

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202293165** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.02.21

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

(22) Дата подачи заявки
2021.05.03

(54) **АНТИТЕЛА ПРОТИВ ДЕКТИНА-2**

(31) **63/018,952**

(32) **2020.05.01**

(33) **US**

(86) **PCT/US2021/030466**

(87) **WO 2021/222894 2021.11.04**

(71) Заявитель:
**БОЛТ БАЙОТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)**

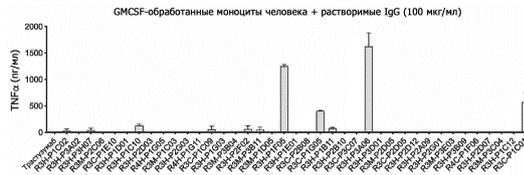
(72) Изобретатель:

**Экерман Шелли Эрин, Дорнан
Дэвид, Хеннинг Карла А., Кенкель
Джастин А. (US)**

(74) Представитель:

Фелицына С.Б. (RU)

(57) Изобретение относится к агентам, связывающим лектин 2 С-типа (дектин-2), ассоциированным с дендритными клетками, нуклеиновым кислотам, содержащим связывающие агенты по изобретению, векторам и клеткам, содержащим нуклеиновые кислоты по изобретению, и их композициям. Изобретение также относится к способам получения связывающих агентов по изобретению, способам лечения заболевания, расстройства или состояния у млекопитающего и к способам стимуляции антигенпрезентирующей клетки.



202293165
A1

202293165
A1

АНТИТЕЛА ПРОТИВ ДЕКТИНА-2

Перекрестная ссылка на предыдущие заявки

Настоящая заявка заявляет приоритет предварительной заявки на патент США № 63/018952, поданной 1 мая 2020 г., которая полностью включена в настоящий документ ссылкой.

Включение ссылкой материалов, представленных в электронном виде

В настоящий документ ссылкой полностью включен машиночитаемый список последовательностей нуклеотидов/аминокислот, представленный одновременно с настоящим документом и обозначенный следующим образом: Один файл ASCII (текстовый) размером 222 025 байтов с названием «753797_ST25.txt», созданный 30 апреля 2021 г.

Предшествующий уровень техники

Дектин-2 (ассоциированный с дендритными клетками лектин 2 С-типа, CLEC6A, CLEC4N, CLECSF10) принадлежит к семейству рецепторов лектина С-типа. Считается, что дектин-2 в первую очередь играет роль в противогрибковом иммунитете за счет связывания с углеводными лигандами, такими как маннаны, которые обычно находятся на поверхности грибковых клеток. Дектин-2 экспрессируется в основном клетками миелоидного происхождения, включая моноциты, макрофаги и дендритные клетки. Активация пути дектина-2 может вызывать провоспалительный иммунный ответ в этих клетках, включая активацию пути NF-κB и последующее продуцирование провоспалительных цитокинов, а также повышенную фагоцитарную активность. Провоспалительный иммунный ответ, вызванный активацией дектина-2 на экспрессирующих дектин-2 миелоидных клетках в микроокружении опухоли, может в конечном итоге привести к противоопухолевому иммунному ответу. Соответственно, агенты, которые связываются с дектином-2, включая те, которые действуют как агонисты дектина-2, могут быть полезны при лечении рака.

По-прежнему существует потребность в дополнительных способах профилактики и лечения рака, учитывая, что большинство онкологических пациентов в конечном итоге терпят неудачу при стандартной терапии. Агенты, связывающие дектин-2, в том числе те, которые вызывают агонию сигнального пути дектина-2, могут быть использованы для удовлетворения этой потребности.

Краткое описание изобретения

В настоящем документе предложены агенты, связывающие дектин-2, содержащие полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид

вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина. В некоторых воплощениях агенты, связывающие дектин-2, содержат вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина согласно любой из SEQ ID NO: 243-282 или 324 или, по меньшей мере, их CDR; и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина согласно любой из SEQ ID NO: 283-322 или по меньшей мере ее CDR. В других воплощениях агенты, связывающие дектин-2, содержат полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 90% идентичной любой из SEQ ID NO: 243-282 или 324, и вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на 90% идентичной любой из SEQ ID NO: 283-322. В других воплощениях агента, связывающего дектин-2, полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина содержит определяющую комплементарность область 1 (HCDR1), содержащую любую из SEQ ID NO: 1-30, определяющую комплементарность область 2 (HCDR2), содержащую любую одну из SEQ ID NO: 31-64 и определяющую комплементарность область 3 (HCDR3), содержащую любую из SEQ ID NO: 65-103 или 323; и/или полипептид вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина содержит определяющую комплементарность область 1 (LCDR1), содержащую любую из SEQ ID NO: 104-125, определяющую комплементарность область 2 (LCDR2), содержащую любую из SEQ ID NO: 126-148, и определяющую комплементарность область 3 (LCDR3), содержащую любую из SEQ ID NO: 149-181. В дополнительных воплощениях агенты, связывающие дектин-2, содержат полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина любой из SEQ ID NO: 328-345 и полипептид легкой цепи иммуноглобулина любой из SEQ ID NO: 325-327. В других воплощениях агенты, связывающие дектин-2, содержат полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, который по меньшей мере на 90% идентичен любой из SEQ ID NO: 328-345, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, который по меньшей мере на 90% идентичен любой из SEQ ID NO: 325-327. Также предлагаются нуклеиновые кислоты, кодирующие агенты, связывающие дектин-2, или их отдельные тяжелые и легкие цепи; векторы и клетки, содержащие нуклеиновые кислоты; и композиции, включающие связывающие агенты или нуклеиновые кислоты.

Также предлагается способ получения связывающего агента, как описано в настоящем документе, который включает экспрессию в клетке одной или нескольких нуклеиновых кислот, кодирующих полипептиды вариабельных областей тяжелой и легкой цепей связывающего агента.

Также предлагается способ лечения заболевания, расстройства или состояния у млекопитающего, которое реагирует на активацию или ингибирование дектина-2, причем

этот способ включает введение млекопитающему связывающего агента, как описано в настоящем документе, или его конъюгата.

Также предлагается способ стимуляции антигенпрезентирующей клетки (АПК), который включает приведение АПК в контакт с агентом, связывающим дектин-2, в дозе и в течение периода времени, достаточных для усиления передачи сигналов дектина-2 в АПК, тем самым генерируя стимулированные АПК.

Дополнительные аспекты и воплощения изобретения представлены в следующем подробном описании.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет собой гистограмму фактора некроза опухоли альфа (TNF α (пг/мл)), секретируемого моноцитами человека, обработанными GM-CSF, которые подвергались воздействию некоторых растворимых антител против дектина-2 в концентрации 100 мкг/мл.

Фиг. 2 представляет собой гистограмму TNF α (пг/мл), секретируемого моноцитами человека, обработанными GM-CSF, которые были подвергнуты воздействию некоторых адсорбированных на планшете антител против дектина-2 в концентрации 25 мкг/мл.

Фиг. 3 представляет собой график TNF α (пг/мл), секретируемого моноцитами человека, обработанными GM-CSF, стимулированными различными концентрациями (нМ) каждого из указанных антител.

Фиг. 4 представляет собой график TNF α (пг/мл), секретируемого моноцитами человека, обработанными GM-CSF, стимулированными различными концентрациями (нМ) каждого из указанных антител.

Фиг. 5А и 5В представляют собой графики TNF α (пг/мл), секретируемого моноцитами человека, обработанными M-CSF, стимулированными различными концентрациями (нМ) каждого из указанных антител.

Фиг. 6 представляет собой график TNF α (пг/мл), секретируемого моноцитами человека, обработанными M-CSF, стимулированными различными концентрациями (нМ) каждого из указанных антител.

Фиг. 7 представляет собой график TNF α (пг/мл), секретируемого моноцитами человека, обработанными GM-CSF, стимулированными различными концентрациями (нМ) каждого из указанных антител.

Подробное описание изобретения

Изобретение относится к агенту, связывающему дектин-2, содержащему полипептид переменной области тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид переменной области легкой цепи иммуноглобулина. Агент, связывающий дектин-2,

специфически связывает дектин-2 и позволяет нацеливаться на клетки, экспрессирующие дектин-2, например, для активации (индуцирования) одного или нескольких путей, связанных с дектин-2, в клетках, экспрессирующих дектин-2.

В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, связывает дектин-2, который представляет собой рецептор, без существенного ингибирования или предотвращения связывания одного или нескольких его естественных лигандов с дектином-2. В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, агонистически связывает дектин-2, тем самым полностью или частично активируя передачу сигналов дектином-2 в клетках, экспрессирующих дектин-2 (например, в терапевтических целях). В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, связывает дектин-2 в виде мономера. В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, связывает дектин-2 в виде гомодимера или гетеродимера с другим белком, таким как дектин-3. Когда агент, связывающий дектин-2, связывается с дектином-2 в виде гомодимера или гетеродимера (например, гетеродимера дектин-2/Дектин-3), связывающий агент может связываться с дектином-2 до образования гомодимера или гетеродимера или, в других воплощениях, агент, связывающий дектин-2, связывает дектин-2 после того, как дектин-2 образует гомодимер или гетеродимер.

