания K_D для F3'-1602 составляла $0,59 \pm 0,01 \text{ нМ}$.

Таблица 15. Сравнение кинетических параметров связывания F3'-1602 с CLEC12A человека при pH 7,4 и pH 6,0.

Тестируемый образец	Мишень	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (нМ)
F3'-1602 #1	hCLEC12A-His	$8,54 \times 10^5$	$4,94 \times 10^{-4}$	0,58
F3'-1602 #2	hCLEC12A-His	$8,33 \times 10^5$	$4,94 \times 10^{-4}$	0,59
F3'-1602 #3	hCLEC12A-His	$8,63 \times 10^5$	$4,89 \times 10^{-4}$	0,57
F3'-1602 #4	hCLEC12A-His	$8,26 \times 10^5$	$4,99 \times 10^{-4}$	0,60
Среднее значение $\pm$ станд. откл.	hCLEC12A-His	$(8,44 \pm 0,03) \times 10^5$	$(4,94 \pm 0,09) \times 10^{-4}$	$0,59 \pm 0,01$

[0248] Полиморфный вариант CLEC12A-K244Q преобладает у 30% населения.

Связывание F3'-1602 с CLEC12A-K244Q оценивали посредством SPR и сравнивали его аффинность с аффинностью CLEC12A дикого типа. Как показано в **таблице 16**,

параметры кинетики связывания F3'-1602 в отношении дикого типа и варианта K244Q

5 CLEC12A являются сходными.

Таблица 16. Кинетические параметры и значения аффинности F3'-1602 в отношении CLEC12A-K244Q человека

[0249]

Тестируемые образцы	Мишень	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (нМ)
F3'-1602 #1	hCLEC12A WT	$8,26 \times 10^5$	$4,96 \times 10^{-4}$	0,60
F3'-1602 #2	hCLEC12A-K244Q	$5,65 \times 10^5$	$4,36 \times 10^{-4}$	0,77

Связывание неродственных рекомбинантных белков и специфичность связывания клеток

10 [0249] Посредством SPR тестировали специфичность к CLEC12A в сравнении со специфичностью к пяти разным неродственным белкам при концентрациях, не превышающих до 500 нМ, и результаты показаны на **фиг. 13**. Неспецифического связывания ни с одной из неспецифических рекомбинантных мишеней не выявили (**фиг. 13В, фиг. 13С**), тогда как положительный контроль (CLEC12A) демонстрировал

15 связывание 50 RU при концентрации 100 нМ (**фиг. 13А**). Также тестировали специфичность в отношении белков, экспрессируемых на поверхности линии клеток Ва/Ф3. Неспецифического связывания F3'-1602 в концентрации 333 нМ с родительской линией клеток Ва/Ф3 не наблюдали (**фиг. 13Е**), тогда как линии клеток Ва/Ф3, сконструированные для экспрессии CLEC12A, используемые в качестве положительного

20 контроля, демонстрировали значительный сдвиг на графике FACS, определенный посредством проточной цитометрии (**фиг. 13D**), что свидетельствует о том, что связывание F3'-1602 с последним было CLEC12A-специфическим.

Неспецифическое связывание с полиспецифическим реагентом (PSR)

[0250] Анализ с применением PSR на основе проточной цитометрии позволяет отсеивать антитела, которые с большей вероятностью неспецифически связываются с неродственными белками. В рамках оценки реализуемости F3'-1602 тестировали в отношении неспецифического связывания с препаратом мембранных белков,

5 солюбилизированных детергентом, в анализе с применением PSR (фиг. 14). Анализ с использованием PSR положительно коррелирует с хроматографией перекрестного взаимодействия, суррогатным методом анализа растворимости антител, а также с твердофазным иммуоферментным анализом с использованием бакуловирусных частиц, суррогатным методом анализа клиренса *in vivo* (Xu *et. al* (2013). Addressing polyspecificity of antibodies selected from an in vitro yeast presentation system: a FACS-based, high-throughput selection and analytical tool. *Protein engineering design and selection*, 26, 663-670).

[0251] 50 мкл F3'-1602 или контрольного mAb в концентрации 100 нМ в PBSF инкубировали с 5 мкл суспензии предварительно промытых гранул Dynabeads Protein A (Invitrogen, № по каталогу 10001D) в течение 30 минут при комнатной температуре.

15 Магнитные гранулы, связанные с полиспецифическим связывающим белком или mAb, выдерживали на магнитной подставке в течение 60 секунд и удаляли супернатант. Связанные гранулы промывали с помощью 100 мкл PBSF. Гранулы инкубировали в течение 20 минут на льду с 50 мкл биотинилированного реагента PSR, который представлял собой 25-кратное разбавление исходного раствора (Xu *et. al.* 2013). Образцы помещали на магнитную подставку, удаляли супернатант и промывали с помощью 100 мкл PBSF. Вторичный реагент для FACS, предназначенный для выявления связывания биотинилированного реагента PSR с полиспецифическими связывающими белками или контрольными mAb, получали следующим образом: 1:250 мкл стрептавидина-PE (Biolegend, № по каталогу 405204) и 1:100 ослиного антитела к Fc человека объединяли в PBSF. К каждому образцу добавляли 100 мкл вторичных реагентов и инкубировали в течение 20 минут на льду. Гранулы дважды промывали посредством 100 мкл PBSF и образцы анализировали на FACS Celesta (BD). В анализе использовали два контроля PSR, ритуксимаб (положительный в PSR) и трастузумаб (чистый профиль в PSR).

30 *Анализ перекрестной реактивности High-Spec[®] с использованием микрочипов протеома человека HuPro[™]*

[0252] Для исследования специфичности F3'-1602 использовали технологию белковых микрочипов. Микрочип протеома человека HuPro[™] представляет собой самую большую базу данных индивидуально очищенных полноразмерных человеческих белков на одном

предметном стекле. Массив, состоящий из 22000 полноразмерных белков человека, экспрессировали в дрожжах *S. cerevisiae*, очищали и затем наносили в двух повторностях на предметное стекло в виде микрочипа, что дает возможность определять профили тысячи взаимодействий посредством способа с высокой пропускной способностью.

5 [0253] Специфичность F3'-1602 тестировали при концентрации 0,1 мкг/мл и 1 мкг/мл в отношении микрочипа HuProt с нативным протеомом человека, встроенного в предметные стекла для микрочипов, в CDI laboratories (Балтимор, Мэриленд) в соответствии с их стандартной процедурой.

10 [0254] На **фиг. 15** показано относительное связывание (Z-показатель) F3'-1602 при 1 мкг/мл с CLEC12A человека по сравнению с микрочипом полного протеома человека. Z-показатель представляет собой средний показатель связывания данного белка в двух повторностях. В целях сравнения 24 основных белка с остаточным фоновым связыванием с F3'-1602 также представлены на **фиг. 15**. В **таблице 17** представлены Z- и S-показатели для F3'-1602 в отношении CLEC12A человека и 6 основных белков из микрочипа. S-показатель представляет собой разницу между Z-показателем для указанного белка и для следующего в одном ряду с ним. Если S-показатель для основного хита составляет > 3 , то антитело считают высокоспецифичным по отношению к его мишени. Основываясь на критериях Z- и S-показателей, F3'-1602 демонстрировало высокую специфичность к белкам человека и отсутствие нецелевого связывания в анализе с применением протеома человека HuProt™.

15

20

Таблица 17. Z- и S-показатели для F3'-1602 в анализе с применением микрочипа протеома человека HuProt™

[0255]

Название	Место в ряду	ID белка	Z-показатель	S-показатель
hCLEC12A	1		150,21	144,62
MFF	2	JHU15965.P1168B06	5,60	0,59
RPLP0	3	JHU16464.P173H05	5,01	0,12
PARS2	4	JHU06781.P071H01	4,89	0,062
HMGA1_frag	5	JHU16418.P173B08	4,83	0,27
THEMIS2_frag	6	JHU15201.P160B01	4,56	0,37
HAGHL	7	JHU08774.P092D12	4,19	0,01

Молекулярное моделирование

[0255] Плечо F3'-1602, связывающее CLEC12A, оценивали с помощью 377 биотерапевтических молекул, прошедших фазу I, с применением устройства для профилирования терапевтических антител (TAP), доступного на веб-сайте SAbPred. В TAP использовали ABodyBuilder для построения модели для F3'-1602 с боковыми цепями с помощью PEARLS. CDRH3 построили с помощью MODELLER ввиду его разнообразия.

[0256] Оценивали следующие пять различных параметров:

- общую длину CDR
- зоны поверхностной гидрофобности (PSH) в непосредственной близости от CDR
- зоны положительного заряда (PPC) в непосредственной близости от CDR
- зоны отрицательного заряда (PNC) в непосредственной близости от CDR
- структуру, симметрию заряда, параметр заряда Fv (sFvCSP)

[0257] Эти параметры F3'-1602 затем сравнивали с распределениями профилей терапевтических антител для прогнозирования реализуемости и любых потенциальных проблем, которые могут привести к последующим трудностям.

[0258] На **фиг. 16** демонстрируется представленная в виде ленточной диаграммы модель CLEC12A-связывающего scFv в трех различных ориентациях (верхняя панель) и их соответствующее распределение поверхностного заряда для той же ориентации (нижняя панель). Распределение заряда scFv антитела к CLEC12A является поляризованным ("вид сверху", нижняя панель) с отрицательно заряженными остатками, включенными преимущественно в CDRH3 и CDRL2. Неравномерное распределение электростатических зон на паратопе очевидно связано с мишенью и отражает комплементарность распределения заряда на его родственном эпитопе, что вероятно может способствовать высокоаффинному взаимодействию между CLEC12A и scFv F3'-1602.

[0259] На **фиг. 17** показаны результаты анализов длины CDR и поверхностной гидрофобности плеча F3'-1602, нацеливающегося на scFv CLEC12A. Длина CDR для плеча F3'-1602, связывающего CLEC12A, является типичной для терапевтических антител на поздней стадии их испытания.

[0260] Гидрофобность моноклонального антитела является важным биофизическим свойством, определяющим его реализуемость в терапевтическое средство. Анализ гидрофобных участков в CDR антител дает возможность прогнозировать его характеристики. Плечо CLEC12A в F3'-1602 характеризуется гораздо более низкой гидрофобностью по сравнению с другими эталонными молекулами. На основании

моделирования обнаружено, что на поверхности CLEC12A-связывающего плеча F3'-1602 отсутствует гидрофобная зона значительного размера.

[0261] Распределение заряда scFv антитела к CLEC12A является поляризованным с отрицательно заряженными остатками, включенными преимущественно в CDRH3 и CDRL2 (как показано на **фиг. 16**). Хотя положительно заряженные зоны и симметрия заряда находятся в пределах нормы, без ограничения какой-либо теорией предполагается, что различные отрицательно заряженные зоны на паратопе связаны с мишенью и отражают комплементарность распределения заряда на его родственном эпитопе, что может способствовать его высокоаффинному взаимодействию с CLEC12A.

Пример 7. Анализ F3'-1602 в отношении потенциальных участков неблагоприятных модификаций в последовательности

[0262] Аминокислотные последовательности трех полипептидных цепей F3'-1602 анализировали в отношении потенциальных участков неблагоприятных модификаций в последовательности, описанных в примере 3 *supra*. Потенциальные участки неблагоприятных модификаций в последовательности показаны в **таблице 18**.

Таблица 18. Потенциальные участки неблагоприятных модификаций в последовательности в F3'-1602 CDR пронумерованы согласно Chothia.

VL-CL	VH-CH1-Fc	VH-VL-Fc
Отсутствуют	DP в CDRH3 (потенциальная химическая нестабильность)	DS в CDRH3 (потенциальная изомеризация аспартата)

[0263] Чтобы оценить потенциальные участки неблагоприятных модификаций осуществляли испытания стабильности методом ускоренного старения (4 недели при 40°C) и испытания стабильности при принудительном разложении. DP в CDRH3 VH-CH1-Fc не поддавался модификации при испытаниях стабильности методом ускоренного старения или при испытаниях стабильности при принудительном разложении, поэтому дальнейший анализ не требовался. Однако было отмечено, что модификация DS в CDRH3 в scFv приводила к снижению связывания CLEC12A с F3'-1602 в испытаниях стабильности методом ускоренного старения.

[0264] Для замены DS в CDRH3 использовали технологию дрожжевого дисплея для идентификации альтернативных мотивов последовательности без участка DS. Три варианта, а именно YDYDD**A**LDDY (SEQ ID NO:141) YDYDD**I**LDDY (SEQ ID NO:142) и YDYDD**L**LDDY (SEQ ID NO:143), идентифицировали как демонстрирующие связывание с hCLEC12A, хотя и с более слабым сигналом связывания по сравнению с родительским

scFv (YDYDDSLDY) (SEQ ID NO:5), тогда как варианты YDYDDVLDY (SEQ ID NO:144), YDYDDTLDY (SEQ ID NO:145) и YDYDESLDY (SEQ ID NO:146) были

идентифицированы как несвязывающие молекулы. На основании анализа связывания только варианты YDYDDALDY ((SEQ ID NO:141), AB0053) и YDYDDILDY ((SEQ ID NO:142), AB0085) рассматривались для продуцирования в клетках млекопитающих и дальнейшего определения характеристик. Определяли характеристики связывания AB0053 и AB0085 с hCLEC12A-His с использованием поверхностного плазмонного резонанса (SPR) при 37°C. Обе мутации, введенные для устранения неблагоприятной модификации DS, оказывали влияние на связывание с hCLEC12A-His (**таблица 19**). На

фиг. 18 представлены результаты FACS-анализа связывания с hCLEC12A-his с использованием дрожжевых библиотек, полученных для устранения потенциальных участков неблагоприятных модификаций последовательности в CDRH3. Данные показали полную потерю связывания в DS по сравнению со сконструированным вариантом DI (AB0085). Введение DA вместо DS (AB0053) не устраняло связывание полностью, однако приводило к кажущейся гетерогенности на сенсограмме связывания.

[0265] Значения аффинности связывания F3'-1602 с рекомбинантным CLEC12A человека измеряли посредством SPR при 37°C с использованием прибора Biacore 8K.

Вкратце, антитела, специфические к человеческому Fc, подвергали ковалентной иммобилизации при плотности приблизительно 8000-10000 резонансных единиц (RU) на

карбоксиметилдекстрановой матрице биосенсорного чипа CM5 посредством химической иммобилизации по аминогруппе с получением чипа с IgG к hFc. Образцы F3'-1602

захватывали на чипе с IgG к hFc при концентрации 1,5 мкг/мл с расходом 10 мкл/мин в течение 60 секунд с достижением уровня захвата ~150-250 RU. Серийно разбавляли

hCLEC12A-His (от 100 нМ до 0,046 нМ) в трехкратных разбавлениях буфером HBS-EP+

(1X; 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0,05% P20, pH 7,4) с 0,1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина (BSA) и вводили при расходе 30 мкл/мин поверх захваченных

тестируемых образцов. Ассоциацию отслеживали в течение 300 секунд, а диссоциацию отслеживали в течение 600 секунд. Поверхности регенерировали между циклами

посредством трех впрыскиваний 10 mM глицина-HCl, pH 1,7, продолжительностью

20 секунд при 100 мкл/мин. В ходе всего эксперимента использовали буфер HBS-EP+ (1X)

с 0,1 мг/мл BSA. Данные анализировали с использованием оценочного программного обеспечения Biacore 8K Insight Evaluation (GE Healthcare).

Таблица 19. Кинетические параметры и значения аффинности DS-модифицированных клонов в отношении к hCLEC12A и CLEC12A

Тестируемый образец	k_a (M ⁻¹ с ⁻¹)	k_d (с ⁻¹)	K _d (нМ)	Примечания
AB0053	1,63 x 10 ^{6*}	$k_{d1} = 1,57 \times 10^{-2}$ и $k_{d2} = 9,49 \times 10^{-4}$	2,41	Аппроксимация к модели с двумя состояниями
AB0085	Связывание отсутствует			
F3'-1602 (AB0237)	1,11 x 10 ⁶	8,95 x 10 ⁻⁴	0,80	Аппроксимация к классической модели 1:1

*Значение k_{a2} было незначимым по сравнению со значением k_{a1} . Поэтому показано только значение k_{a1} .

[0266] Поскольку при подходе с использованием библиотеки получали AB0053 в виде единственного хита, и данный хит демонстрировал кинетику связывания с hCLEC12A, значительно отличающуюся от таковой у F3'-1602, было сделано заключение о том, что мотив DS необходим для поддержания структуры CDRH3 и поэтому, по сути, не может быть удален.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

[0267] Если не указано иное, то полное раскрытие каждого из патентных документов и научных статей, упомянутых в данном документе, включено посредством ссылки для всех целей.