В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, связывается с дектином-2 человека, например, белком, включающим SEQ ID NO: 346 (MMQEQQPQSTEKRGWLSRLWSVAGISIALLSACFIVSCVVTYHFTYGETGKRLSELHS YHSSLTCFSEGTKVPAWGCCPASWKSFGSSCYFISSEEKVWSKSEQNCVEMGAHLVFN TEAEQNFIQQLNESFSYFLGLSDPQGNNNWQWIDKTPYEKNVRFWHLGEPNHSAEQC ASIVFWKPTGWGWNDVICETRRNSICEMNKIYL). Однако также охватываются связывающие агенты, которые связываются с любым гомологом или паралогом дектина-2. В некоторых воплощениях белок дектина-2 идентичен по меньшей мере на около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 91%, около 92%, около 93%, около 94%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98%, около 99% или более с последовательностью SEQ ID NO: 346. В некоторых воплощениях связывающий агент связывает человеческий и/или мышинный дектин-2.

«Идентичность» нуклеотидной или аминокислотной последовательности, упоминаемая в данном документе, может быть определена путем сравнения представляющей интерес нуклеотидной или аминокислотной последовательности с эталонной нуклеотидной или аминокислотной последовательностью. Процентная идентичность — это количество нуклеотидных или аминокислотных остатков, которые совпадают (т.е. которые являются идентичными) между оптимально выровненной

представляющей интерес последовательностью и эталонной последовательностью, деленное на длину самой длинной последовательности (т.е. длину либо представляющей интерес последовательности либо эталонной последовательности, в зависимости от того, какая из них длиннее). Выравнивание последовательностей и расчет процентной идентичности можно выполнить с использованием доступных программ. Примеры таких программ включают CLUSTAL-W, T-Coffee и ALIGN (для выравнивания последовательностей нуклеиновых кислот и аминокислот), программы BLAST (например, BLAST 2.1, BL2SEQ, BLASTp, BLASTn и т.п.) и программы FASTA (например, FASTA3x, FASTM и SSEARCH) (для выравнивания последовательностей и поиска сходства последовательностей). Алгоритмы выравнивания последовательностей также раскрыты, например, в Altschul et al., *J. Molecular Biol.*, 215(3): 403-410 (1990), Beigert et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(10): 3770-3775 (2009), Durbin et al., eds., *Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids*, Cambridge University Press, Cambridge, UK (2009), Soding, *Bioinformatics*, 21(7): 951-960 (2005), Altschul et al., *Nucleic Acids Res.*, 25(17): 3389-3402 (1997), и Gusfield, *Algorithms on Strings, Trees and Sequences*, Cambridge University Press, Cambridge UK (1997)). Процент (%) идентичности последовательностей можно также рассчитать, например, как $100 \times [(идентичные\ положения)/мин(TGA, TGB)]$, где TGA и TGB представляют собой сумму количества остатков и положений внутренних разрывов в пептидной последовательности A и B в выравнивании, которое минимизирует TGA и TGB. См., например, Russell et al., *J. Mol Biol.*, 244: 332-350 (1994).

Связывающий агент содержит полипептиды варибельной области тяжелой и легкой цепей Ig, которые вместе образуют сайт связывания антигена. Каждая из варибельных областей тяжелой и легкой цепи представляет собой полипептид, содержащий три области, определяющие комплементарность (CDR1, CDR2 и CDR3), соединенные каркасными областями. Связывающий агент может представлять собой любой из множества типов связывающих агентов, известных в данной области, которые содержат тяжелые и легкие цепи Ig. Например, связывающим агентом может быть антитело, «фрагмент» антигенсвязывающего антитела или T-клеточный рецептор.

В некоторых воплощениях связывающий агент представляет собой целое (или полное) антитело, которое содержит антигенсвязывающий домен, содержащий варибельные домены тяжелой и легкой цепей Ig, а также фрагмент кристаллизующегося (Fc) домена. Типичная структура антитела представляет собой тетрамер, состоящий из двух пар полипептидных цепей, каждая пара имеет одну «легкую» (меньшую цепь, такую как около 25 кДа) и одну «тяжелую» цепь (более крупную цепь, такую как около 50-70

кДа), обычно связанные дисульфидными связями. Каждая цепь состоит из структурных доменов, которые называются доменами иммуноглобулина. Эти домены подразделяются на разные категории по размеру и функции, например, переменные домены или области легкой и тяжелой цепей (VL и VH, соответственно) и константные домены или области легкой и тяжелой цепей (CL и CH, соответственно). N-конец каждой цепи определяет переменную область, обычно содержащую примерно от 100 до 110 или более аминокислот (без ограничения указанным), называемую паратопом, который в первую очередь отвечает за распознавание антигена, т.е. антигенсвязывающий домен. Легкие цепи классифицируются либо как каппа, либо как лямбда. Тяжелые цепи классифицируются как гамма, мю, альфа, дельта или эpsilon, которые в свою очередь определяют классы иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA, IgD и IgE, соответственно. Классы могут быть дополнительно разделены на подклассы. Например, у человека существует четыре подкласса IgG (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4), названные в порядке их распространенности в сыворотке (т.е. IgG1 является наиболее распространенным).

В некоторых воплощениях связывающий агент представляет собой «фрагмент» антигенсвязывающего антитела, который представляет собой конструкцию, содержащую по меньшей мере антигенсвязывающую область антитела, отдельно или с другими компонентами, которые вместе составляют антигенсвязывающую конструкцию. В данной области известно множество различных типов «фрагментов» антител, включая, например, (i) Fab-фрагмент, который представляет собой моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1, (ii) F(ab')₂-фрагмент, который представляет собой двухвалентный фрагмент, состоящий из двух Fab-фрагментов, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области, (iii) Fv-фрагмент, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, (iv) Fab'-фрагмент, полученный в результате разрыва дисульфидного мостика фрагмента F(ab')₂ с использованием мягких восстановительных условий, (v) дисульфид-стабилизированный фрагмент Fv (dsFv) и (vi) одноцепочечный Fv (scFv), который представляет собой моновалентную молекулу, состоящую из двух доменов фрагмента Fv (т.е. VL и VH), соединенных синтетическим линкером, который позволяет синтезировать два домена в виде одной полипептидной цепи.

Антитело или фрагменты антител могут быть частью более крупной конструкции, например конъюгата или конструкции слияния фрагмента антитела с дополнительными областями. Например, в некоторых воплощениях фрагмент антитела может быть объединен с Fc-областью, как описано в настоящем документе. В других воплощениях фрагмент антитела (например, Fab или scFv) может быть частью химерного антигенного рецептора или химерного T-клеточного рецептора, например, путем объединения с

трансмембранным доменом (необязательно с промежуточным линкером или «стеблем» (например, шарнирной областью)) и необязательным межклеточным сигнальным доменом. Например, фрагмент антитела можно объединить с гамма- и/или дельта-цепями Т-клеточного рецептора, чтобы получить конструкцию, подобную Т-клеточному рецептору, которая связывает дектин-2. В еще одном воплощении фрагмент антитела является частью биспецифического рекрутера Т-клеток (BiTE), содержащего домен связывания CD1 или CD3 и линкер.

Антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела может быть моноспецифическим в отношении дектина-2 или может быть биспецифическим или мультиспецифическим. Например, в бивалентных или поливалентных антителах или фрагментах антител связывающие домены могут быть разными, и каждый связывающий домен может быть нацелен на разные эпитопы одного и того же антигена или на разные антигены. В некоторых воплощениях антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела являются биспецифическими или мультиспецифическими, где по меньшей мере один связывающий домен специфически связывается с дектином-2, и по меньшей мере один связывающий домен специфически связывает белок, нацеленный на опухоль. Примеры белков, нацеленных на опухоль, включают 5T4, ABL, ABCF1, ACVR1, ACVR1B, ACVR2, ACVR2B, ACVRL1, ADORA2A, агрекан, AGR2, AICDA, AIF1, AIG1, AKAP1, AKAP2, AMH, AMHR2, ANGPT1, ANGPT2, ANGPTL3, ANGPTL4, ANPEP, APC, APOC1, AR, ароматазу, ATX, AX1, AZGP1 (цинк-а-гликопротеин), B7.1, B7.2, B7-H1, BAD, BAFF, BAG1, BAI1, BCR, BCL2, BCL6, BDNF, BLNK, BLR1 (MDR15), BlyS, BMP1, BMP2, BMP3B (GDF10), BMP4, BMP6, BMP8, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2, BPAG1 (плектин), BRCA1, C19orf10 (IL27w), C3, C4A, C5, C5R1, CANT1, CAPRIN-1, CASP1, CASP4, CAV1, CCBP2 (D6/JAB61), CCL1 (1-309), CCL11 (эотаксин), CCL13 (MCP-4), CCL15 (MIP-Id), CCL16 (HCC-4), CCL17 (TARC), CCL18 (PARC), CCL19 (MIP-3b), CCL2 (MCP-1), MCAF, CCL20 (MIP-3a), CCL21 (MEP-2), SLC, эксодус-2, CCL22(MDC/STC-I), CCL23 (MPIF-1), CCL24 (MPIF-2/эотаксин-2), CCL25 (TECK), CCL26(эотаксин-3), CCL27 (STACK/ILC), CCL28, CCL3 (MIP-1a), CCL4 (MIP1b), CCL5(RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL8 (mcp-2), CCNA1, CCNA2, CCND1, CCNE1, CCNE2, CCR1 (CKR1/HM145), CCR2 (mcp-IRB/RA), CCR3 (CKR3/CMKBR3), CCR4, CCR5(CMKBR5/ChemR13), CCR6 (CMKBR6/CKR-L3/STRL22/DRY6), CCR7 (CKR7/EBI1), CCR8 (CMKBR8/TERI/CKR-L1), CCR9 (GPR-9-6), CCRL1 (VSHK1), CCRL2 (L-CCR), CD164, CD19, CDIC, CD2, CD20, CD21, CD200, CD-22, CD24, CD27, CD28, CD3, CD33, CD35, CD37, CD38, CD3E, CD3G, CD3Z, CD4, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45RB, CD47, CD52, CD69, CD72, CD74, CD79A, CD79B, CD8, CD80, CD81, CD83, CD86, CD137, CD152, CD274, CDH1 (E-

кадгерин), CDH10, CDH12, CDH13, CDH18, CDH19, CDH20, CDH5, CDH7, CDH8, CDH9, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK9, CDKN1A (p21Wap1/Cip1), CDKN1B (p27Kip1), CDKN1C, CDKN2A (p16INK4a), CDKN2B, CDKN2C, CDKN3, СЕВРВ, СЕРI, СHGA, СHGB, хитиназу, СHST10, СKLFSF2, СKLFSF3, СKLFSF4, СKLFSF5, СKLFSF6, СKLFSF7, СKLFSF8, CLDN3, CLDN7 (клаудин-7), CLN3, CLU (кластерин), СМКLR1, СМКOR1 (RDC1), CNR1, COL18A1, COLIA1, COL4A3, COL6A1, CR2, Сripto, CRP, CSF1 (M-CSF), CSF2 (GM-CSF), CSF3 (GCSF), CTL8, CTNNB1 (б-катенин), СТСВ (катепсин В), СХ3СL1 (SCYD1), СХ3СR1 (V28), СХСL1 (GRO1), СХСL10 (IP-10), СХСL11 (1-TAC/IP-9), СХСL12 (SDF1), СХСL13, СХСL14, СХСL16, СХСL2 (GRO2), СХСL3 (GRO3), СХСL5 (ENA-78/LIX), СХСL6 (GCP-2), СХСL9 (MIG), СХСR3 (GPR9/СKR-L2), СХСR4, СХСR6 (TYMSTR/STRL33/Bonzo), СYB5, СYС1, СYSLTR1, DAB2IP, DES, DKFZp451J0118, DNCL1, DPP4, E2F1, Engel, Edge, Fennel, EFNA3, EFNB2, EGF, EGFR, ELAC2, ENG, Enola, ENO2, ENO3, EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPHA9, EPHA10, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB5, EPHB6, EPHRIN-A1, EPHRIN-A2, EPHRINA3, EPHRIN-A4, EPHRIN-A5, EPHRIN-A6, EPHRIN-B1, EPHRIN-B2, EPHRIN-B3, EPHB4, EPG, ERBB2 (Her-2), EREG, ERK8, рецептор эстрогена, Earl, ESR2, F3 (TF), FADD, фарнезилтрансферазу, FasL, FASNf, FCER1A, FCER2, FCGR3A, FGF, FGF1 (aFGF), FGF10, FGF1 1, FGF12, FGF12B, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF19, FGF2 (bFGF), FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, FGF3 (int-2), FGF4 (HST), FGF5, FGF6 (HST-2), FGF7 (KGF), FGF8, FGF9, FGFR3, FIGF (VEGFD), FIL1(EPSILON), FBL1 (ZETA), FLJ12584, FLJ25530, FLRT1 (фибронектин), FLT1, FLT-3, FOS, FOSL1(FRA-1), FY (DARC), GABRP (GABAa), GAGEB1, GAGEC1, GALNAC4S-6ST, GATA3, GD2, GDF5, GFI1, GGT1, GM-CSF, GNAS1, GNRH1, GPR2 (CCR10), GPR31, GPR44, GPR81 (FKSG80), GRCC10 (C10), GRP, GSN (гельзолин), GSTP1, HAVCR2, HDAC, HDAC4, HDAC5, HDAC7A, HDAC9, Hedgehog, HGF, HIF1A, HIP1, гистамин и рецепторы гистамина, HLA-A, HLA-DRA, HLA-E, HM74, HMOX1, HSP90, HUMCYT2A, ICEBERG, ICOSL, ID2, IFN-a, IFNA1, IFNA2, IFNA4, IFNA5, EFNA6, BFNA7, IFNB1, IFN-гамма, IFNW1, IGBP1, IGF1, IGFIR, IGF2, IGFBP2, IGFBP3, IGFBP6, DL-1, ILIO, ILIORA, ILIORB, IL-1, IL1R1 (CD121a), IL1R2(CD121b), IL-IRA, IL-2, IL2RA (CD25), IL2RB(CD122), IL2RG(CD132), IL-4, IL-4R(CD123), IL-5, IL5RA(CD125), IL3RB(CD131), IL-6, IL6RA, (CD126), IR6RB(CD130), IL-7, IL7RA(CD127), IL-8, CXCR1 (IL8RA), CXCR2, (IL8RB/CD128), IL-9, IL9R(CD129), IL-10, IL10RA(CD210), IL10RB(CDW210B), IL-11, IL11RA, IL-12, IL-12A, IL-12B, IL-12RB1, IL-12RB2, IL-13, IL13RA1, IL13RA2, IL14, IL15, IL15RA, IL16, IL17, IL17A, IL17B, IL17C, IL17R, IL18, IL18BP, IL18R1, IL18RAP, IL19, ILIA, ILIB, ILIF10, ILIF5,

IL1F6, IL1F7, IL1F8, DL1F9, IL1HY1, IL1R1, IL1R2, IL1RAP, IL1RAPLI, IL1RAPL2, IL1RL1, IL1RL2, IL1RN, IL2, IL20, IL20RA, IL21R, IL22, IL22R, IL22RA2, IL23, DL24, IL25, IL26, IL27, IL28A, IL28B, IL29, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL3, IL30, IL3RA, IL4, IL4, IL6ST (гликопротеин 130), ILK, INHA, INHBA, INSL3, INSL4, IRAK1, IRAK2, ITGA1, ITGA2, ITGA3, ITGA6 ($\alpha 6$ интегрин), ITGAV, ITGB3, ITGB4 ($\beta 4$ интегрин), JAG1, JAK1, JAK3, JTB, JUN, K6HF, KAI1, KDR, KITLG, KLF5 (GC Box BP), KLF6, KLK10, KLK12, KLK13, KLK14, KLK15, KLK3, KLK4, KLK5, KLK6, KLK9, KRT1, KRT19 (Кератин 19), KRT2A, KRTHB6(специфичный для волос кератин типа II), LAMA5, LEP (лептин), Lingo-p75, Lingo-Troy, LPS, LTA (TNF-b), LTB, LTB4R (GPR16), LTB4R2, LTBR, MACMARCKS, MAG or OMgp, MAP2K7 (c-Jun), MCP-1, MDK, MIB1, midkine, MIF, MISRII, MJP-2, MK, MKI67 (Ki-67), MMP2, MMP9, MS4A1, MSMB, MT3 (металлотрионектин-UI), mTOR, MTSS1, MUC1 (муцин), MYC, MYD88, NCK2, нейрокан, NFKBI, NFKB2, NGFB (NGF), NGFR, NgR-Lingo, NgRNogo66, (Nogo), NgR-p75, NgR-Troy, NMEI (NM23A), NOTCH, NOTCH1, NOX5, NPPB, NROB1, NROB2, NRID1, NR1D2, NR1H2, NR1H3, NR1H4, NR112, NR113, NR2C1, NR2C2, NR2E1, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR2F6, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR4A3, NR5A1, NR5A2, NR6A1, NRP1, NRP2, NT5E, NTN4, ODZI, OPRDI, P2RX7, PAP, PART1, PATE, PAWR, PCA3, PCDGF, PCNA, PDGFA, PDGFB, PDGFRA, PDGFRB, PECAMI, рег-аспарагиназу, PF4 (CXCL4), PGF, PGR, фосфакан, PIAS2, PI3-киназу, PIK3CG, PLAU (uPA), PLG, PLXDCI, PKC, PKC-бета, PPBP (CXCL7), PPID, PR1, PRKCQ, PRKD1, PRL, PROC, PROK2, PSAP, PSCA, PTAFR, PTEN, PTGS2 (COX-2), PTN, RAC2 (P21Rac2), RANK, лиганд RANK, RARB, RGS1, RGS13, RGS3, RNFI10 (ZNF144), Ron, ROBO2, RXR, S100A2, SCGB 1D2 (липофилин B), SCGB2A1 (маммаглобин 2), SCGB2A2 (маммаглобин 1), SCYE1 (эндотелиальный моноцит-активирующий цитокин), SDF2, SERPENA1, SERPINA3, SERPINB5 (маспин), SERPINEI (PAI-I), SERPINFI, SHIP-1, SHIP-2, SHB1, SHB2, SHBG, SIRP α (SHPS1), SfcAZ, SLC2A2, SLC33A1, SLC43A1, SLIT2, SPP1, SPRR1B (Spr1), ST6GAL1, STAB1, STATE, STEAP, STEAP2, TB4R2, TBX21, TCP10, TDGF1, TEK, TGFA, TGFB1, TGFB1I1, TGFB2, TGFB3, TGFBI, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, THIL, THBS1 (тромбоспондин-1), THBS2, THBS4, THPO, TIE (Tie-1), TIMP3, тканевой фактор, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TNF, TNF-a, TNFAIP2 (B94), TNFAIP3, TNFRSF11A, TNFRSF1A, TNFRSF1B, TNFRSF21, TNFRSF5, TNFRSF6 (Fas), TNFRSF7, TNFRSF8, TNFRSF9, TNFRSF10 (TRAIL), TNFRSF11 (TRANCE), TNFRSF12 (APO3L), TNFRSF13 (April), TNFRSF13B, TNFRSF14 (HVEM-L), TNFRSF14 (HVEM), TNFRSF15 (VEGI), TNFRSF18, TNFRSF4 (лиганд OX40), TNFRSF5 (лиганд CD40), TNFRSF6 (FasL), TNFRSF7 (лиганд CD27), TNFRSF8 (лиганд CD30), TNFRSF9 (лиганд 4-1BB), TOLLIP, Toll-подобные рецепторы,