ЭКВИВАЛЕНТЫ

[0268] Антигенсвязывающий участок, описанный в настоящей заявке, может быть осуществлен в других конкретных формах без отступления от его сущности или существенных характеристик. Таким образом, приведенные выше варианты осуществления следует рассматривать во всех отношениях как иллюстративные, а не ограничивающие антигенсвязывающий участок, описанный в данном документе. Таким образом, объем настоящей заявки указан в прилагаемой формуле изобретения, а не в предшествующем описании, и при этом предполагается, что все изменения, которые соответствуют смыслу и диапазону эквивалентности формулы изобретения, рассматриваются как охваченные ею.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO.	Последовательность
1	EVQLQESGPGGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGLHWVRQSPGKGLEWLGVIWSGGKTD YNTPFKSRLSISKDISKNQVFFKMNSLQPNDAIYFCAKYDYDDSLDYWGQGTSVTVS S
2	DIQMNQSPSSLSASLGDTIAITCHASQNINFWLSWYQQKPGNIPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGSTRFTLTISSLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGQGTKLEIK
3	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTSLVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFGSGSGSTRFTLTISSLQPEDATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
4	WSGGK
5	YDYDDSLDY
6	HASQNINFWLS
7	EASNLHT
8	QQSHSYPLT
9	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTSLVTVS S
10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGSTRFTLTISSLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGQGTKLEIK
11	GFSLTNY
12	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGSTRFTLTISSLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSQLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRVTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGTSLVTVSS
13	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTSLVTVS S

SEQ ID NO.	Последовательность
14	<u>E</u> VQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDYWGQGT <u>S</u> V TVSS
15	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT LVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGT LVTVSS
17	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKX ₁ PKLLIYEASNLHTG VPSRFSGSGSGTX ₂ FTLTISLQPEDX ₃ ATYYCQQSHSYPLTFGX ₄ GKLEIK где X ₁ представляет собой A или I, X ₂ представляет собой D или R, X ₃ представляет собой F или I, и X ₄ представляет собой Q или G
18	KSSQSLLWNVNQN NYLV
19	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKS RVTISKDT SKNQFSLKLSSVTANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT LVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKS RVTISKDT SKNQFSLKLSSVTANDTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGT LVTVSS
21	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

SEQ ID NO.	Последовательность
	SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	EVQLQESGAELVRSGASIKLSCAASAFNIKDYFIHWVRQRPDQGLEWIGWIDPENDDT EYAPKFQDKATMTADTSSNTAYLQLSSLTSADTAVYYCNALWSRGGYFDYWGQGTTLT VSS
23	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTVTSKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTTLTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
24	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSQLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRTVTSKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGTTLTVSS
25	EVLLTQSPAIIAASPGEKVTITCSARSSVSYSWYQQKPGSSPKIWIYGISKLASGVP ARFSGSGSGTYFSFTINNLEAEDVATYYCQQRSYYPFTFGSGTKLEIK
26	AFNIKDY
27	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTVTSKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCARYDYDDSLDYWGQGTTLTVS SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSQLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRTVTSKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCARYDYDDSLD YWGQGTTLTVSS
29	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDYWGQGT <u>S</u> TVSS

SEQ ID NO.	Последовательность
30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGGTRFTLTISSLQPEDIA ¹ TYYCQQSHSYPLTFGQGTKLEIK
31	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT ² LVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFGSGSGGTRFTLTISSLQPEDIA ¹ TYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIK
32	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGGTRFTLTISSLQPEDIA ¹ TYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGT ² LVTVSS
33	WSGGS
34	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDIA ¹ TYYCQQSHSYPLTFGQGTKLEIK
35	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT ² LVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDIA ¹ TYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIK
36	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDIA ¹ TYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGT ² LVTVSS
37	DPEND
38	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGGTRFTLTISSLQPEDFA ¹ TYYCQQSHSYPLTFGQGTKLEIK
39	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGT ² LVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ

SEQ ID NO.	Последовательность
	QKPGKIPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
40	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKIPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSQQLQEQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQANDTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGTLLTVSS
41	QLQEQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYDYDDSLDYWGQGTLLTVS S
42	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGQGTKEIK
43	QLQEQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYDYDDSLDYWGQGTLLTVS SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSQQLQEQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYDYDDSLD YWGQGTLLTVSS
45	QLQEQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLLTVS S
46	QHNHGSFLPYT
47	QLQEQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKYDYDDSLDYWGQGTLLTVS SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK

SEQ ID NO.	Последовательность
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPEDIAITYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGSGGGG SGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWSGGKTDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKYDYDDSLD YWGQGTILVTVSS
49	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKSRTISX ₁ DTSKNQFSLKLSSVX ₂ AX ₃ DTAVYYCAX ₄ YDYDDSLDYWGQGTILV TVSS где X ₁ представляет собой V или K, X ₂ представляет собой T или Q, X ₃ представляет собой A или N, и X ₄ представляет собой R или K
50	LWSRGGYFDY
51	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWRQAPGKCLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDYWGQGTSV TVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLS WFOQKPGKAPKPLIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTFITISLQPEDIAITYYCLQFD AFPFTFGCGTKLEIK
52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLSWFOQKPGKAPKPLIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQDYTFITISLQPEDIAITYYCLQFDAFPFTFGCGTKLEIKGGGSGGGG SGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWRQAPGKCLEW VAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGG AMDYWGQGTSVTVSS
53	SARSSVSYMS
54	DGYPTGGAMDY
55	GISKLAS
56	QQRSYYPFT
57	EVQLQESGPELEKPGASVRISCKASGYSFTAYNMNWVKQSNKSLWIGNIDPSYGDA TYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARDNYYGSGYFDYWGQGTTL TVSS
58	SVLMTQTPLSLPVSLGDRASISCRSSQGIVHINGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSN RFGSVPRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDLGVIYCFQGSHPWTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO.	Последовательность
59	GFTFNSF
60	EVQLQESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPEKGLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCARDGYPTGGAMDYWGQGTSV TVSS
61	DIKMTQSPSSMYASLGERTITCKASQDIYNYLSWFQLKPGKSPRPLIYRANILVSGV PSKFSGSGSGQDYSLTINSLEYEDLGIYYCLQFDAFPFTFGSGTKLEIK
62	GFTFNAF
63	SSGSTS
64	GYSFTAY
65	KASQDIYNYLS
66	RANILVS
67	LQFDAFPFT
68	DPSYGD
69	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQDYTFTISSLQPEDATYYCLQFDAFPFTFGSGTKLEIK
70	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDYWGQGTSV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLS WFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTFTISSLQPEDATYYCLQFD AFPFTFGCGTKLEIK
71	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQDYTFTISSLQPEDATYYCLQFDAFPFTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLEW VAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGG AMDYWGQGSVTVSS
72	GFSLTSY
73	DNYYGSGYFDY
74	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYPTGGAMDYWGQGTSV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLS

SEQ ID NO.	Последовательность
	WFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYFTFTISSLQPEDATYYCLQFD AFPFTFGCGTKLEIK
75	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQDYFTFTISSLQPEDATYYCLQFDAFPFTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEW VAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARS GYPTGG AMDYWGQGTSVTVSS
76	<u>E</u> VQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR <u>S</u> GYPTGGAMDYWGQGT <u>S</u> TVSS
77	RSSQGIVHINGNTYLE
78	KVSNRFS
79	SGYPTGGAMDY
80	FQGSHPWT
81	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDYWGQGTSV TVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIKMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLS WFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDATYYCLQFD AFPFTFGCGTKLEIK
82	DIKMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDATYYCLQFDAFPFTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEW VAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARDGYPTGG AMDYWGQGTSVTVSS
83	EVQLQESGAELVRSGASVKLSCTVSGFNKDYYMHWVKQRPEQGLEWIGWIDPENGDT ENVPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLRSLTSED TAVYYCKSYYYDSSSR YVDVWGAGTT VTVSS
84	DI <u>K</u> MTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDIYNYLSW <u>F</u> QQKPGKAPK <u>P</u> LIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQ <u>D</u> Y <u>T</u> L <u>T</u> ISSLQPEDATYYCLQFDAFPFTFGSGTKLEIK
85	GIVMTQAPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLDSDGKTFLNWFLQRPQGSPKRLISLVSK LD SGVPDRFTGSGSGTDFTLKL SRVEPEDLG VYYCWQGT HFPYTFGGG TKLEIK

SEQ ID NO.	Последовательность
86	GFNIKDY
87	GFSLTSF
88	DPENGD
89	SYFAMDY
90	KSSQSLLDSDGKTFLN
91	LVSKLDS
92	GASIRES
93	WQGTHFPYT
94	EVQLQESGAELMKPGASVKISCRITGYTFSTYWIEWVKQRPGRGPEWIGELFPGNSDT TLNEKFTGKATFTADSSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSGLYGGSSLDYWGQGTTLT VSS
95	GIVMTQSPASLSASVGETVTITCRAGENIHSYLAWYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLAEGV PSRFGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYQCQHHYGTPTFTGGGTKLEIK
96	GYTFSTY
97	FPGNSD
98	SGYYGSSLDY
99	RAGENIHSYLA
100	NAKTLAE
101	QHHYGTPT
102	WSGGN
103	GIVMTQSPSSSLAVTAGEKVTMRCKSSQSLLWNVNQNNYLWYQQKQGQPPKLLIYGAS IRESWVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVHAEDLAVYYCQHNHGSFLPYTFGGGTKLEIK
104	EVQLQESGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTSFGIHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTD SNAAFISRLSITKDISKSQVFFKMNSLQVTDTAIYYCARSYFAMDYWGQGTSTVTVSS
105	GASIRQS
106	KSSQSLLWNVNQNNYLL
107	THFGMDY
108	QVQLRQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVMWSSGGSTD YNAAFMSRLSISKDNSKSQVFFTMNSLQADDTAIYYCARTHFGMDYWGQGTPTVTVSS
109	GIVMTQSPSSSLAVTAGEKVTMRCKSSQSLLWSNVNQNNYLLWYQQKQGQPPKLLIYGAS IRQSWVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVHAEDLAVYYCQHNHGSFLPYTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO.	Последовательность
110	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGLEWIGVIWSSGGKTD YNPSLKSRVTISK <u>D</u> TSKNQFSLKLSSVTAN <u>D</u> TAVYYCAK <u>Y</u> DYDDSLDYWGQGTSLVTVS S
111	KSSQSLLWSVNQNNYLL
112	XGYPTGGAMDY где X представляет собой D или S
113	EVQLQESGPGGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTSFGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGSTD SNAAFISRLTITKDNSKSQVFFKMNSLQATDTAIYYCARSYFAMDYWGQGTSVSVSS
114	DIVMTQSPSSSLAVTAGEKVTMRCKSSQSLLWNVNQNNYLLWYQQKQGQPPKLLIYGAS IRESWVPDRFTGSGSGTDFTLTISNVHVEDLAVYYCQHNHGSFLPYTFGGGTKLEIK
115	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNX ₁ FGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSTS IYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARX ₂ GYPTGGAMDYWGQGT SVTVSS где X ₁ представляет собой S или A, и X ₂ представляет собой D или S
116	DIX ₁ MTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSG VPSRFSGSGSGQDYTX ₂ TISSLQPEDIA TYYCLQFD AFPFTFGSGGTKLEIK где X ₁ представляет собой Q или K, и X ₂ представляет собой F или L
117	GFTFNXF где X представляет собой S или A
118	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGGAMDYWGQGTSV TVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLS WFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIA TYYCLQFD AFPFTFGCGTKLEIK
119	DIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQDYTLTISSLQPEDIA TYYCLQFD AFPFTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNAFGMHWVRQAPGKCLEW VAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYPTGG AMDYWGQGTSVTVSS
120	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEWVAFISSGSTSI YYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYPTGGAMDYWGQGTSV

SEQ ID NO.	Последовательность
	TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLS WFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGVPSRFSGSGSGQDYTLTISLQPEDATYYCLQFD AFPFTFGCGTKLEIK
121	DIKMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYNYLSWFQQKPGKAPKPLIYRANILVSGV PSRFSGSGSGQDYTLTISLQPEDATYYCLQFDAFPFTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFNSFGMHWVRQAPGKCLEW VAFISSGSTSIYYANTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYPTGG AMDYWGQGTSTVTVSS
122	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGGKTD YNPSLKS RVTIS <u>K</u> DT SKNQFSLKLSSV <u>Q</u> <u>A</u> NDTAVYYCARYDYDDSLDYWGQGT LVTVS S
123	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGST SYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSED TAVYYCARGNYGDEFDYWGQGT LVTV SS
124	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIK
125	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSVSTSSYNMHWYQQKPGKPPKLLIKYASNL ESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHSWEIPLTFGQGTKVEIK
126	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPYNGAA FYSQNFKDRVT LTVDTSTSTAYLE LSSLRSED TAVYYCAIERGADLEGYAMDYWGQGT LVTVSS
127	YYDSSSRVVDV
128	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGLEWIGVIWVGGATD YNPSLKS RVTIS VDT SKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGD TLDYWGQGT LVTVS S
129	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGSGTKLEIK
130	WVGGA
131	GDYGD TLDY
132	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVIWVGGATD YNPSLKS RVTIS VDT SKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGD TLDYWGQGT LVTVS

SEQ ID NO.	Последовательность
	SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
133	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVIWVGATDYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGD ¹ TL ² D YWGQGT ³ LVTVSS
134	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKGLEWIGVILSGGWD YNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGDALDYWGQGT ³ LVTV ⁴ S
135	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPED ¹ IATYYCQQSHSYPLTFGSGTKLEIK
136	LSGGW
137	GDYGDALDY
138	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEWIGVILSGGWD YNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGDALDYWGQGT ³ LVTV ⁴ S SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQ QKPGKAPKLLIYEASNLHTGVPSRFSGSGSGTRFTLTISLQPED ¹ IATYYCQQSHSYP LTFGCGTKLEIK
139	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPED ¹ IATYYCQQSHSYPLTFGCGTKLEIKGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSQLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKCLEW IGVILSGGWDYNPSLKSRTISKDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGDALD YWGQGT ³ LVTVSS
140	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFSGSGSGTRFTLTISLQPED ¹ IATYYCQQSHSYPLTFGGGTKLEIK
141	YDYDDALDY
142	YDYDDILDY
143	YDYDDL ¹ LDY
144	YDYDDVLDY

SEQ ID NO.	Последовательность
145	YDYDDTLDY
146	YDYDESLDY
147	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYGLHWIRQPPGKC <u>LE</u> WIGVIWVGGATD YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVQAADTAVYYCAKGDYGDTLDYWGQGTLVTVS S
148	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINFWLSWYQQKPGKAPKLLIYEASNLHTGV PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSHSYPLTFGC <u>G</u> TKLEIK

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
 - (a) вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область 1 (CDR1), определяющую комплементарность область 2 (CDR2) и определяющую комплементарность область 3 (CDR3), содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 11, 4 и 5 соответственно; и
 - (b) вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 6, 7 и 8 соответственно.
2. Антигенсвязывающий участок по п. 1, где VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:49, и VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:17.
3. Антигенсвязывающий участок по п. 1 или п. 2, где VH содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% идентичную SEQ ID NO:45, и VL содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% идентичную SEQ ID NO:140.
4. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-3, где VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:45, и VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:140.
5. Антигенсвязывающий участок по п. 1 или п. 2, где VH и VL содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 9 и 10; 13 и 10; 110 и 10; 45 и 10; 122 и 10; 9 и 30; 9 и 34; 9 и 38 или 41 и 42 соответственно.
6. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
 - (a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 117, 63 и 112 соответственно; и
 - (b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно.
7. Антигенсвязывающий участок по п. 6, где VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 59, 63 и 79 соответственно; и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно.
8. Антигенсвязывающий участок по п. 6, где VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 59, 63 и 54 соответственно, и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно.

9. Антигенсвязывающий участок по п. 6, где VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 62, 63 и 54 соответственно, и VL содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 65, 66 и 67 соответственно.
10. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 6-9, где VH содержит
5 аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:115, и VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:116.
11. Антигенсвязывающий участок по п. 10, где VH и VL содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 29 и 69; 14 и 69; 76 и 69; 29 и 84; 14 и 84 или 76 и 84 соответственно.
- 10 12. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 33 и 89 соответственно; и
(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 106, 92 и 46 соответственно.
- 15 13. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 72, 33 и 107 соответственно; и
(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 111, 105 и 46 соответственно.
- 20 14. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 87, 102 и 89 соответственно; и
(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 18, 92 и 46 соответственно.
- 25 15. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 26, 37 и 50 соответственно; и
(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 53, 55 и 56 соответственно.
- 30 16. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 64, 68 и 73 соответственно; и
(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 77, 78 и 80 соответственно.

17. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 86, 88 и 127 соответственно; и
(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 90, 91 и 93 соответственно.
18. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A, содержащий:
(a) VH, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 96, 97 и 98 соответственно; и
(b) VL, содержащий CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 99, 100 и 101 соответственно.
19. Антигенсвязывающий участок, который конкурирует с антигенсвязывающим участком по любому из пп. 13-17.
20. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-11, 14-15 и п. 17, где антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A человека с константой диссоциации (K_D), составляющей 20 нМ или меньше, как измерено посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR).
21. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-4, где антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A человека с K_D , составляющей 1 нМ или меньше, как измерено посредством SPR.
22. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-11, где антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A независимым от гликозилирования образом.
23. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-5 и пп. 20-22, где антигенсвязывающий участок связывает CLEC12A человека, содержащий мутацию K244Q.
24. Антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-23, где антигенсвязывающий участок представлен в виде одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv).
25. Антигенсвязывающий участок по п. 24, где scFv содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, 82, 118, 119, 120, 121, 132, 133, 138 и 139.
26. Антигенсвязывающий участок, который связывает CLEC12A независимым от гликозилирования образом.
27. Белок, содержащий антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-26.