TOP2A (топоизомеразу Iia), TP53, TPM1, TPM2, TRADD, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF4, TRAF5, TRAF6, TRKA, TREM1, TREM2, TRPC6, TSLP, TWEAK, тирозиназу, uPAR, VEGF, VEGFB, VEGFC, версикан, VHL C5, VLA-4, VTCN1 (B7-H4), Wnt-1, XCL1 (лимфотактин), XCL2 (SCM-Ib), XCRI (GPR5/CCXCR1), YY1, ZFPM2, CLEC4C (BDCA-2, DLEC, CD303, CLECSF7), CLEC4D (MCL, CLECSF8), CLEC4E (Mincle), CLEC5A (MDL-1, CLECSF5), CLEC1B (CLEC-2), CLEC9A (DNNGR-1), CLEC7A (дектин-1), PDGFR α , SLAMF7, GP6 (GPVI), LILRA1 (CD85I), LILRA2 (CD85H, ILT1), LILRA4 (CD85G, ILT7), LILRA5 (CD85F, ILT11), LILRA6 (CD85b, ILT8), NCR1 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD335, LY94, NKp46), NCR3 (CD337, NKp30), OSCAR, TARM1, CD300C, CD300E, CD300LB (CD300B), CD300LD (CD300D), KIR2DL4 (CD158D), KIR2DS, KLRC2 (CD159C, NKG2C), KLRK1 (CD314, NKG2D), NCR2 (CD336, NKp44), PILRB, SIGLEC1 (CD169, SN), SIGLEC14, SIGLEC15 (CD33L3), SIGLEC16, SIRPB1 (CD172B), TREM1 (CD354), TREM2, TROP2 (опухоль-ассоциированный трансдуктор сигнала кальция 2) и KLRF1 (NKp80).

Способы конструирования поливалентных связывающих конструкций известны в данной области. Биспецифические и мультиспецифические антитела известны в данной области. Кроме того, могут быть получены диатело, триантитело, тетратело или гексатело, которые представляют собой димер, тример, тетрамер или гексамер полипептидных цепей, каждая из которых содержит VH, соединенную с VL пептидным линкером, который слишком короткий, чтобы позволить спаривание между VH и VL на одной и той же полипептидной цепи, тем самым стимулируя спаривание между комплементарными доменами на разных полипептидных цепях VH-VL с образованием мультимерной молекулы, имеющей два, три, четыре или шесть функциональных антигенсвязывающих сайтов. Кроме того, фрагменты bis-scFv, которые представляют собой небольшие фрагменты scFv с двумя разными переменными доменами, могут быть созданы для получения биспецифических фрагментов bis-scFv, способных связывать два разных эпитопа. Fab-димеры (Fab2) и Fab-тримеры (Fab3) могут быть получены с использованием методов генной инженерии для создания мультиспецифических конструкций на основе Fab-фрагментов.

Агент, связывающий дектин-2, также может представлять собой конъюгат антитела. В этом отношении агент, связывающий дектин-2, может представлять собой конъюгат (1) антитела, альтернативного каркаса или его фрагментов и (2) белкового или небелкового фрагмента. Например, агент, связывающий дектин-2, может быть конъюгирован с пептидом, флуоресцентной молекулой, химиотерапевтическим или другим цитотоксическим полезным грузом, иммуноактивирующим или

иммунодепрессивным агентом.

Агент, связывающий дектин-2, может представлять собой или может быть получен из человеческого антитела, нечеловеческого антитела, гуманизированного антитела или химерного антитела или соответствующих фрагментов антител. «Химерное» антитело представляет собой антитело или его фрагмент, обычно содержащее константные области человека и переменные области, отличные от человека. «Гуманизированное» антитело представляет собой моноклональное антитело, обычно содержащее каркас человеческого антитела, но с аминокислотами или последовательностями нечеловеческого происхождения по меньшей мере в одной CDR (например, 1, 2, 3, 4, 5 или во всех шести CDR).

Способы получения таких антител известны в данной области и описаны, например, в Köhler and Milstein, *Eur. J. Immunol.*, 5: 511-519 (1976); Harlow and Lane (eds.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH Press (1988); и Janeway et al. (eds.), *Immunobiology*, 9th Ed., Garland Publishing, New York, NY (2017). В некоторых воплощениях человеческое или химерное антитело или фрагмент антитела можно получить с использованием трансгенного животного (например, мыши), в котором один или несколько генов эндогенного иммуноглобулина заменены одним или несколькими генами иммуноглобулина человека. Примеры трансгенных мышей, у которых гены эндогенных антител эффективно заменены генами человеческих антител, включают, без ограничения указанным, Medarex HUMAB-MOUSE™, Kirin TC MOUSE™ и Kyowa Kirin KM-MOUSE™ (см., например, Lonberg, *Nat. Biotechnol.*, 23(9): 1117-25 (2005), и Lonberg, *Handb. Exp. Pharmacol.*, 181: 69-97 (2008)). Гуманизированное антитело может быть получено с использованием любого подходящего способа, известного в данной области (см., например, An, Z. (ed.), *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey (2009)), включая, например, прививку нечеловеческих CDR на каркас человеческого антитела (см., например, Kashmiri et al., *Methods*, 36(1): 25-34 (2005); и Hou et al., *J. Biochem.*, 144(1): 115-120 (2008) и использование фагового дисплея (см., например, Fellouse, et al., *Journal of Molecular Biology*, 373(4): 924-940 (2007) и Glanville, et al., *PNAS*, 106(48): 20216-20221 (2009)).

В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, содержит переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина любой из SEQ ID NO: 243-282 или 324, последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере около 91%, по меньшей мере около 92%, по меньшей мере около 93%, по меньшей мере около 94%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% с SEQ ID

NO: 243-282 или 324, или по меньшей мере с их CDR; и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина любой из SEQ ID NO: 283-322, последовательность, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере около 91%, по меньшей мере около 92%, по меньшей мере около 93%, по меньшей мере около 94%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98%, по меньшей мере около 99% или 100% с SEQ ID NO: 283-322, или по меньшей мере с их CDR.

В качестве дополнительной иллюстрации агент, связывающий дектин-2, может включать:

(1) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 243 или по меньшей мере ее CDR и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 283 или по меньшей мере с ее CDR;

(2) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 244 или по меньшей мере ее CDR и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 284 или по меньшей мере ее CDR;

(3) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 245 или по меньшей мере ее CDR и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 285 или по меньшей мере ее CDR;

(4) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 246 или по меньшей мере ее CDR, и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 286 или по меньшей мере ее CDR;

(5) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 247 или по меньшей мере ее CDR и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 287 или по меньшей мере ее CDR;

(6) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 248 или по меньшей мере ее CDR и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 288 или по меньшей мере ее CDR;

(7) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 249 или по меньшей мере ее CDR, и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 289 или по меньшей мере ее CDR;

(8) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 250 или по меньшей мере ее CDR и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 290 или по меньшей мере ее CDR;

(9) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина SEQ ID NO: 251 или по меньшей мере ее CDR, и/или вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина SEQ

CDR данной последовательности тяжелой или легкой цепи Ig можно определить в соответствии с любой из различных известных схем нумерации Ig, таких как Kabat, Chothia, Martin (Enhanced Chothia), IGMT, AbM или AHo (см., например, Kabat, et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, NIH (1991); Chothia, et al., Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins, J. Mol. Biol., 196:901-917 (1987); Al-Lazikani et al., Standard Conformations for the Canonical Structures of Immunoglobulins, J. Mol. Biol., 273:927 – 948 (1997); Abhinandan et al., Analysis and Improvements to Kabat and Structurally Correct Numbering of Antibody Variable Domains, Mol. Immunol., 45: 3832 – 3839 (2008); Lefranc et al., Уникальная нумерация IGMT для иммуноглобулинов, Т-клеточных рецепторов и Ig-подобных доменов, The Immunologist, 7: 132-136 (1999); Lefranc et al., IGMT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and I superfamily V-like domains, Dev. Comp. Immunol., 27: 55 – 77 (2003); и Honegger et al., Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool, J. Mol. Biol. 309: 657 – 670 (2001).). В конкретных воплощениях Kabat используется для определения CDR данной последовательности тяжелой или легкой цепи Ig. В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, содержит одну или несколько из следующих CDR:

HCDR1, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 1-30 или последовательности, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 91%, по меньшей мере на около 92%, по меньшей мере на около 93%, по меньшей мере на около 94% по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98% или по меньшей мере на около 99% с SEQ ID NO: 1-30;

HCDR2, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 31-64 или последовательности, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 91%, по меньшей мере на около 92%, по меньшей мере на около 93%, по меньшей мере на около 94% по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98% или по меньшей мере на около 99% с SEQ ID NO: 31-64; и

HCDR3, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 65-103 или 323, или последовательности, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 91%, по меньшей мере на около 92%, по меньшей мере на около 93%, по меньшей мере на около 94% по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98% или по меньшей мере

мере на около 99% с SEQ ID NO: 65-103 или 323; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает

LCDR1, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 104-125 или последовательности, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 91%, по меньшей мере на около 92%, по меньшей мере на около 93%, по меньшей мере на около 94% по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98% или по меньшей мере на около 99% с SEQ ID NO: 104-125;

LCDR2, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 126-148 или последовательности, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 91%, по меньшей мере на около 92%, по меньшей мере на около 93%, по меньшей мере на около 94% по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98% или по меньшей мере на около 99% с SEQ ID NO: 126-148; и

LCDR3, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 149-181 или последовательности, которая идентична по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 91%, по меньшей мере на около 92%, по меньшей мере на около 93%, по меньшей мере на около 94% по меньшей мере на около 95%, по меньшей мере на около 96%, по меньшей мере на около 97%, по меньшей мере на около 98% или по меньшей мере на около 99% с SEQ ID NO: 149-181.

В конкретных воплощениях связывающий агент содержит полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, где:

(1) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает HCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 1, HCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 31, и HCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 65; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает LCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 104, LCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 126, и LCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 149;

(2) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает HCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 2, HCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 32, и HCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 66; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает LCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 105, LCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 127, и LCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 150;

(3) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает HCDR1, содержащую

или состоящую из SEQ ID NO: 25, HCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 38, и HCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 99; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает LCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 124, LCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 126, и LCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 178;

(37) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает HCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 27, HCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 62, и HCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 100; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает LCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 111, LCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 147, и LCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 179;

(38) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает HCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 28, HCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 63, и HCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 101; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает LCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 116, LCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 148, и LCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 180;

(39) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает HCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 29, HCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 64, и HCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 102; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает LCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 121, LCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 126, и LCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 177;

(40) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает HCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 30, HCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 38, и HCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 103; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает LCDR1, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 125, LCDR2, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 127, и LCDR3, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 181;

(41) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид легкой цепи иммуноглобулина содержат любую комбинацию CDR, перечисленных в таблице 1;

(42) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 328-345, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из любой из SEQ ID NO: 325-327;

(43) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из

(55) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 340, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 327;

(56) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 341, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 327;

(57) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 342, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 327;

(58) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 343, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 327;

(59) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 344, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 327; и/или

(55) полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 345, и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, содержащий или состоящий из SEQ ID NO: 327.

В конкретных воплощениях связывающий агент содержит полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид легкой цепи иммуноглобулина, где полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина включает первую каркасную область, вторую каркасную область, третью каркасную область и/или четвертую каркасную область; и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает первую каркасную область, вторую каркасную область, третью каркасную область и/или четвертую каркасную область; и/или полипептид тяжелой цепи и полипептид легкой цепи иммуноглобулина включает любую комбинацию каркасных областей, перечисленных в таблицах 2 и 3.

Таблица 1

Связывающий агент	SEQ ID	HCDR1	SEQ ID	HCDR2	SEQ ID	HCDR3	SEQ ID	LCDR1	SEQ ID	LCDR2	SEQ ID	LCDR3
1	1	SYMQ	31	WINPKSGGTN YAQKFOG	65	GTYLRTGSSLSG YYYGMDV	104	QASQDISNYLN	126	AASSLQS	149	QQTDSIPIT
2	2	TYMH	32	IINPSGGSTSY AOKFOG	66	SHYGDLNGGFD L	105	RASQYISSYLA	127	AASTLQS	150	QQSYSTPLT
3	3	NFGIN	33	WINPNSGGAN YAQKFOG	67	GVVAARYYYM DV	106	RASQNIGSYLN	126	AASSLQS	151	QQTNSFPLT
4	4	SYDIN	34	WINPNSGATN SAQKFOG	68	AGYSSWDGY YYGMDV	107	RASQSISSHLN	127	AASTLQS	150	QQSYSTPLT
5	5	GYVH	35	IHPNNGGSTSY AOKFOG	69	DQAGTGGHGM DV	108	RASQSINWLA	127	AASTLQS	152	EQNYRLPIT
6	6	SYWMS	36	DISGSGRSTYY ADSVKG	70	GRYLEWVLSSE DYFMDV	104	QASQDISNYLN	128	AASSLHP	153	QQSDSFPLT
7	6	SYWMS	37	AISGSGGSTYY ADSVKG	71	GRYSRSWERW YFDL	104	QASQDISNYLN	129	AASNLES	154	QQTNSFPIT
8	7	SQYMH	38	WMNPNSGNT GYAOKFOG	72	GQYDSSGYYYF DY	109	QASQDIRNYLN	127	AASTLQS	155	QQSYSFPLT
9	8	TYMN	39	ILSPSGGSTSY APKFOG	73	ATYYDFWSGSL DY	110	RASQSISSYLN	126	AASSLQS	150	QQSYSTPLT
10	9	SYFMH	40	WMNPNNGNT GYAOKFOG	74	QAGYSSGWDY	104	QASQDISNYLN	130	AAFNLQG	156	QQAHSFPLT
11	10	TWYMQ	41	WISPYTGNTIY APNVQG	75	AVYDILTGAYY FDY	110	RASQSISSYLN	131	GASTLES	157	QQSYSTPIT
12	11	SYAIS	42	WISTYNGNTN YAQKFOG	76	GRLPPYYGMD V	111	KSSQSVLYSSNN KNYLA	132	WASTRES	158	QQYYSTPLT
13	12	RYYLH	43	RIIPILGIANYA QKFOG	77	MATVTKHTYW YFDL	104	QASQDISNYLN	133	ATSTLQS	159	QQANSLPYS
14	13	GQVH	44	LISYDGGSTYY ADSVKG	78	AGRSTSRYYYY YMDV	112	RASENIGNWLA	127	AASTLQS	160	QQGYSTPYT
15	14	PNYIQ	45	IINPSGRSTSY AOKFOG	79	SSSGYTDAFDI	113	RASQSVSSNLA	134	GASTRAT	161	QQYGTSPFT
16	15	ASYIH	46	GIPIFGSPNYA QKFOG	80	EYQLMNVGMD V	114	RASQGISNNLN	135	AASILQS	162	QQSYTTTLT
17	16	DSHLH	47	VIYAGGSRY ADSVKG	81	GKQRADAFDI	115	RASQISKFLN	136	SASNLQS	163	QQANSFPLT

Связывающий агент	SEQ ID	HCDR1	SEQ ID	HCDR2	SEQ ID	HCDR3	SEQ ID	LCDR1	SEQ ID	LCDR2	SEQ ID	LCDR3
18	13	GQWVH	44	LISYDGGSTYY ADSVKG	78	AGRSTSRYYYY YMDV	112	RASENIGNWLA	127	AASTLQS	160	QQGYSTPYT
19	17	SYWMH	48	TISGSGAGTW YADSVKG	82	DVDPSRQSYH GVDV	116	RSSQSLLSNGY NYLD	137	LGSNRAS	164	MQGAHWPYT
20	18	NYWIQ	49	WINPNSGGTR YARNFQG	83	GRYYYYGSGSQY HAFDI	117	RASQSIGSYLN	138	AASRLQS	150	QQSYSTPLT
21	19	NYYMH	50	WLNPNSTNY AQKFQ	84	GRYDSSGYFY DY	118	QASQEIGNYLN	139	GASSLQS	150	QQSYSTPLT
22	20	GYDMQ	51	IINPSGAGTNY AQKFQ	85	TVTTPYQYYGM DV	116	RSSQSLLSNGY NYLD	126	AASSLQS	165	MQALQTPLT
23	21	SYSMN	52	VISYDGRIKDY ADSVKG	86	VRGFSWFDP	110	RASQISSYLN	140	LASSLQS	166	QQSYGIPLT
23a	21	SYSMN	52	VISYDGRIKDY ADSVKG	86	VRGFSWFDP	110	RASQISSYLN	140	LASSLQS	166	QQSYGIPLT
23b	21	SYSMN	52	VISYDGRIKDY ADSVKG	323	VRGFSWFEP	110	RASQISSYLN	140	LASSLQS	166	QQSYGIPLT
24	6	SYWMS	53	GISWNGGKTH YADSVKG	87	GGGYFDY	104	QASQDISNYLN	141	KASSLES	167	QQANTFPLT
25	22	GYYIH	38	WMNPNSGNT GYAQKFQ	88	GRYGSSGWSPG YYYYYMDV	119	QASQDITNFLN	126	AASSLQS	168	QQTYSFPLT
26	6	SYWMS	37	AISGSGGSTYY ADSVKG	89	ARDSGSPKDFD Y	120	RASQSISTFLN	142	AASSLQT	169	QQSYSTPP
27	23	SYAMH	54	GTSLDGNKNY YADSVKG	90	GTMARGS	121	QASQDISNYLN	143	AASNLQK	170	QQANSFPRT
28	6	SYWMS	55	TISGSGGTTY ADSVKG	91	ATDYPGMDV	122	QASQDIGNYLN	126	AASSLQS	171	LQHNSFPPT
29	19	NYYMH	56	WINPHSGGTN Y AQKFQ	92	GRMHYDSSVHY YYYGMDV	123	RASQDIRNYLA	127	AASTLQS	172	LQAISFPPT
30	11	SYAIS	57	LIDPSGTTY AQKFQ	93	VSIVGATPDYY YGMDV	109	QASQDIRNYLN	144	DTSNLET	173	QQAYSPLWT
31	4	SYDIN	58	RINPNSGGTNF AQKFQ	94	VIRGGKFDP	104	QASQDISNYLN	136	SASNLQS	174	QQSYTTPYT
32	24	NYGIT	59	WMNPNSANT GYAQKFQ	95	GLYAAAGDQY YYGMDV	110	RASQISSYLN	127	AASTLQS	153	QQSDSFPLT
33	11	SYAIS	60	VINPSGGTTY AKKFQ	96	GAAFDY	111	KSSQSVLYSSNN KNYLA	145	WASFRES	175	QQYYTTPLT