28. Белок по п. 27, дополнительно содержащий константную область тяжелой цепи антитела.
29. Белок по п. 28, где константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи человеческого IgG.
- 5 30. Белок по п. 29, где константная область тяжелой цепи антитела представляет собой константную область тяжелой цепи человеческого IgG1.
31. Белок по п. 29 или п. 30, где каждая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность, на по меньшей мере 90% идентичную SEQ ID NO:21.
- 10 32. Белок по любому из пп. 29-31, где по меньшей мере одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO: 21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439, пронумерованных в соответствии с
- 15 системой нумерации EU.
33. Белок по любому из пп. 29-32, где по меньшей мере одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO:21, выбранных из Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E,
- 20 K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D и K439E, пронумерованных в соответствии с системой нумерации EU.
- 25 34. Белок по любому из пп. 29-33, где одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи
- 30 антитела содержит одну или несколько мутаций по сравнению с SEQ ID NO:21 в одном или нескольких положениях, выбранных из Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 и K439, пронумерованных в соответствии с системой нумерации EU.

35. Белок по п. 34, где одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замены K360E и K409W по сравнению с SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замены Q347R, D399V и F405T по сравнению с SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации EU.

36. Белок по п. 34 или п. 35, где одна полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену Y349C по сравнению с SEQ ID NO:21; и другая полипептидная цепь константной области тяжелой цепи антитела содержит замену S354C по сравнению с SEQ ID NO:21, пронумерованные в соответствии с системой нумерации EU.

37. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий белок по любому из пп. 27-36 и фрагмент, представляющий собой лекарственное средство.

38. Конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 37, где фрагмент, представляющий собой лекарственное средство, выбран из группы, состоящей из ауристатина, N-ацетил-γ-калихеамицина, майтанзиноида, пирролобензодиазепина и SN-38.

39. Иммуноцитокин, содержащий антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-26 и цитокин.

40. Иммуноцитокин по п. 39, где цитокин выбран из группы, состоящей из IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF и IFNα.

41. Биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки, содержащий антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-26 и антигенсвязывающий участок, который связывает CD3.

42. Химерный антигенный рецептор (CAR), содержащий:

- (a) антигенсвязывающий участок по любому из пп. 1-26;
- (b) трансмембранный домен; и
- (c) внутриклеточный сигнальный домен.

43. CAR по п. 42, где трансмембранный домен выбран из трансмембранных областей альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CLEC12A, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD152 и CD154.

44. CAR по п. 42 или п. 43, где внутриклеточный сигнальный домен предусматривает первичный сигнальный домен, предусматривающий функциональный сигнальный домен

CD3-дзета, общую гамма-цепь FcR (FCER1G), Fc-гамма RIIa, FcR-бета (Fc-эпсилон R1b), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-эпсилон, CD79a, CD79b, DAP10 и DAP12.

45. CAR по любому из пп. 42-44, где внутриклеточный сигнальный домен дополнительно содержит костимулирующий сигнальный домен, предусматривающий функциональный сигнальный домен костимулирующего рецептора.
46. CAR по п. 45, где костимулирующий рецептор выбран из группы, состоящей из OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, лиганда, который связывается с CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS и 4-1BB (CD137) или любой их комбинации.
47. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая CAR по любому из пп. 42-46.
48. Вектор экспрессии, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по п. 47.
49. Иммунная эффекторная клетка, содержащая нуклеиновую кислоту по п. 47 или вектор экспрессии по п. 48.
50. Иммунная эффекторная клетка, экспрессирующая CAR по любому из пп. 42-46.
51. Иммунная эффекторная клетка по п. 49 или п. 50, где иммунная эффекторная клетка представляет собой Т-клетку.
52. Иммунная эффекторная клетка по п. 51, где Т-клетка представляет собой CD8⁺ Т-клетку, CD4⁺ Т-клетку или NKT-клетку.
53. Иммунная эффекторная клетка по п. 49 или п. 50, где иммунная эффекторная клетка представляет собой NK-клетку.
54. Фармацевтическая композиция, содержащая белок по любому из пп. 27-36, конъюгат антитело-лекарственное средство по п. 37 или п. 38, иммуноцитокин по п. 39 или п. 40, биспецифический активатор, привлекающий Т-клетки, по п. 41 или иммунную эффекторную клетку по любому из пп. 49-53; и фармацевтически приемлемый носитель.
55. Способ лечения рака, при этом способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества белка по любому из пп. 27-36, конъюгата антитело-лекарственное средство по п. 37 или п. 38, иммуноцитокина по п. 39 или п. 40, биспецифического активатора, привлекающего Т-клетки, по п. 41, иммунной эффекторной клетки по любому из пп. 49-53 или фармацевтической композиции по п. 54.
56. Способ по п. 55, где рак представляет собой гематологическое злокачественное новообразование.
57. Способ по п. 56, где гематологическое злокачественное новообразование выбрано из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза (AML), миелодиспластического синдрома (MDS), острого лимфобластного лейкоза (ALL), миелопролиферативных

новообразований (MPN), лимфомы, видов неходжкинской лимфомы и классической лимфомы Ходжкина.

58. Способ по п. 57, где AML выбран из недифференцированного острого миелобластного лейкоза, острого миелобластного лейкоза с минимальным созреванием, острого миелобластного лейкоза с созреванием, острого промиелоцитарного лейкоза (APL), острого миеломоноцитарного лейкоза, острого миеломоноцитарного лейкоза с эозинофилией, острого моноцитарного лейкоза, острого эритроидного лейкоза, острого мегакариобластного лейкоза (AMKL), острого базофильного лейкоза, острого панмиелоэоза с фиброзом и новообразования из бластных плазмацитоидных дендритных клеток (BPDCN).

59. Способ по п. 57 или п. 58, где AML характеризуется экспрессией CLEC12A на лейкозных стволовых клетках (LSC) AML.

60. Способ по п. 59, где LSC дополнительно экспрессируют мембранный маркер, выбранный из CD34, CD38, CD123, TIM3, CD25, CD32 и CD96.

61. Способ по любому из пп. 57-60, где AML представлен минимальной остаточной болезнью (MRD).

62. Способ по п. 61, где MRD характеризуется наличием или отсутствием мутации, выбранной из мутации *FLT3-ITD* (внутренних tandemных дупликаций (ITD) в гене (Fms-подобной тирозинкиназы 3)), *NPM1* (нуклеофосмина 1), *DNMT3A* (гена ДНК-метилтрансферазы *DNMT3A*) и *IDH* (изоцитратдегидрогеназы 1 и 2 (IDH1 и IDH2)).

63. Способ по п. 57, где MDS выбран из MDS с мультилинейной дисплазией (MDS-MLD), MDS с однолинейной дисплазией (MDS-SLD), MDS с кольцевыми сидеробластами (MDS-RS), MDS с избытком бластов (MDS-EB), MDS с изолированной del(5q) и неклассифицированного MDS (MDS-U).

64. Способ по п. 57, где MDS представляет собой первичный MDS или вторичный MDS.

65. Способ по п. 57, где ALL выбран из В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (B-ALL) и Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза (T-ALL).

66. Способ по п. 57, где MPN выбрано из истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии (ET) и миелофиброза.

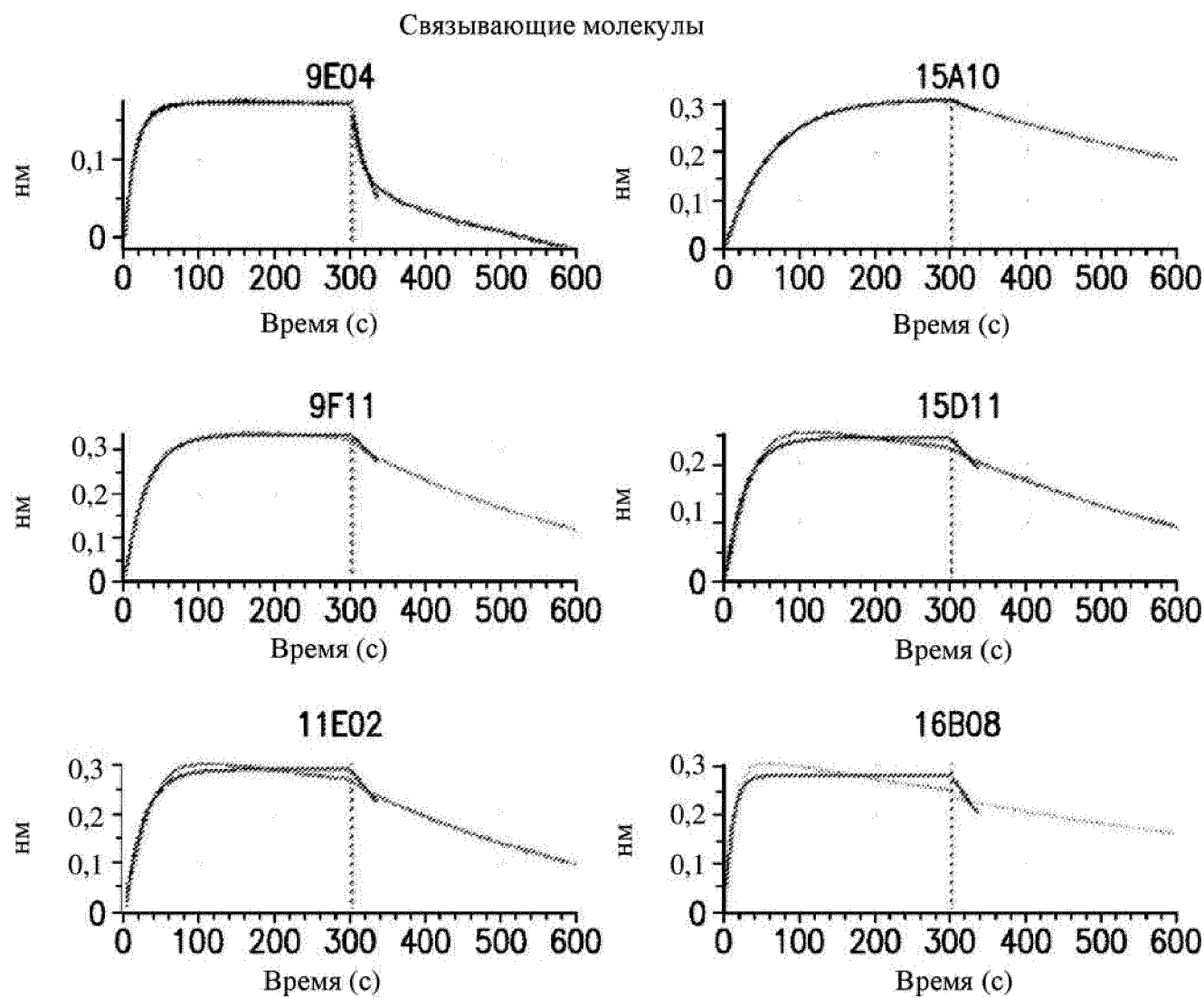
67. Способ по п. 57, где неходжкинская лимфома выбрана из В-клеточной лимфомы и Т-клеточной лимфомы.

68. Способ по п. 57, где лимфома выбрана из хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), лимфобластной лимфомы (LPL), диффузной В-крупноклеточной лимфомы

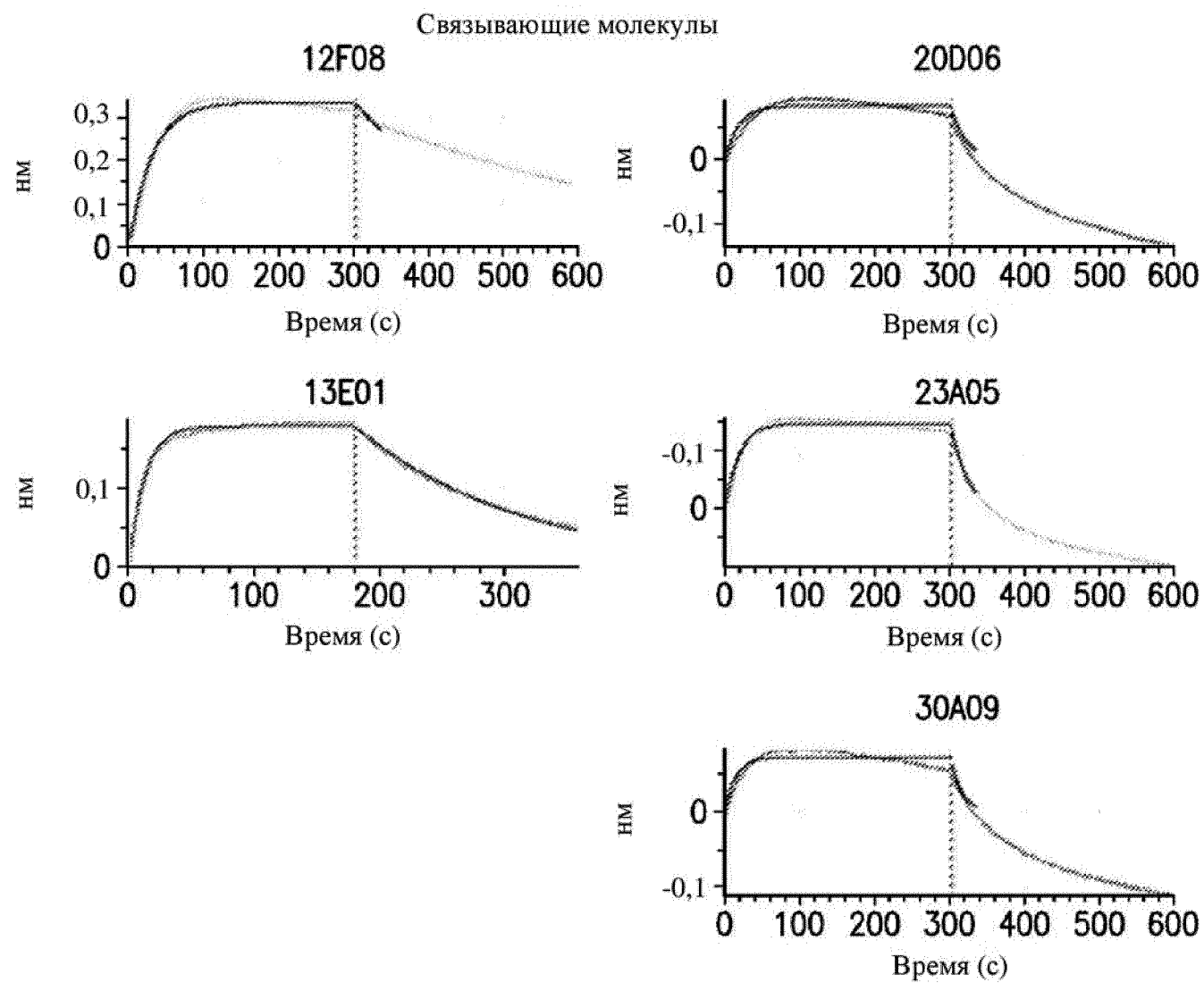
(DLBCL), лимфомы Беркитта (BL), первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомы (PMBL), фолликулярной лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, волосатоклеточного лейкоза, плазмоклеточной миеломы (PCM) или множественной миеломы (MM), новообразований из зрелых Т-/NK-клеток и гистиоцитарных

5 новообразований.

69. Способ по любому из пп. 55-68, где рак характеризуется экспрессией CLEC12A.

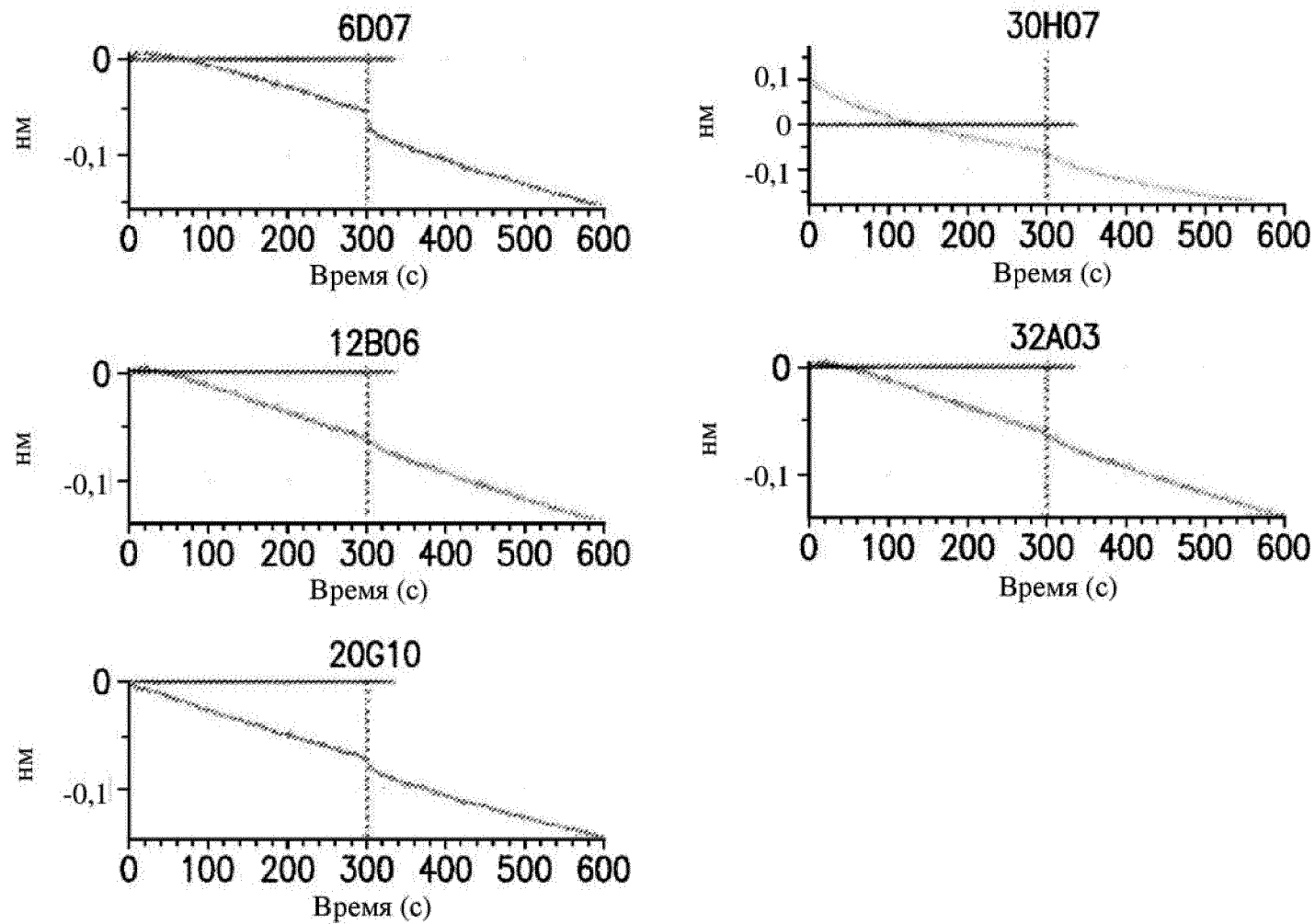


Фиг. 1

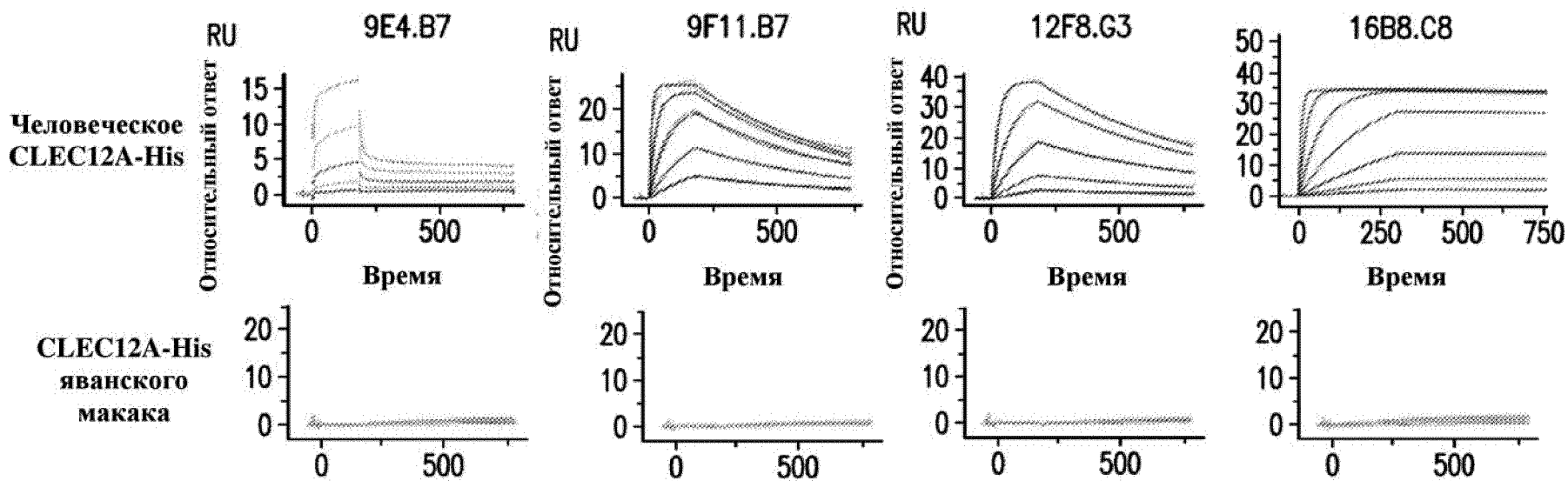


Фиг. 1. Продолжение

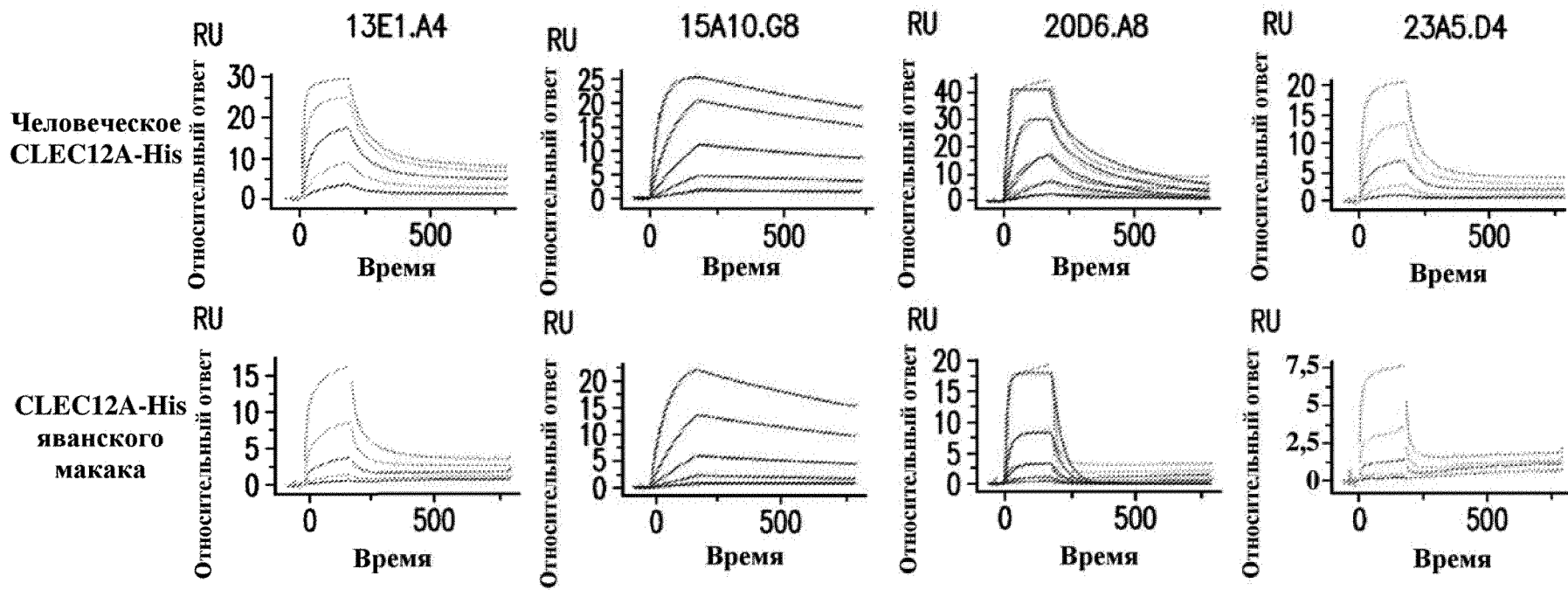
Несвязывающие молекулы



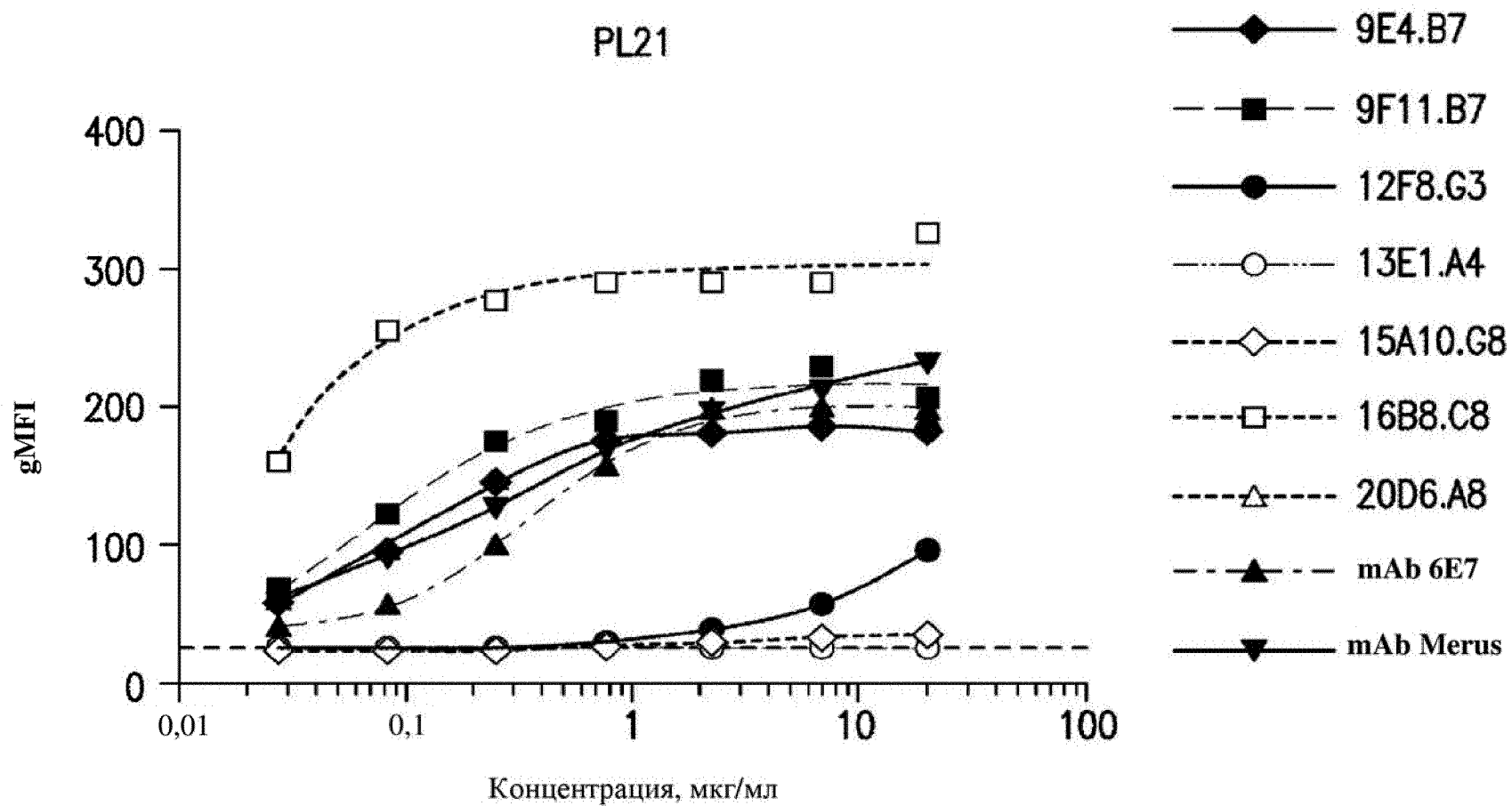
Фиг. 1. Продолжение



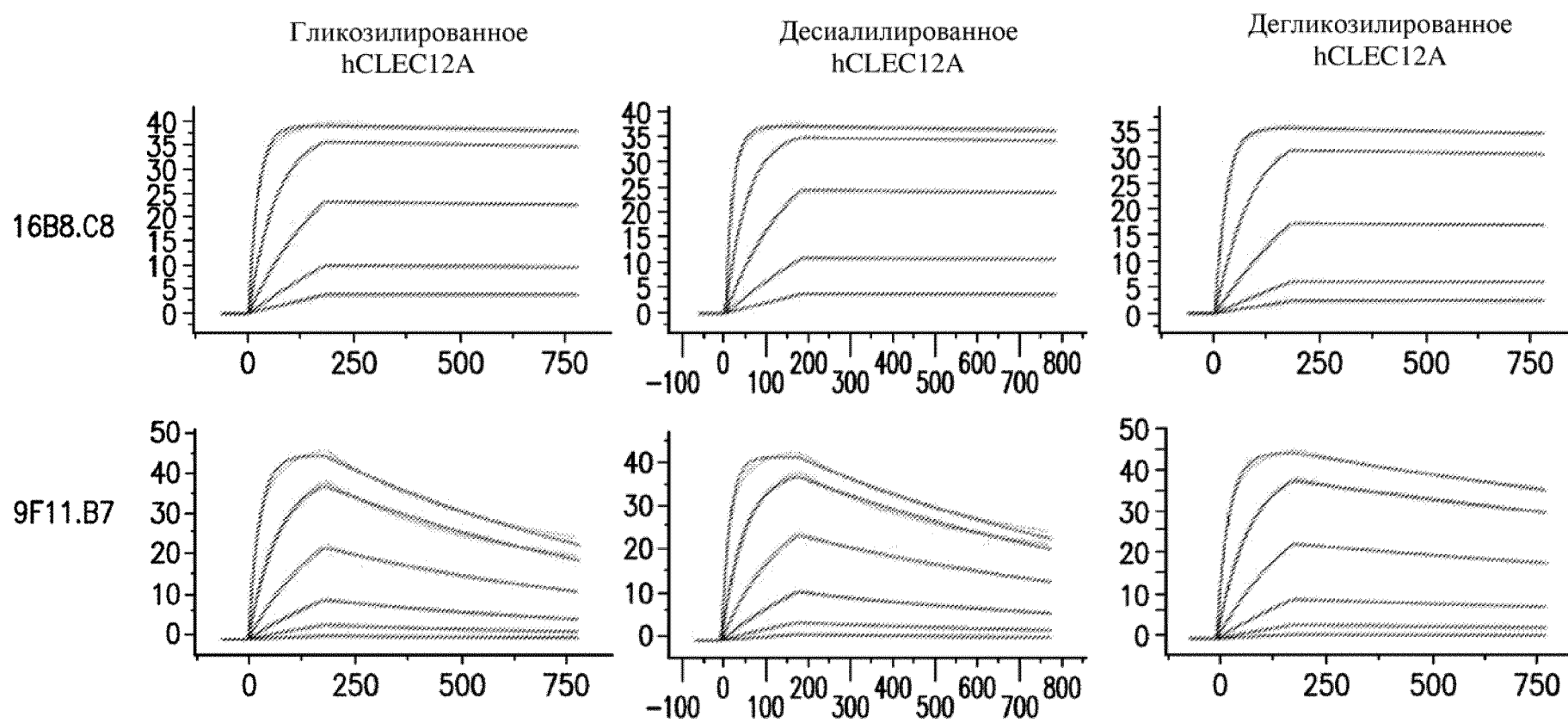
Фиг. 2А



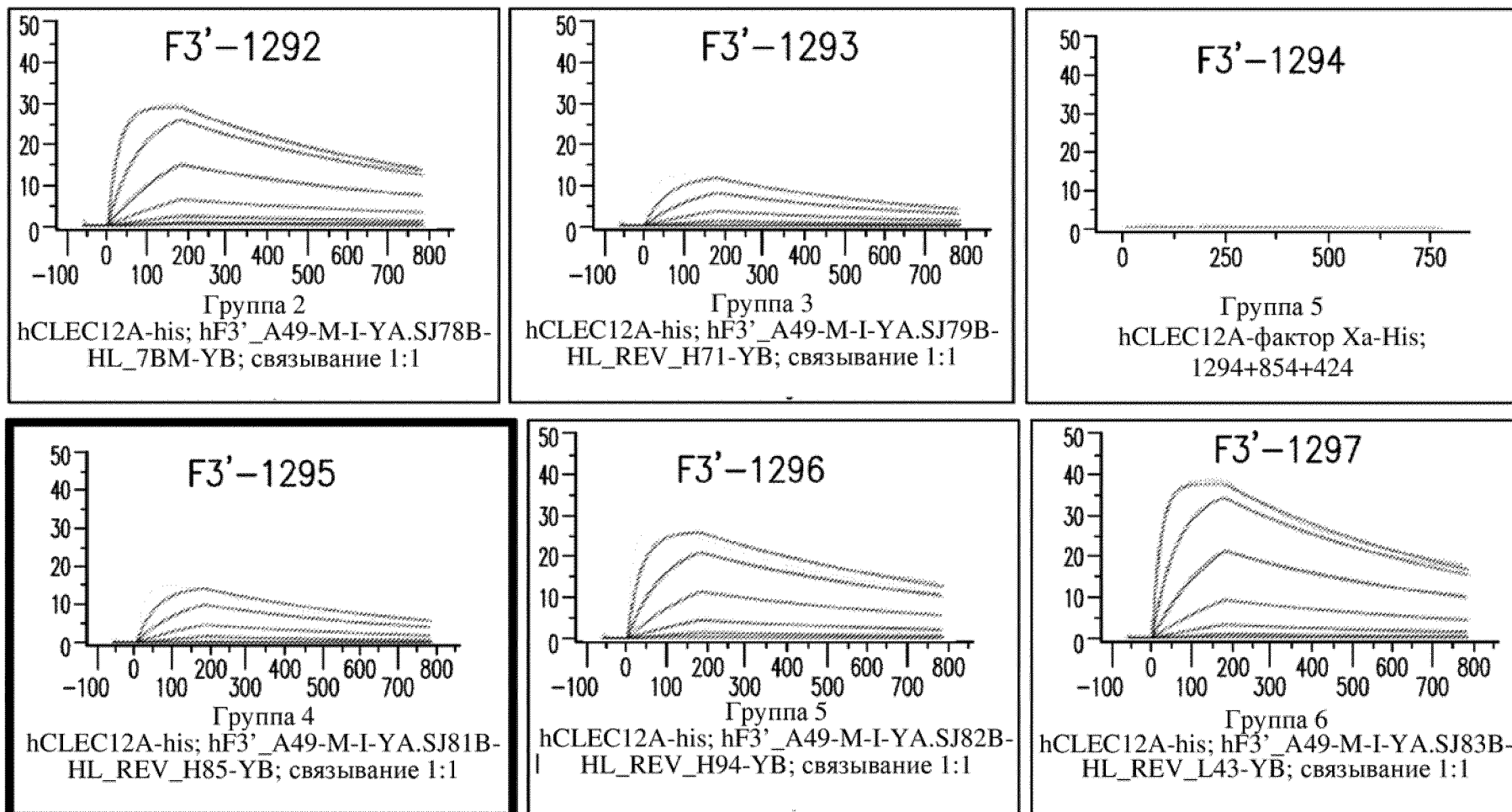
Фиг. 2В



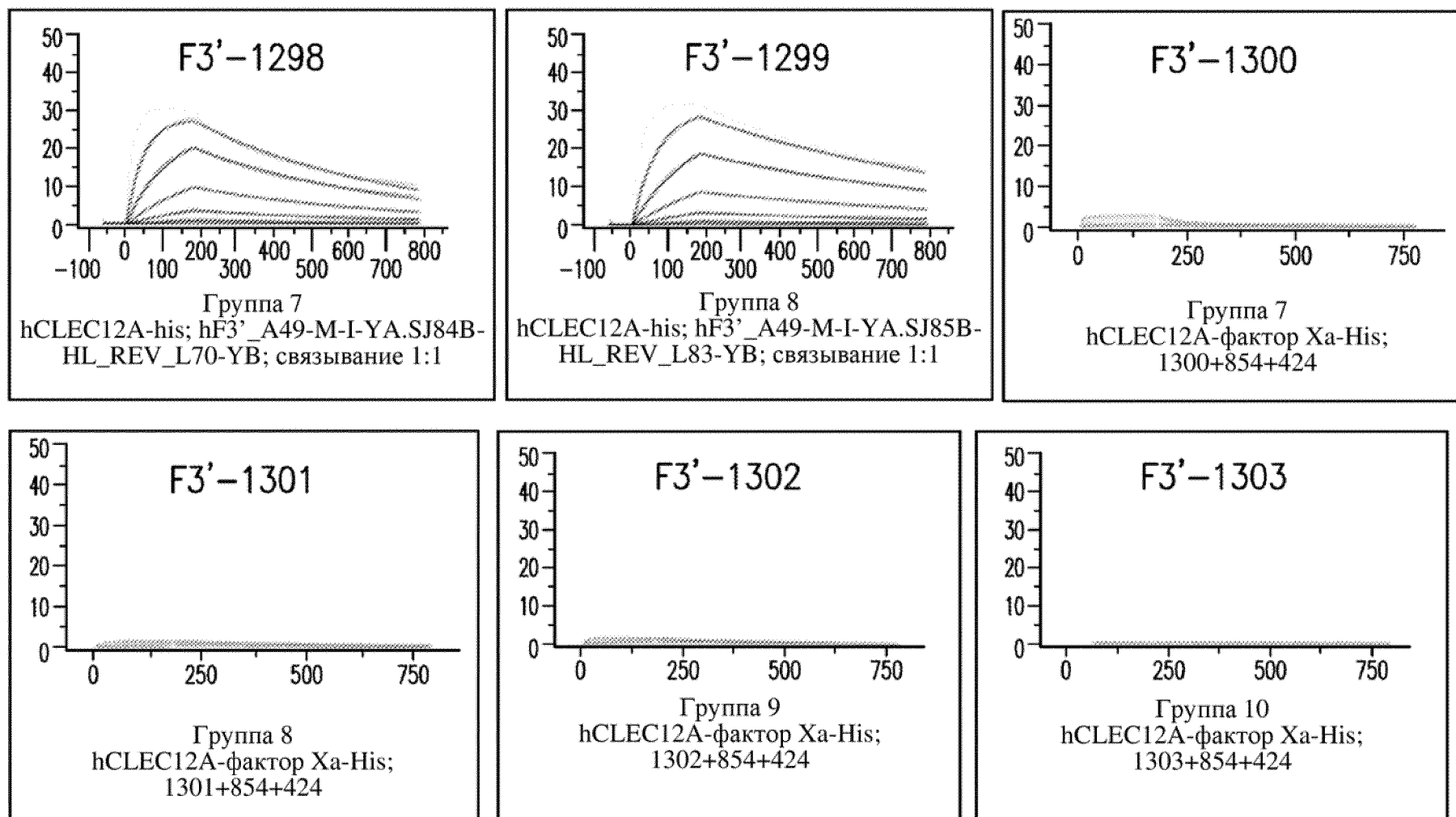
Фиг. 3



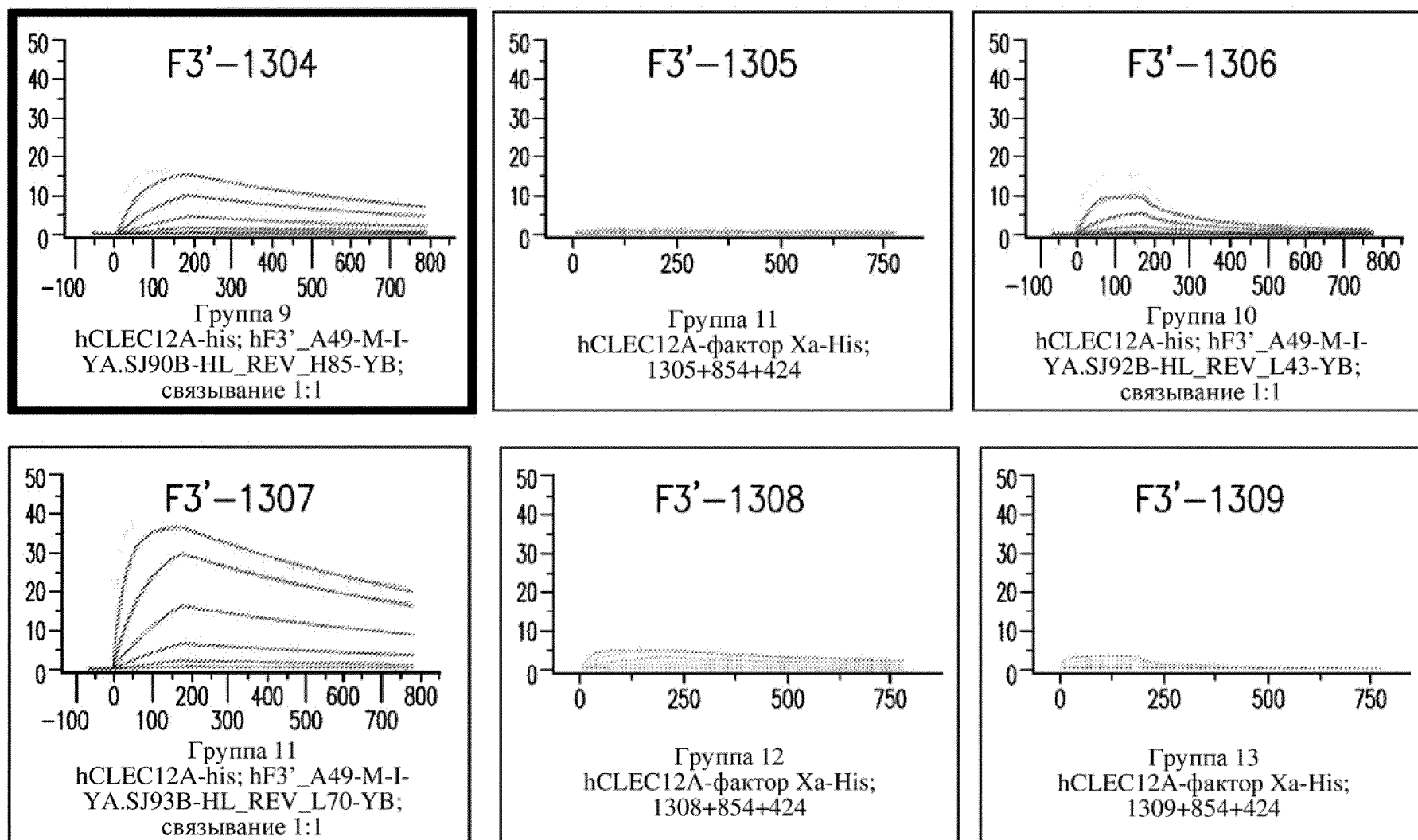
Фиг. 4



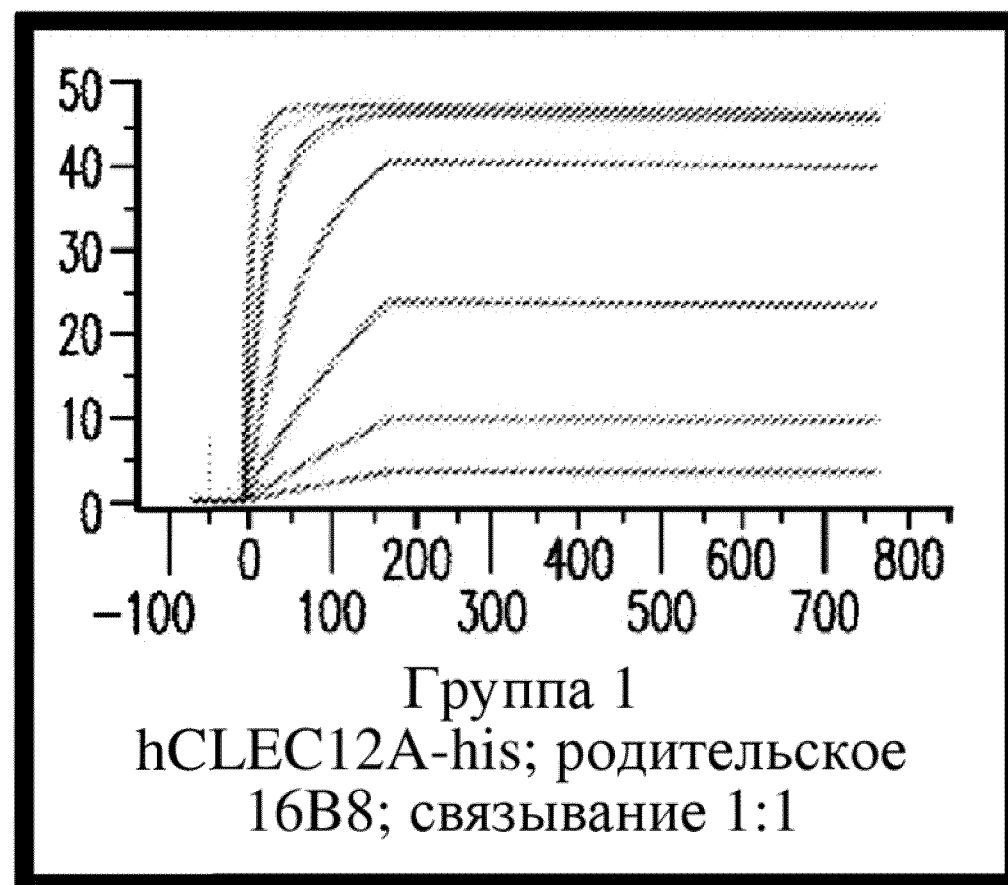
Фиг. 5