Связывающий агент	SEQ ID	HCDR1	SEQ ID	HCDR2	SEQ ID	HCDR3	SEQ ID	LCDR1	SEQ ID	LCDR2	SEQ ID	LCDR3
34	25	GYMH	61	WINPDSGDTN FAQKFQG	97	EYGDYGYYYY GMDV	111	KSSQSVLYSSNN KNYLA	146	WASARES	176	QQYKSAPYT
35	26	NYYIH	59	WMNPNSANT GYAQKFQG	98	GIYYDSSGGS YYYGMDV	110	RASQSISSYLN	126	AASSLQS	177	QQSNSFPLT
36	25	GYMH	38	WMNPNSGNT GYAQKFQG	99	ELSSSWYSYGM DV	124	RASQISRHNL	126	AASSLQS	178	QQSYQTPLT
37	27	DYGMY	62	YISSSGSTIYY ADSVKG	100	VSGGSWYDRL	111	KSSQSVLYSSNN KNYLA	147	WASIRES	179	QQYSSPFT
38	28	SYGIN	63	RIIPFGAANY AQKFQG	101	TYFDWFFFDY	116	RSSQSLLSNGY NYLD	148	DASNLHA	180	MQALQAPVT
39	29	SYGIS	64	WINPNNGGTN YAQKFQG	102	GRYSGHFGVYY YGMDV	121	QASQDISKYN	126	AASSLQS	177	QQSNSFPLT
40	30	SYMH	38	WMNPNSGNT GYAQKFQG	103	EPYGDYGFY	125	RASQTVRSYLN	127	AATLQS	181	QQTYRTPLT

Таблица 2

Связывающий агент	SEQ ID	HFV1	SEQ ID	HFV2	SEQ ID	HFV3	SEQ ID	HFV4
1	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	216	WGQGTTVTV SS
2	183	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYIFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	217	WGRGTLVTV SS
3	184	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGGTLN	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	218	WGKGTTVTV SS
4	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	202	WVRQAPGQGL EWLG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	216	WGQGTTVTV SS
5	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	219	WGQGTMTVTV SS
6	185	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFS	203	WVRQAPGKGL EWS	209	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	216	WGQGTTVTV SS
7	185	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFS	203	WVRQAPGKGL EWS	209	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	217	WGRGTLVTV SS
8	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	220	WGQGTTLVTV SS
9	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	220	WGQGTTLVTV SS
10	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	210	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTR	220	WGQGTTLVTV SS
11	186	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTLT	201	WVRQAPGQGL EWMG	210	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTR	220	WGQGTTLVTV SS
12	187	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGGTFS	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	216	WGQGTTVTV SS
13	188	QVQLVQSGVWRWSLGGPVKVS CKASGDTFS	201	WVRQAPGQGL EWMG	211	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR	217	WGRGTLVTV SS
14	185	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFS	204	WVRQAPGKGL EWVA	209	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	218	WGKGTTVTV SS
15	183	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYIFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	216	WGQGTTVTV SS
16	189	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	211	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR	216	WGQGTTVTV SS
17	190	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFIFS	205	WVRQAPGKGL EWLS	209	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	220	WGQGTTLVTV SS
18	185	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFS	204	WVRQAPGKGL EWVA	209	RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	218	WGKGTTVTV SS
19	191	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSC	203	WVRQAPGKGL	212	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTED	216	WGQGTTVTV

Связывающий агент	SEQ ID	HFV1	SEQ ID	HFV2	SEQ ID	HFV3	SEQ ID	HFV4
		AASGFTFS		EWVS		TAVYYCAR		SS
20	183	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYIFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	219	WGQGMVTV SS
21	192	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASEYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
22	193	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGDTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	213	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCAG	216	WGQTTVTV SS
23	194	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASTFPFS	204	WVRQAPGKGL EWVA	209	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
23a	185	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASGFTFS	204	WVRQAPGKGL EWVA	209	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
23b	185	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASGFTFS	204	WVRQAPGKGL EWVA	209	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
24	185	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASGFTFS	203	WVRQAPGKGL EWVS	209	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
25	195	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYSFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	218	WGKTTVTV SS
26	185	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASGFTFS	203	WVRQAPGKGL EWVS	209	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
27	185	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASGFTFS	204	WVRQAPGKGL EWVA	209	RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
28	185	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSC AASGFTFS	203	WVRQAPGKGL EWVS	214	RFTISRDN SKNTLYLQNEQPGAED TAVYYCAR	216	WGQTTVTV SS
29	186	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTLT	201	WVRQAPGQGL EWMG	210	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCTR	220	WGQGLVTV SS
30	196	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGGTGS	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	221	WGKGLVTV SS
31	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
32	189	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFT	206	WVRQAPGKGL EWMG	211	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
33	197	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGDTFS	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS
34	189	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	211	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCAR	219	WGQGMVTV SS
35	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	216	WGQTTVTV SS
36	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS	201	WVRQAPGQGL	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED	216	WGQTTVTV

Связывающий агент	SEQ ID	HFW1	SEQ ID	HFW2	SEQ ID	HFW3	SEQ ID	HFW4
		CKASGYTFT		EWMG		TAVYYCAR		SS
37	198	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSC AASGFTLS	203	WVRQAPGKGL EWVS	212	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTED TAVYYCAR	222	LGPGNPVTVS S
38	199	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFS	201	WVRQAPGQGL EWMG	215	RVTITADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTR	220	WGQGLVTV SS
39	182	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFT	201	WVRQAPGQGL EWMG	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	216	WGQGTTVTV SS
40	200	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFS	207	WVRQAPGQGL EWMA	208	RVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR	220	WGQGLVTV SS

Таблица 3

Связывающий агент	SEQ ID	LFW1	SEQ ID	LFW2	SEQ ID	LFW3	SEQ ID	LFW4
1	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	237	FGQGTKVEI K
2	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	238	FGPGTKVDIK
3	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
4	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	237	FGQGTKVEI K
5	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	240	FGQGTRLEIK
6	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
7	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	241	FGQGTKLEIK
8	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
9	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
10	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	238	FGPGTKVDIK
11	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	241	FGQGTKLEIK
12	224	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN C	229	WYQQKPGQPP KLLIY	234	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVYYC	237	FGQGTKVEI K
13	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	241	FGQGTKLEIK
14	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	241	FGQGTKLEIK
15	225	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS C	230	WYQQKPGQAP RLLIY	235	GIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSED FAVYYC	240	FGQGTRLEIK
16	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	238	FGPGTKVDIK
17	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	237	FGQGTKVEI K
18	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	231	WYHQKPGKAP KLLIY	233	SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	241	FGQGTKLEIK

Связывающий агент	SEQ ID	LFW1	SEQ ID	LFW2	SEQ ID	LFW3	SEQ ID	LFW4
19	226	DIVMTQSPLFLPVTGPGEASISC	232	WYLQKPGQSP QLLIY	236	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYYC	241	FGQGTKLEIK
20	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	237	FGQGTKVEI K
21	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
22	227	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISC	232	WYLQKPGQSP QLLIY	236	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGVIYYC	239	FGGGTKVEI K
23	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
23a	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
23b	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
24	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
25	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	238	FGPGTKVDIK
26	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	238	FGPGTKVDIK
27	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	237	FGQGTKVEI K
28	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	239	FGGGTKVEI K
29	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	238	FGPGTKVDIK
30	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	241	FGQGTKLEIK
31	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	241	FGQGTKLEIK
32	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	237	FGQGTKVEI K
33	224	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN C	229	WYQQKPGQPP KLLIY	234	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVIYYC	239	FGGGTKVEI K
34	224	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN C	229	WYQQKPGQPP KLLIY	234	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAE DVAVIYYC	237	FGQGTKVEI K
35	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT C	228	WYQQKPGKAP KLLIY	233	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYC	238	FGPGTKVDIK

Связывающий агент	SEQ ID	LFW1	SEQ ID	LFW2	SEQ ID	LFW3	SEQ ID	LFW4
36	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC	228	WYQQKPGKAPKLLIY	233	GVPSRFGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC	239	FGGGTKVEIK
37	224	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	229	WYQQKPGQPPKLLIY	234	GVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAE DVAVYYC	241	FGQGTKLEIK
38	227	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC	232	WYLQKPGQSPQLLIY	236	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGYYC	240	FGQGTRLEIK
39	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC	228	WYQQKPGKAPKLLIY	233	GVPSRFGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC	242	FGGGTKLEIK
40	223	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITC	228	WYQQKPGKAPKLLIY	233	GVPSRFGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC	237	FGQGTKVEIK

Таблица 4

Связывающий агент	SEQ ID	VH
1	243	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMQWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCARGTYLRTGSSLSGYYYGMDVWGQGTITVTVSS
2	244	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTTYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSHYGDNLGGFDLWGRGTLTVTVSS
3	245	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTLNNGFINWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGANYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCARGVVAARYYYMDVWGKGTITVTVSS
4	246	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEWLGWINPNSGATNSAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARAGYSSSWDGYYYGMDVWGQGTITVTVSS
5	247	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYVHVVRQAPGQGLEWMGIIHPNGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARDQAGTGGHGMVWVWGQGTITVTVSS
6	248	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVSDISGSRSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGRYLEWVLSSEDIYFGMDVWGQGTITVTVSS
7	249	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGRYSRWERWYFDLWGRGTLTVTVSS
8	250	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCARGQYDSSGYYYFDYWGQGTITVTVSS
9	251	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYMNVVRQAPGQGLEWMGILSPSGGTSYAPKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARATYYDFWSGLDYWGQGTITVTVSS
10	252	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYFMHVVRQAPGQGLEWMGWMNPNGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLR SEDTAVYYCTRQAGYSSGWDYWGQGTITVTVSS
11	253	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTLTTWYMQWVRQAPGQGLEWMGWISPYTGNTIYAPNVQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCTRAVYDILTGAYYFDYWGQGTITVTVSS
12	254	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGWISTYNGNTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARGRLPPYYGMDVWGQGTITVTVSS
13	255	QVQLVQSGVWRSLGPPVKVSCKASGDTFSRYLHVVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCARMATVTKHTYWYFDLWGRGTLTVTVSS
14	256	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGQVHVVRQAPGKGLEWVALISYDGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARAGRSTSRYYYYYMDVWGKGTITVTVSS
15	257	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTPNYIQWVRQAPGQGLEWMGIINPSGRSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSE DTAVYYCARSSSGYTTDAFDIWGQGTITVTVSS
16	258	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTASYIHWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGSPNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCAREYQLMNVGMDVWGQGTITVTVSS
17	259	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSHLHVVRQAPGKGLEWLSVIYAGGSRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGKQRADAFDIWGQGTITVTVSS
18	256	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGQVHVVRQAPGKGLEWVALISYDGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARAGRSTSRYYYYYMDVWGKGTITVTVSS

Связывающий агент	SEQ ID	VH
19	260	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLEWVSTISGSGAGTWYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARDVDPQRSYHGVDPVWGQGTITVTVSS
20	261	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYIFTNYWIQWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTRYARNFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGRYYYGSGSQYHAFDIWGGQTMVTVSS
21	262	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASEYFTNYYMHWVRQAPGQGLEWMGWLNPNSGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGRYDSSGYYYFDYWGQGTITVTVSS
22	263	QVQLVQSGAEVKKKPGSSVKVSCASGDTFTGYDMQWVRQAPGQGLEWMGIINPSGAGTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGTVTPYQYYGMDVWGQGTITVTVSS
23	264	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASTFPFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIKDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFDPWGQGTITVTVSS
23a	265	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIKDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFDPWGQGTITVTVSS
23b	324	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIKDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFEPWGQGTITVTVSS
24	266	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVSGISWNGGKTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGGGYFDYWGQGTITVTVSS
25	267	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYFTGYIHWVRQAPGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGRYGSSGWSPGYYYMDVWGKGTITVTVSS
26	268	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARARDSGSPKDFDYWGQGTITVTVSS
27	269	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAGTSLDGNKNYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGTMARGSWGQGTITVTVSS
28	270	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQNEQPGAEDTAVYYCARATDYPGMDVWGQGTITVTVSS
29	271	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYTLTNYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPHSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRGRMHYDSSVHYYYGMDVWGQGTITVTVSS
30	272	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGGTGSSYAIWVRQAPGQGLEWMGLIDPSPGTYYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVSIVGATPDYYYGMDVWGKGTITVTVSS
31	273	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYTFTSYDINWVRQAPGQGLEWMGRINPNSGGTNFAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVIRGGKFDPPWGQGTITVTVSS
32	274	QVQLVQSGAEVKKKPGSSVKVSCASGYTFTNYGITWVRQAPGKGLEWMGMNPNSANTGYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYAAAGDQYYYGMDVWGQGTITVTVSS
33	275	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGDTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGVINPSGGTYYAKKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGAAFDYWGQGTITVTVSS
34	276	QVQLVQSGAEVKKKPGSSVKVSCASGYTFTGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGDTNFAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREYGDYGYYYGMDVWGQGTITVTVSS
35	277	QVQLVQSGAEVKKKPGASVKVSCASGYTFTNYYIHWVRQAPGQGLEWMGMNPNSANTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGIYYDSSGGSYYYGMDVWGQGTITVTVSS

Связывающий агент	SEQ ID	VH
36	278	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARELSSSWYSYGMVWGQGTITVTVSS
37	279	EVQLLESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTLSDYGMYWVRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARVSGGSWYDRLLGPGNPVTVSS
38	280	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYGINWVRQAPGQGLEWMGRIIPIFGAANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRITYFDWFFFDYWGQGLVTVSS
39	281	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWINPNNGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGRYSGHFGVYYYGMDVWGQGTITVTVSS
40	282	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSSYYMHWRQAPGQGLEWMAWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREPYGDYGFYWGQGLVTVSS

Таблица 5

Связывающий агент	SEQ ID	VL
1	283	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTDSI PITFGQGTKVEIK
2	284	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQYISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PLTFGPGTKVDIK
3	285	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQNIQSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNSF PLTFGGGKVEIK
4	286	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSISHLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PLTFGQGTKVEIK
5	287	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSINNLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCEQNYR LPITFGQGTREIK
6	288	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLHPGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSDSF PLTFGGGKVEIK
7	289	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTNSF PITFGQGTKLEIK
8	290	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PLTFGGGKVEIK
9	291	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSISYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP LTFGGGKVEIK
10	292	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAHS FPLTFGPGTKVDIK
11	293	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSISYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP ITFGQGTKLEIK
12	294	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQYYSTPLTFGQGTKVEIK
13	295	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYATSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSL PYSFGQGTKLEIK
14	296	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASENIGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYS TPYTFGQGTKLEIK
15	297	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYGTS PFTFGQGTREIK
16	298	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGISNNLNWYQQKPGKAPKLLIYAASILQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTT TLTFGPGTKVDIK
17	299	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSISKFLNWYQQKPGKAPKLLIYASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSL PLTFGQGTKVEIK
18	300	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASENIGNWLAWYHQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGYS TPYTFGQGTKLEIK

Связывающий агент	SEQ ID	VL
19	301	DIVMTQSPLFLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQGAHWPYTFGQGTKLEIK
20	302	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSIGSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PLTFGQGTKVEIK
21	303	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQEIGNYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYST PLTFGGGTKVEIK
22	304	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQALQTPPLTFGGGTKVEIK
23	305	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYLASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYGIP LTFGGGTKVEIK
23a	305	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYLASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYGIP LTFGGGTKVEIK
23b	305	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYLASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYGIP LTFGGGTKVEIK
24	306	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQANTF PLTFGGGTKVEIK
25	307	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQDITNFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQTYSF PLTFGPGTKVDIK
26	308	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISTFLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP PFGPGTKVDIK
27	309	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQKGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQANS FPRTFGQGTKVEIK
28	310	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQDIGNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCLOHNSF PPTFGGGGTKVEIK
29	311	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQDIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCLOAISF PFTFGPGTKVDIK
30	312	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDTSNLETGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQAYS LPWTFGQGTKLEIK
31	313	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYASNLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSYTT PYTFGQGTKLEIK
32	314	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSDSFP LTFGQGTKVEIK
33	315	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASFRESGVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVY YCQYYTTPPLTFGGGTKVEIK
34	316	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYASARESVPDRFSGSGSGTDFLTISSLQAEDVAVY YCQYKSAPYTFGQGTKVEIK
35	317	DIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQPEDFATYYCQQSNSFP LTFGPGTKVDIK

Связывающий агент	SEQ ID	VL
36	318	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQISIRHLNHWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYQT PLTFGGGTKVEIK
37	319	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASIRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYY CQQYYSSPFTFGQGTKLEIK
38	320	DIVMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYDASNLHAGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQALQAPVTFGQGTREIK
39	321	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISKYLNHWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNSF PLTFGGGTKLEIK
40	322	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQTVRSYLNHWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQTYR TPLTFGQGTKVEIK

Таблица 6

Связывающий агент	SEQ ID	Последовательность легкой цепи
1	325	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQTDSI PITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
20	326	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASRLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQSYST PLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
23a & 23b	327	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYLASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQSYGIP LTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Таблица 7