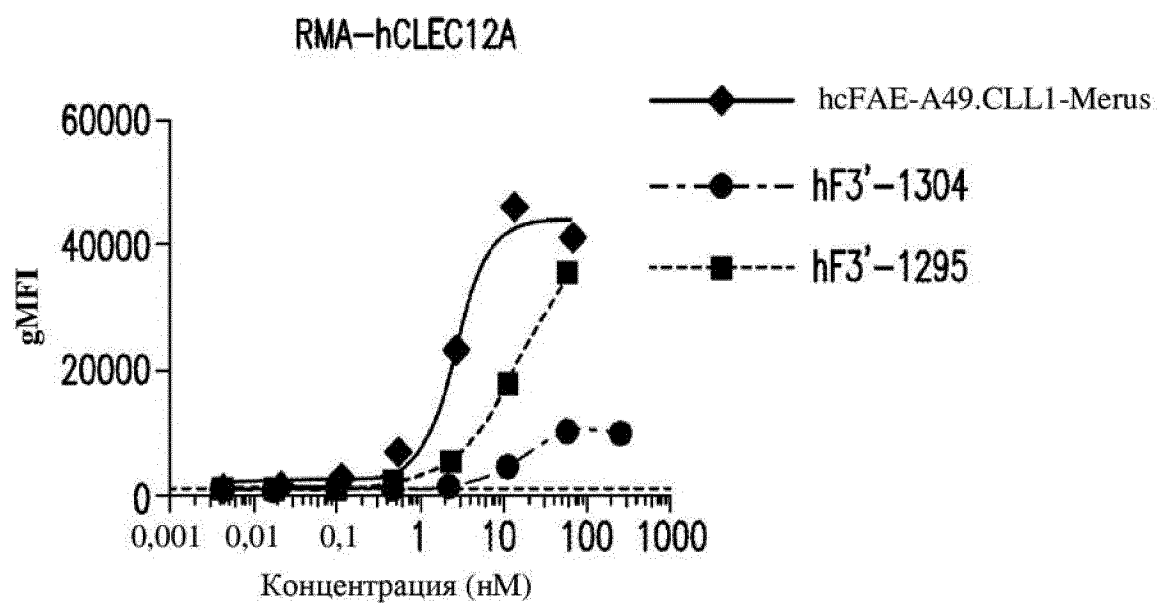
Фиг. 5. Продолжение



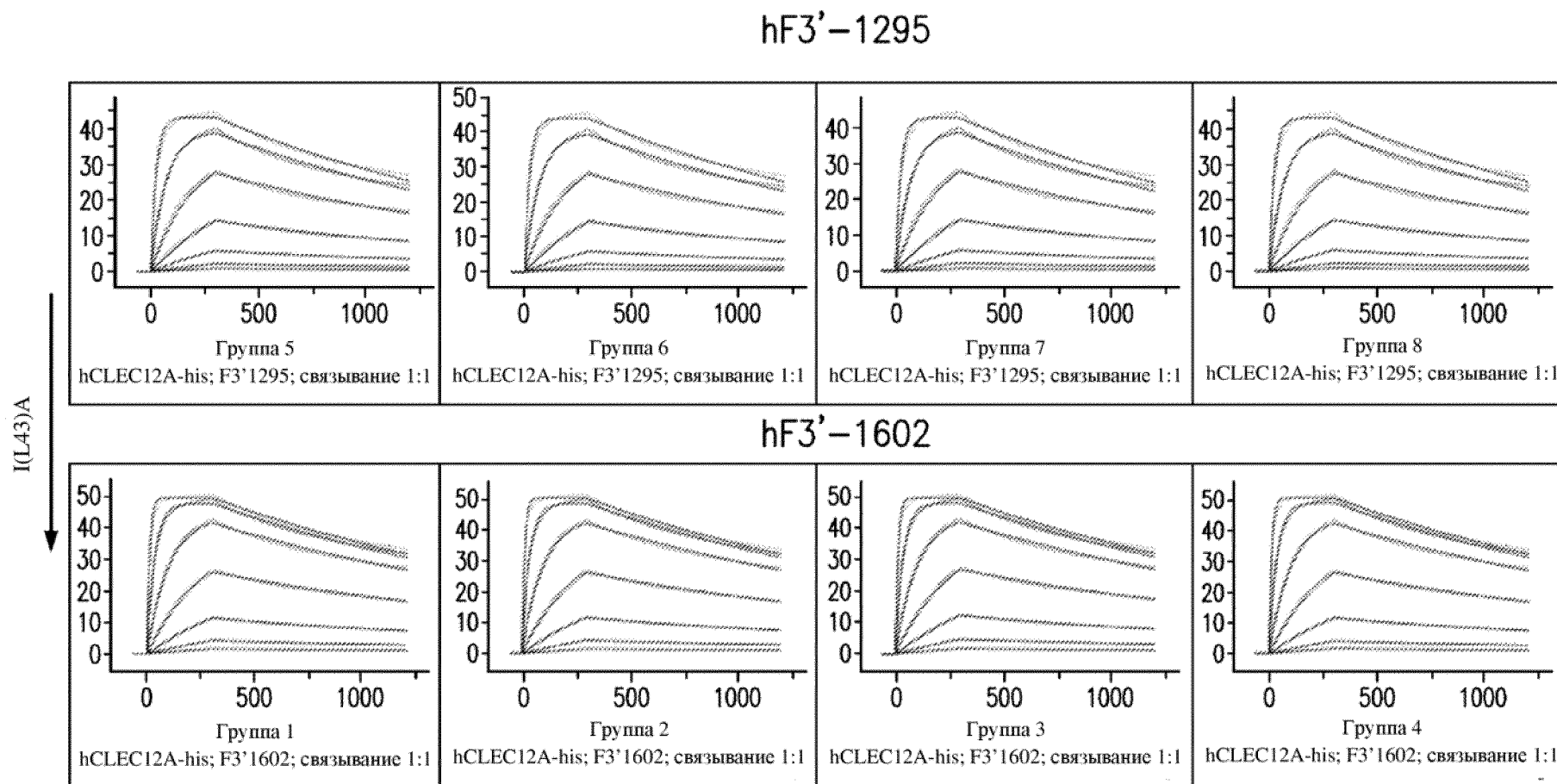
Фиг. 5. Продолжение

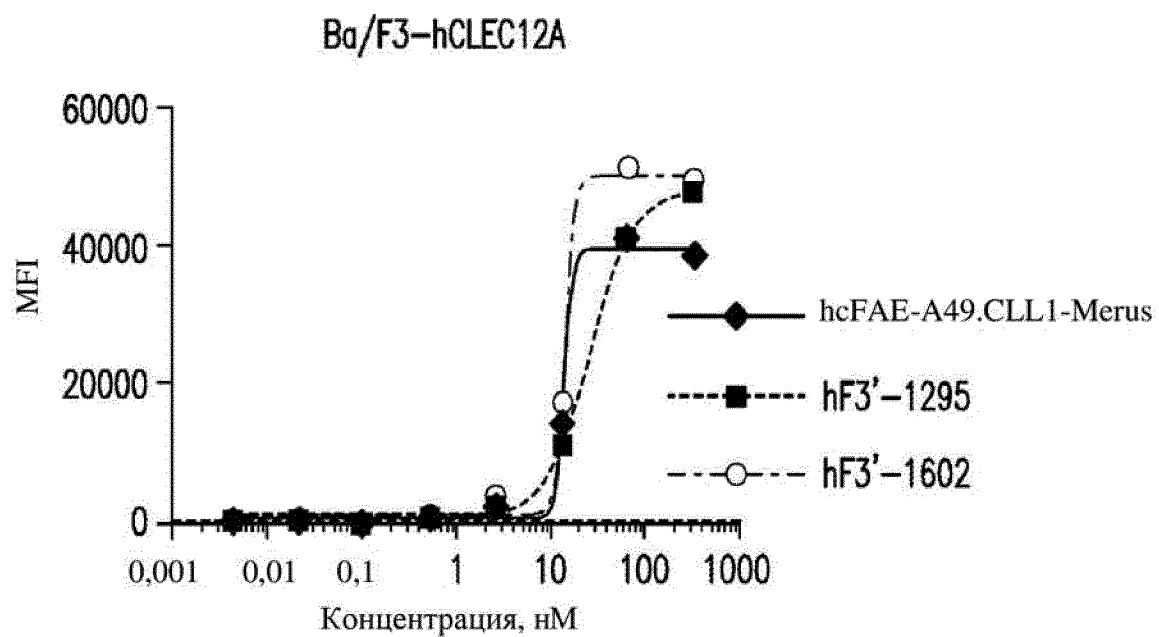


Фиг. 5. Продолжение

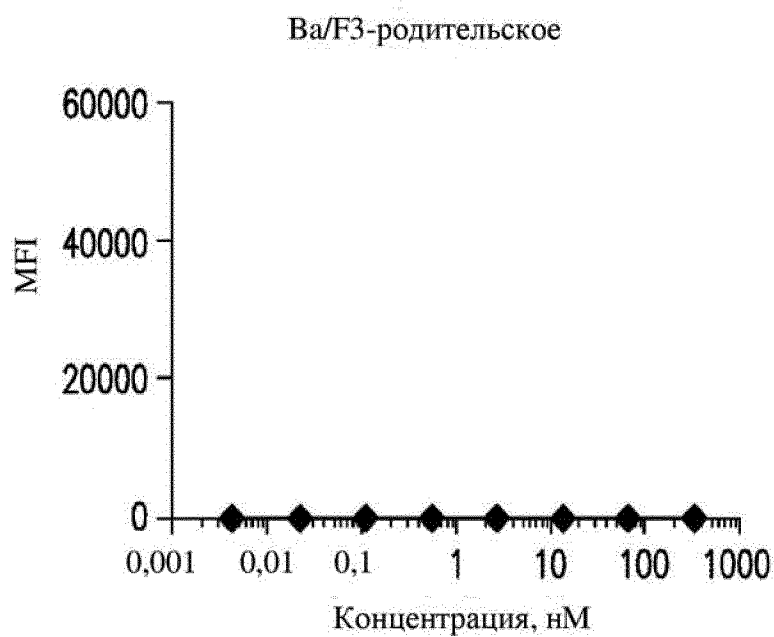


Фиг. 6

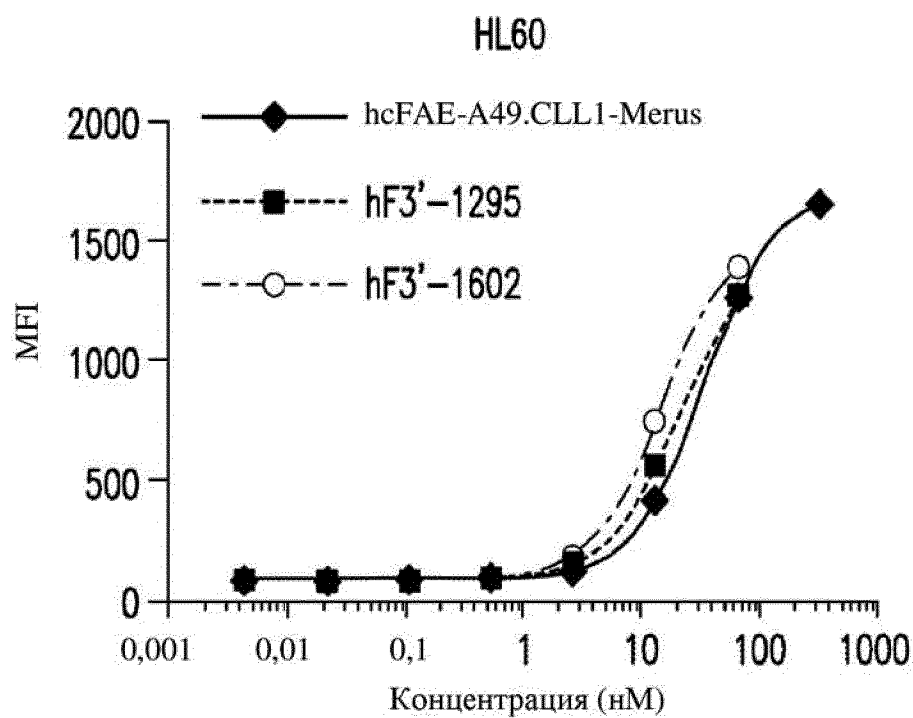




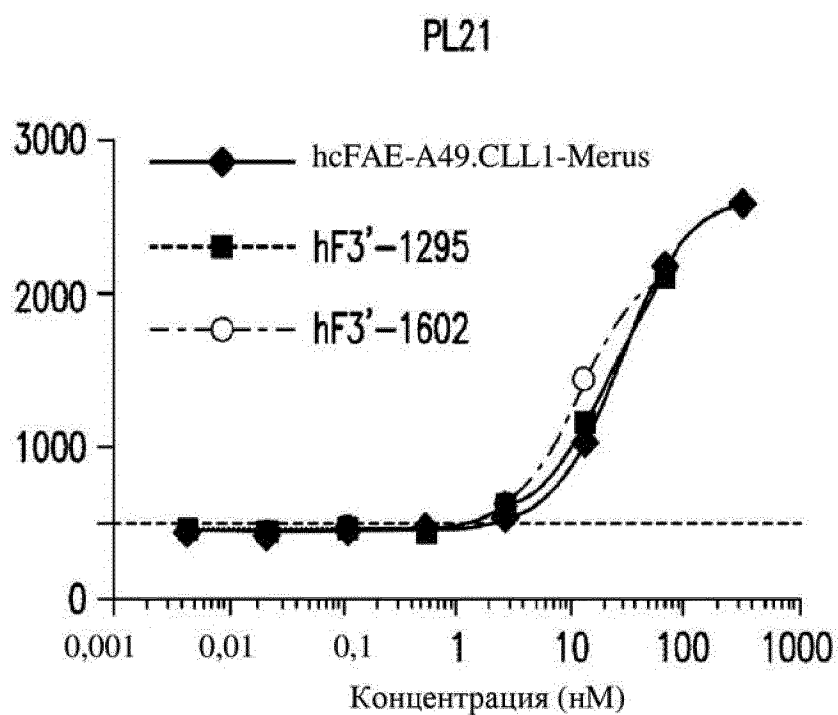
Фиг. 8А



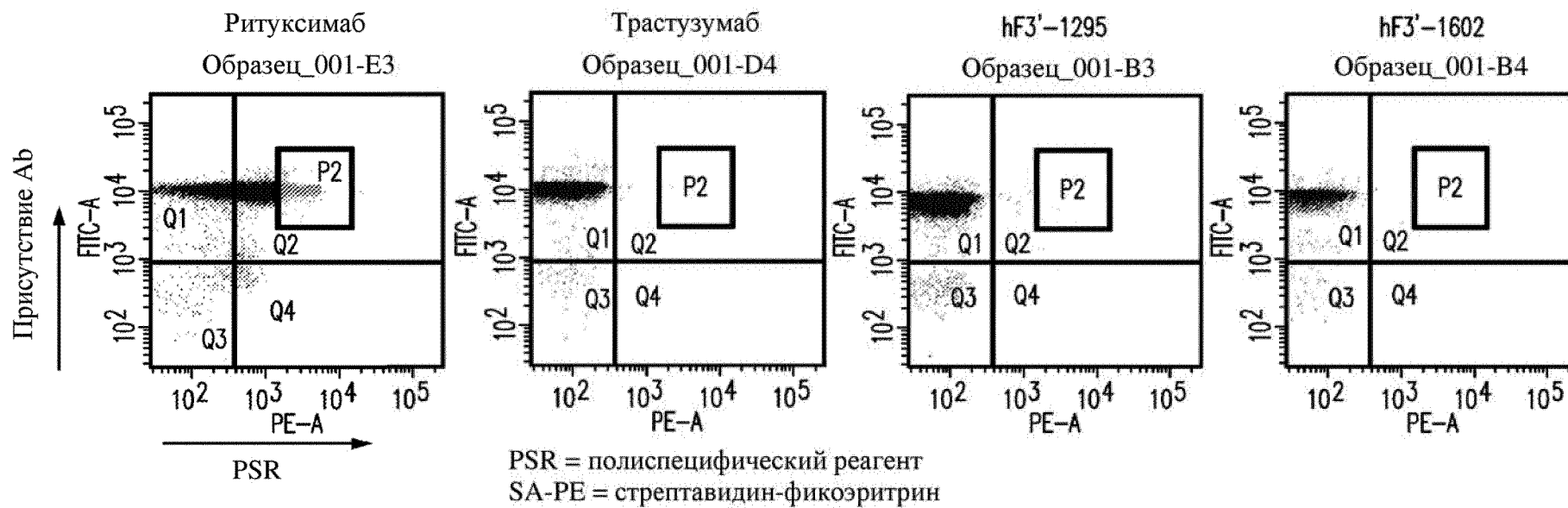
Фиг. 8В



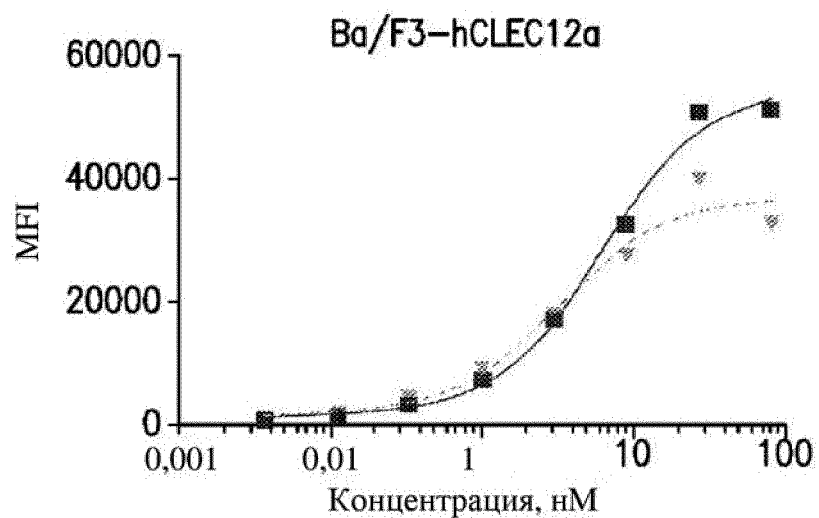
Фиг. 8С



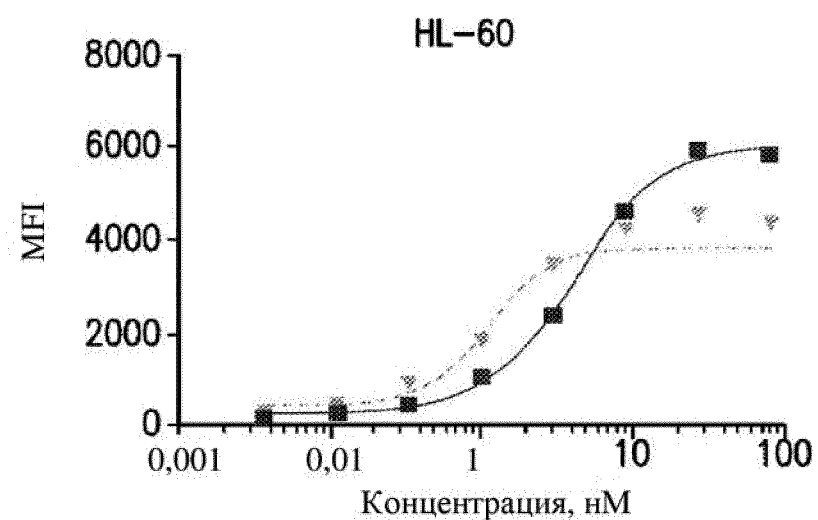
Фиг. 8D



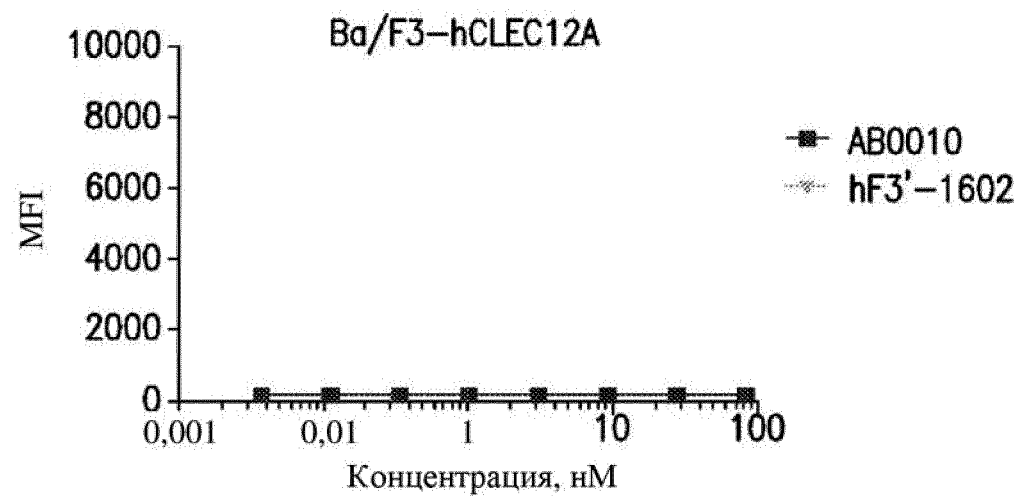
Фиг. 9



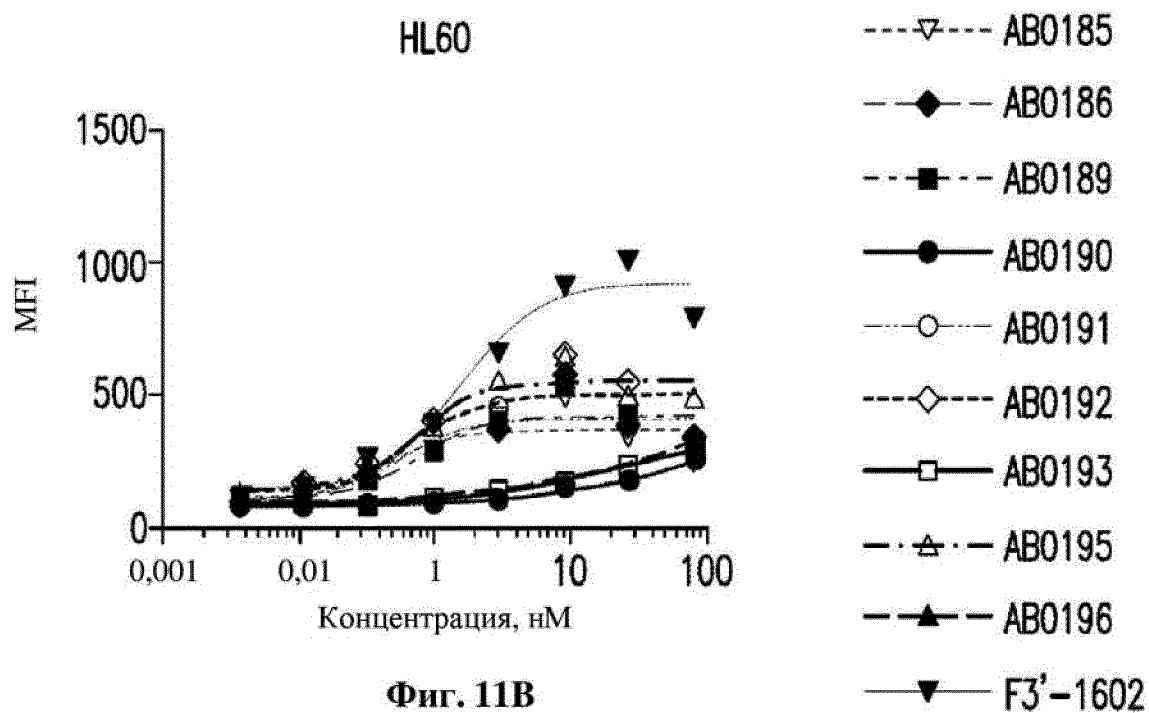
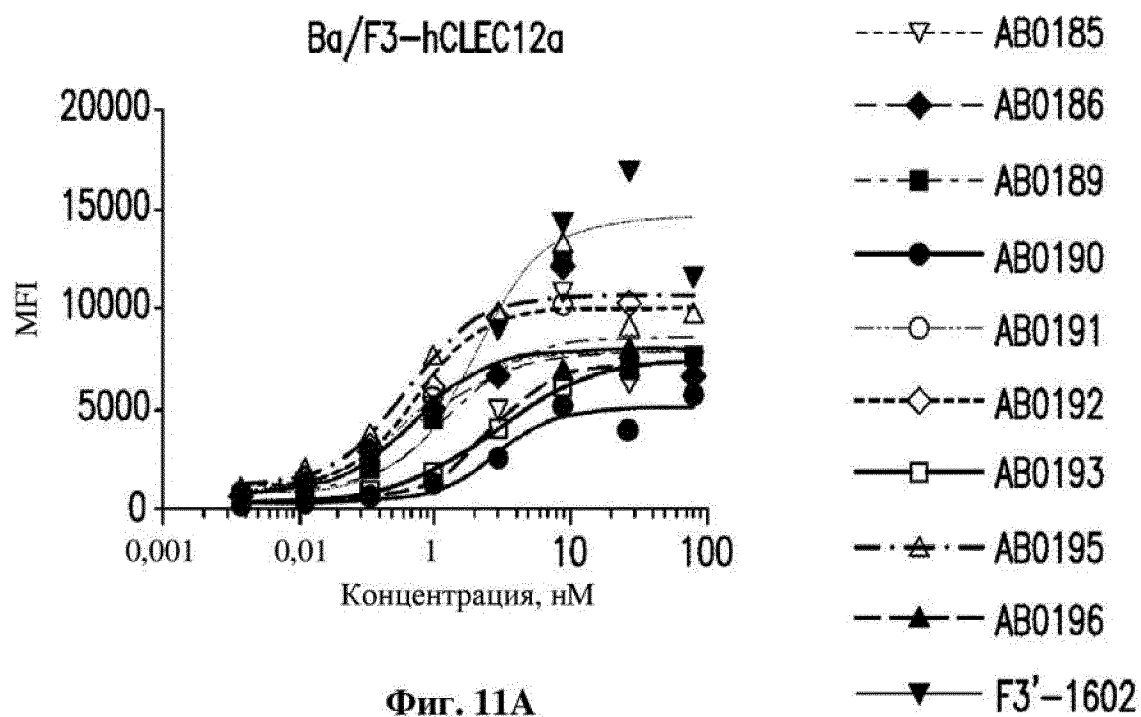
Фиг. 10А

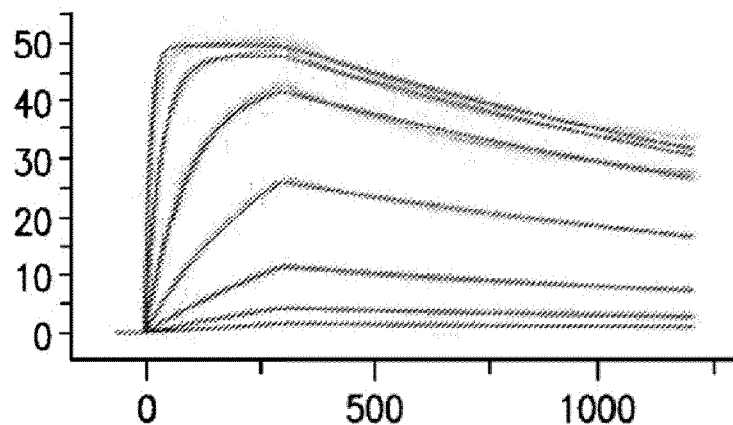


Фиг. 10В

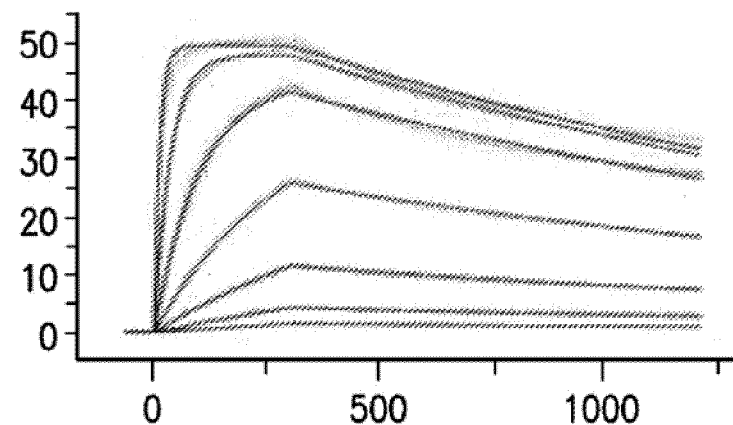


Фиг. 10С

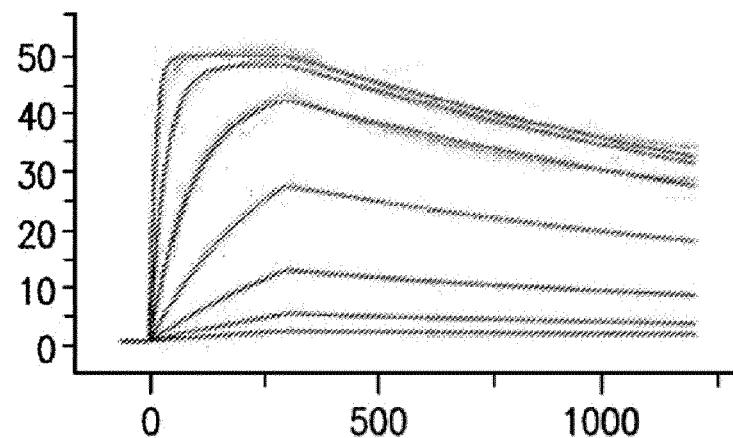




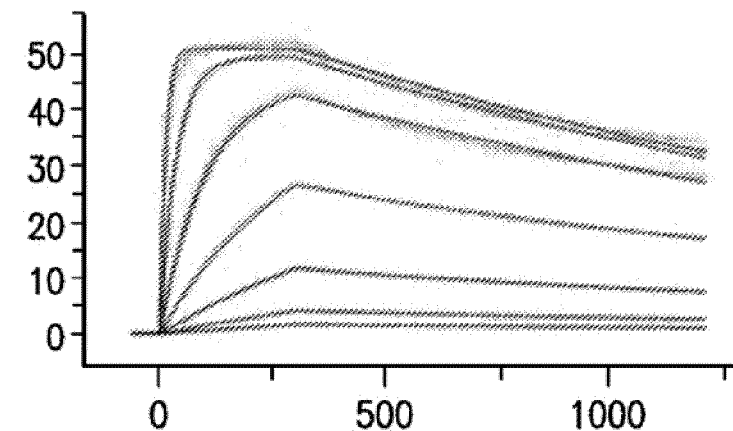
Группа 1
hCLEC12A-his; F3'1602; связывание 1:1



Группа 2
hCLEC12A-his; F3'1602; связывание 1:1



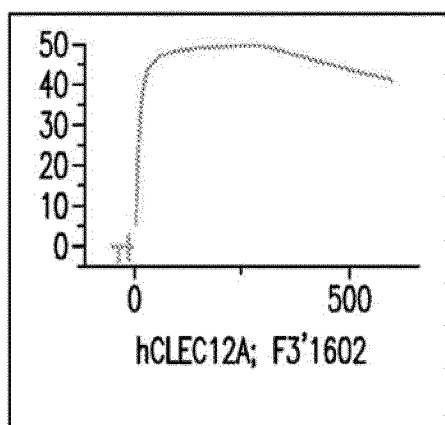
Группа 3
hCLEC12A-his; F3'1602; связывание 1:1



Группа 4
hCLEC12A-his; F3'1602; связывание 1:1

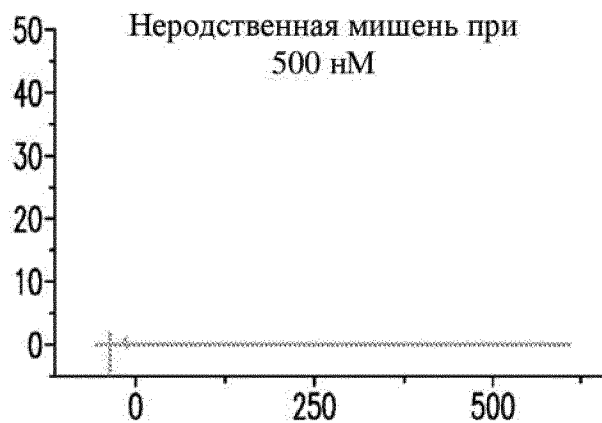
Фиг. 12

hCLEC12A при 100 нМ



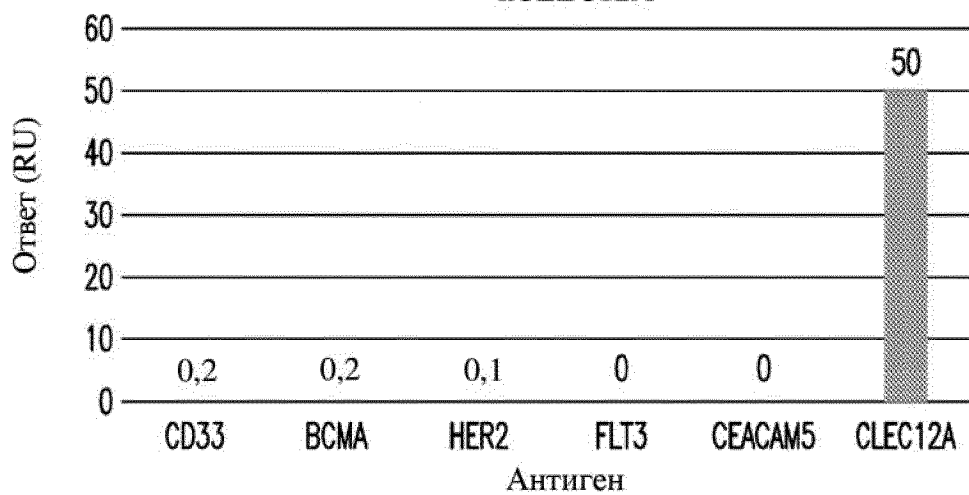
Фиг. 13А

Неродственная мишень при 500 нМ

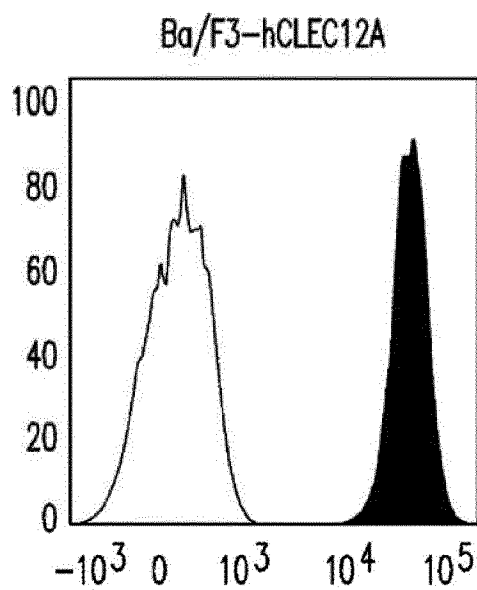


Фиг. 13В

Ответ со специфическим связыванием антигена в отношении hCLEC12A

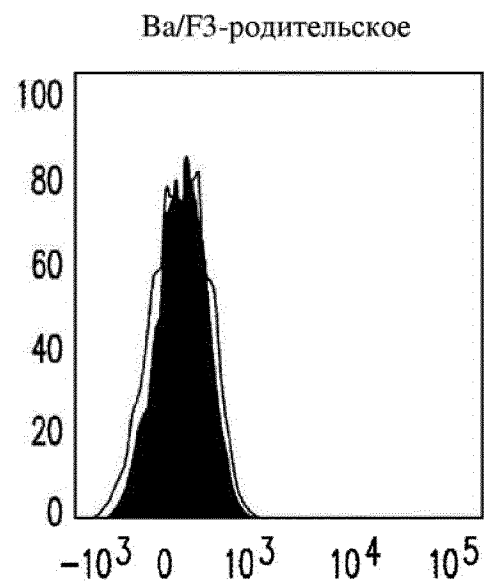


Фиг. 13С

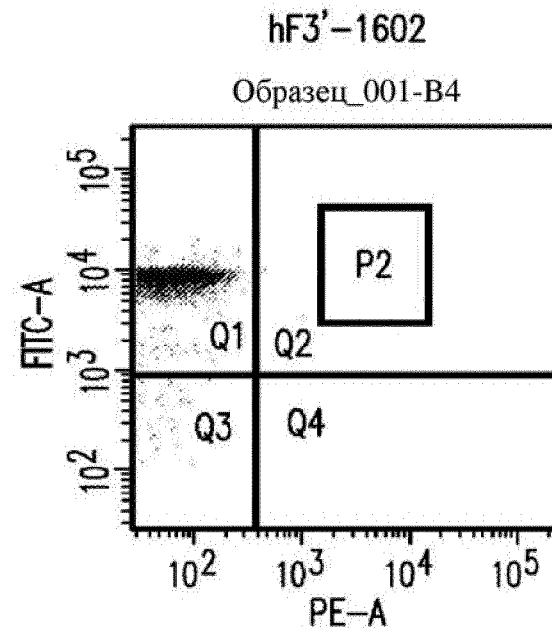
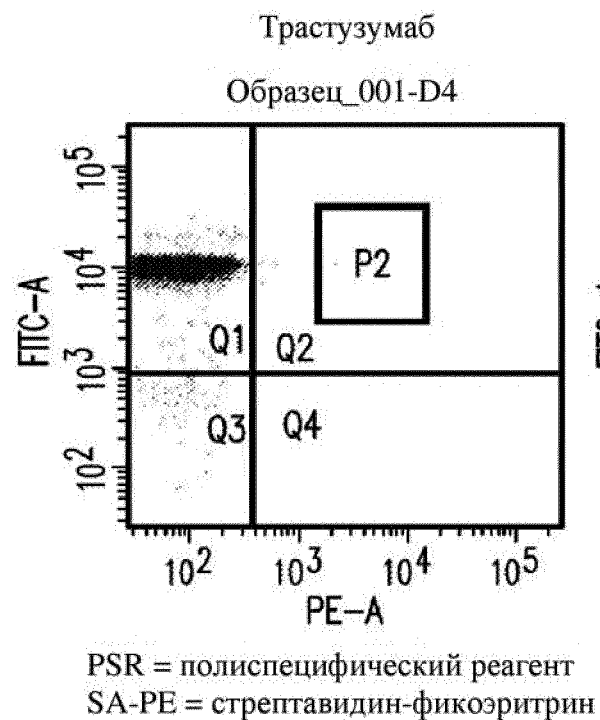
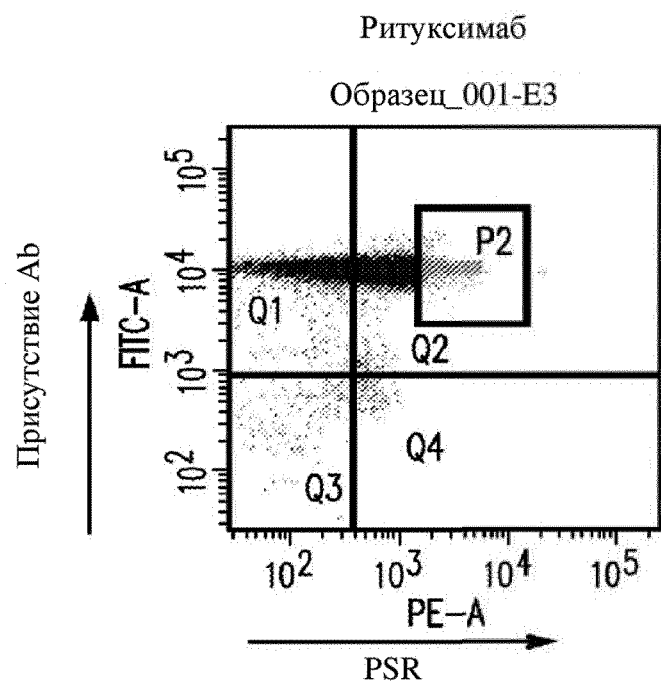


Без заливки = изотип hlgG1
Заливка черным = hF3'-1602

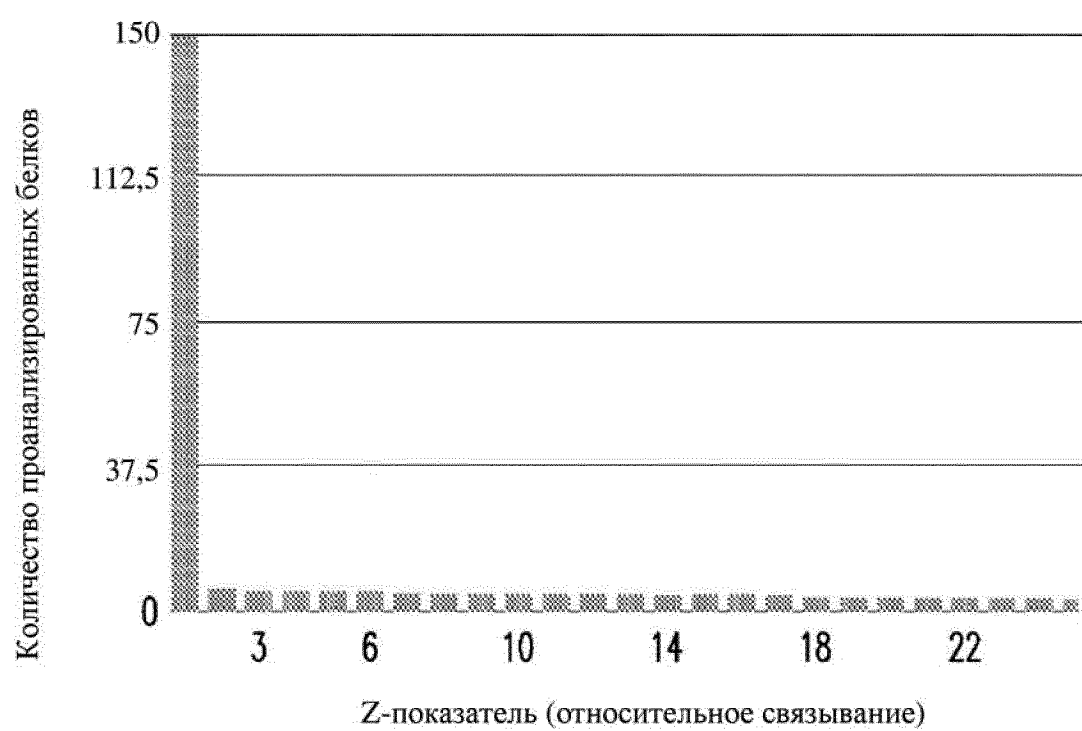
Фиг. 13D



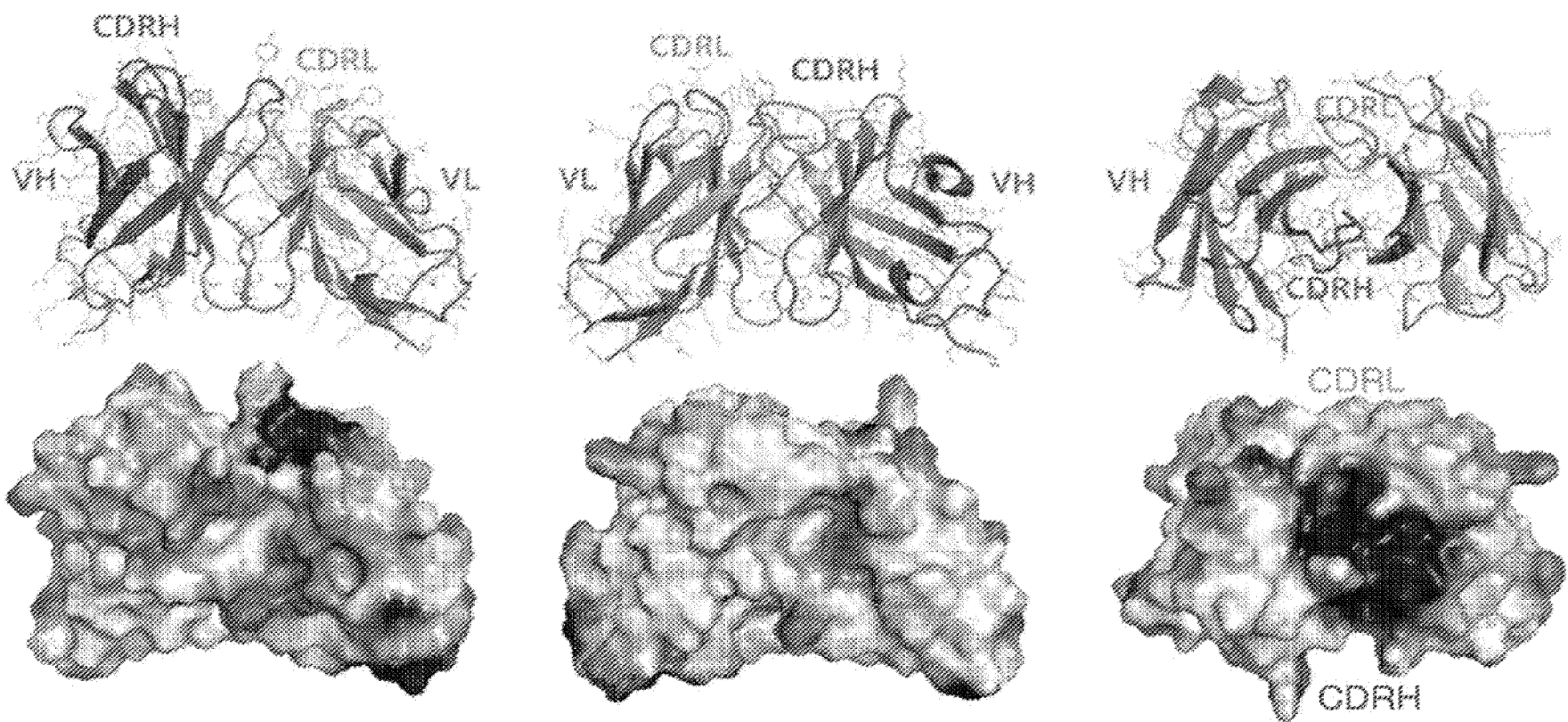
Фиг. 13E



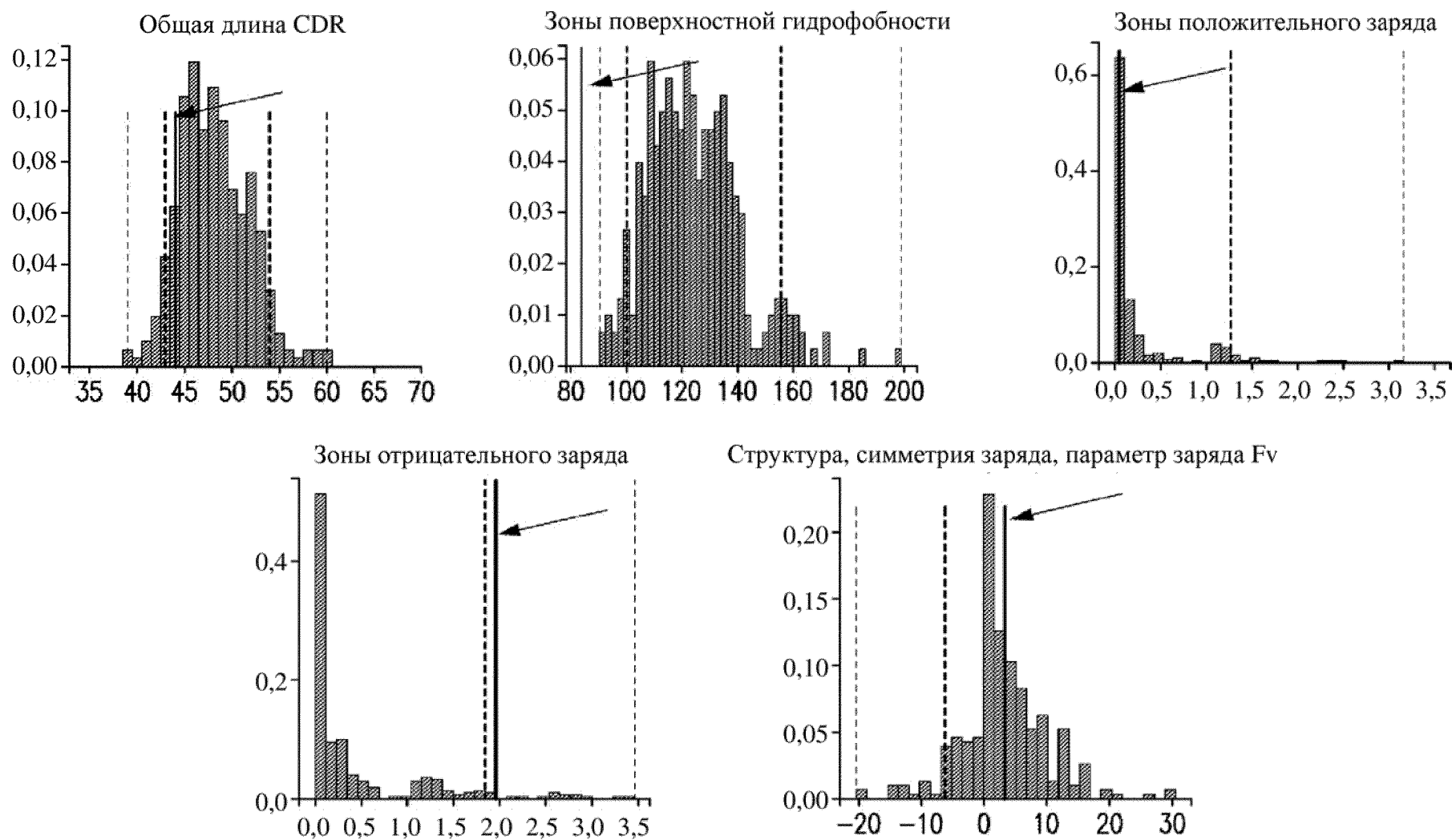
Фиг. 14



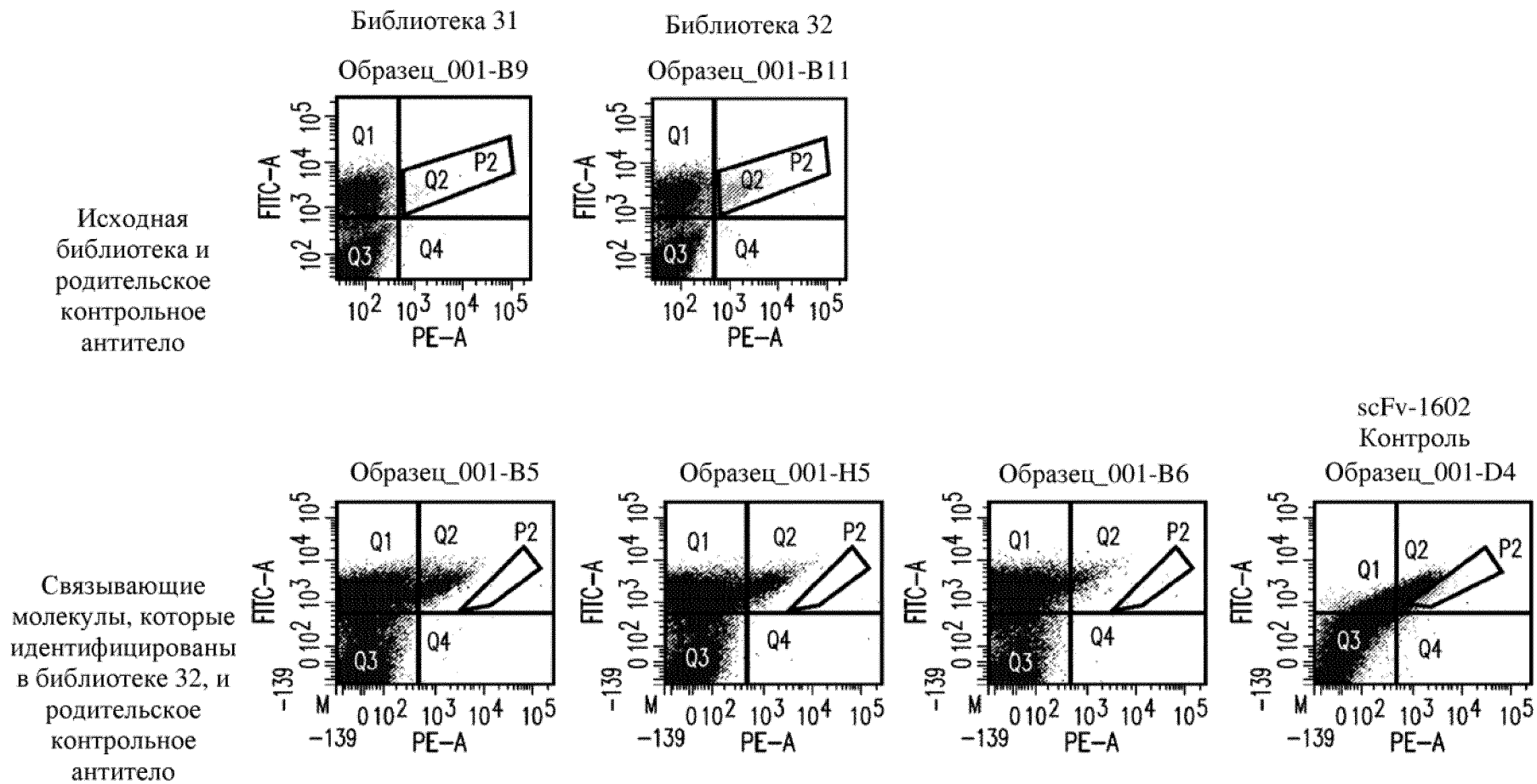
Фиг. 15



Фиг. 16

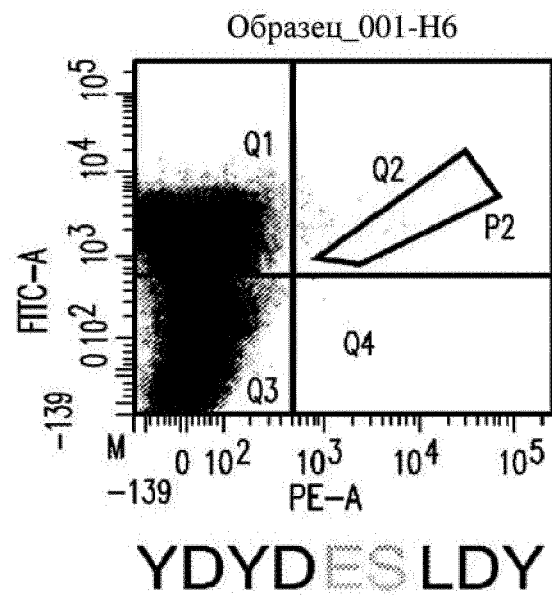
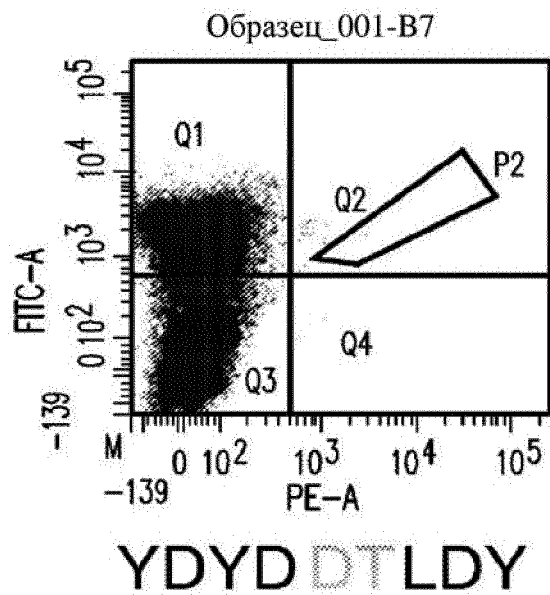
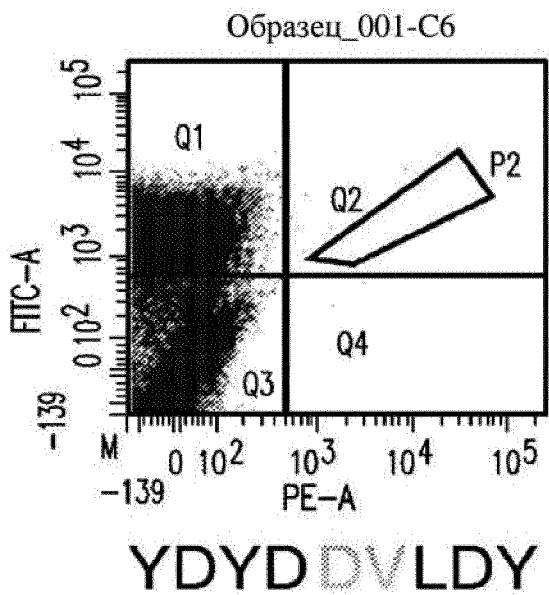


Фиг. 17



Фиг. 18

Несвязывающие молекулы



Фиг. 18. Продолжение