Связывающий агент	SEQ ID	Fc мод.	Последовательность тяжелой цепи
1	328	(нет)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMQWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGTYLRTGSSLSGYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
1	329	SE	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMQWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGTYLRTGSSLSGYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
1	330	ER	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMQWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGTYLRTGSSLSGYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRRPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
1	331	SEER	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMQWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGTYLRTGSSLSGYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRRPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
1	332	NA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMQWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGTYLRTGSSLSGYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
1	333	GA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMQWVRQAPGQGLEWMGWINPKSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCARGTYLRTGSSLSGYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

Связывающий агент	SEQ ID	Fc мод.	Последовательность тяжелой цепи
20	334	(нет)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNYWIQWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTRYARNFQGRVTMTRDTSTSTVYME ELSSLRSEDTAVYYCARGRYYYGSGSQYHAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
20	335	GA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNYWIQWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTRYARNFQGRVTMTRDTSTSTVYME ELSSLRSEDTAVYYCARGRYYYGSGSQYHAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
20	336	LALA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNYWIQWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTRYARNFQGRVTMTRDTSTSTVYME ELSSLRSEDTAVYYCARGRYYYGSGSQYHAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
20	337	NA	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNYWIQWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTRYARNFQGRVTMTRDTSTSTVYME ELSSLRSEDTAVYYCARGRYYYGSGSQYHAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
20	338	CS (IgG2)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNYWIQWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTRYARNFQGRVTMTRDTSTSTVYME ELSSLRSEDTAVYYCARGRYYYGSGSQYHAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKSCVECPAPPVAGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKG LPAPIEKISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK
20	339	ER	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTNYWIQWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTRYARNFQGRVTMTRDTSTSTVYME ELSSLRSEDTAVYYCARGRYYYGSGSQYHAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKISKAKGQPRRPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK

Связывающий агент	SEQ ID	Fc мод.	Последовательность тяжелой цепи
23a	340	(нет)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
23a	341	ER	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPRRPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
23a	342	GA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
23a	343	CS	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKSCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
23a	344	LALA	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
23b	345	(нет)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVAVISYDGRIDYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARVRGFSFWFEPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

Как упоминалось выше, связывающий агент может содержать переменную область тяжелой и/или легкой цепи Ig с идентичностью по меньшей мере около 90% (например, по меньшей мере около 91%, по меньшей мере около 92%, по меньшей мере около 93%, по меньшей мере около 94%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98% или по меньшей мере около 99%) с конкретной последовательностью переменной области тяжелой или легкой цепи, представленной в настоящем документе. Аналогичным образом, CDR переменной области тяжелой и/или легкой цепи Ig могут иметь по меньшей мере около 90% идентичности (например, по меньшей мере около 91%, по меньшей мере около 92%, по меньшей мере около 93%, по меньшей мере около 94%, по меньшей мере около по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98% или по меньшей мере около 99% идентичности) конкретной последовательности CDR, представленной в настоящем документе. Таким образом, последовательность переменной области или CDR тяжелой и легкой цепи Ig может содержать по меньшей мере одну (например, 1 или более, 2 или более, 3 или более, 4 или более, 5 или более, 6 или более, 7 или более, 8 или более, 9 или более или 10 или более и т. д., в зависимости от длины последовательности) модификацию аминокислот (например, замену, добавление или делецию) по сравнению со специфическими последовательностями, представленными в настоящем документе, при условии связывания агент сохраняет способность специфически связывать дектин-2, при этом связывающий агент необязательно сохраняет аффинность связывающего агента с указанными последовательностями и/или конкурирует со связывающим агентом, имеющим указанные последовательности, за связывание с дектином-2.

Аминокислоты представленных последовательностей могут быть заменены любой другой аминокислотой. Аминокислоты включают природные α -аминокислоты и их стереоизомеры, а также не природные аминокислоты и их стереоизомеры. «Стереоизомеры» данной аминокислоты относятся к изомерам, имеющим одинаковую молекулярную формулу и внутримолекулярные связи, но отличающиеся трехмерным расположением связей и атомов (например, L-аминокислота и соответствующая D-аминокислота). Аминокислоты могут быть гликозилированы (например, N-связанные гликаны, O-связанные гликаны, фосфогликаны, C-связанные гликаны или глипирование) или дегликозилированы.

Встречающиеся в природе аминокислоты — это аминокислоты, закодированные генетическим кодом, а также те аминокислоты, которые впоследствии модифицированы, например, гидроксипролин, γ -карбоксиглутамат и орфосфосерин. Встречающиеся в

природе α -аминокислоты включают, без ограничения указанным, аланин (Ala), цистеин (Cys), аспарагиновую кислоту (Asp), глутаминовую кислоту (Glu), фенилаланин (Phe), глицин (Gly), гистидин (His), изолейцин (Ile), аргинин (Arg), лизин (Lys), лейцин (Leu), метионин (Met), аспарагин (Asn), пролин (Pro), глутамин (Gln), серин (Ser), треонин (Thr), валин (Val), триптофан (Trp), тирозин (Tyr) и их комбинации. Стереизомеры встречающихся в природе α -аминокислот включают, без ограничения указанным, D-аланин (D-Ala), D-цистеин (D-Cys), даспарагиновую кислоту (D-Asp), D-глутаминовую кислоту (D-Glu), D-фенилаланин (D-Phe), D-гистидин (DHis), D-изолейцин (D-Ile), D-аргинин (D-Arg), D-лизин (D-Lys), D-лейцин (D-Leu), D-метионин (D-Met), D-аспарагин (D-Asn), D-пролин (D-Pro), D-глутамин (D-Gln), D-серин (D-Ser), D-треонин (D-Thr), D-валин (D-Val), D-триптофан (D-Trp), D-тирозин (DTyr) и их комбинации.

Не встречающиеся в природе аминокислоты включают, без ограничений указанным, аналоги аминокислот, миметики аминокислот, синтетические аминокислоты, N-замещенные глицины и N-метиламинокислоты либо в L-, либо в D-конфигурации, которые действуют аналогично природным аминокислотам. Например, «аналоги аминокислот» могут быть неприродными аминокислотами, которые имеют ту же основную химическую структуру, что и встречающиеся в природе аминокислоты (т.е. углерод, связанный с водородом, карбоксильной группой, аминогруппой), но имеют группы модифицированных боковых цепей или модифицированные пептидные каркасы, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид и метионинметилсульфоний. «Аминокислотные миметики» относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, отличную от общей химической структуры аминокислоты, но функционируют аналогично природной аминокислоте.

Аминокислоты могут обозначаться в данном документе либо общеизвестными трехбуквенными обозначениями, либо однобуквенными обозначениями, рекомендованными Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB.

Аминокислотная замена может быть консервативной, полуконсервативной или неконсервативной по отношению к основным свойствам исходного аминокислотного остатка. «Консервативная» замена относится к замене одной аминокислоты другой аминокислотой с общим свойством. Функциональный способ определения общих свойств между отдельными аминокислотами - это анализ нормализованных частот аминокислотных изменений между соответствующими белками гомологичных организмов (Schulz and Schirmer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag, New York (1979)). Согласно такому анализу могут быть определены группы аминокислот, в которых аминокислоты внутри группы предпочтительно обмениваются друг с другом и,

следовательно, больше всего похожи друг на друга по своему влиянию на общую структуру белка (Schulz and Schirmer, см. выше).

Аминокислоты в широком смысле подразделяются на «ароматические» или «алифатические». Ароматическая аминокислота включает ароматическое кольцо. Примеры «ароматических» аминокислот включают гистидин (H или His), фенилаланин (F или Phe), тирозин (Y или Tyr) и триптофан (W или Trp). Неароматические аминокислоты широко классифицируются как «алифатические». Примеры «алифатических» аминокислот включают глицин (G или Gly), аланин (A или Ala), валин (V или Val), лейцин (L или Leu), изолейцин (I или Ile), метионин (M или Met), серин (S или Ser), треонин (T или Thr), цистеин (C или Cys), пролин (P или Pro), глутаминовую кислоту (E или Glu), аспарагиновую кислоту (D или Asp), аспарагин (N или Asn), глутамин (Q или Gln), лизин (K или Lys) и аргинин (R или Arg).

Алифатические аминокислоты можно подразделить на четыре подгруппы. «Большая алифатическая неполярная подгруппа» состоит из валина, лейцина и изолейцина. «Алифатическая слабополярная подгруппа» состоит из метионина, серина, треонина и цистеина. «Алифатическая полярная/заряженная подгруппа» состоит из глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутамина, лизина и аргинина. «Подгруппа небольших остатков» состоит из глицина и аланина. Группа заряженных/полярных аминокислот может быть подразделена на три подгруппы: «положительно заряженная подгруппа», состоящая из лизина и аргинина, «отрицательно заряженная подгруппа», состоящая из глутаминовой кислоты и аспарагиновой кислоты и «полярная подгруппа», состоящая из аспарагина и глутамина.

Ароматические аминокислоты могут быть подразделены на две подгруппы: «подгруппа азотного кольца», состоящая из гистидина и триптофана, и «фенильная подгруппа», состоящая из фенилаланина и тирозина.

Примеры консервативных аминокислотных замен включают замены аминокислот в подгруппах, описанных выше, например, лизин на аргинин и наоборот, так что может сохраняться положительный заряд, глутаминовая кислота на аспарагиновую кислоту и наоборот, так что отрицательный заряд может поддерживаться серин для треонина, так что может поддерживаться свободный -ОН, и глутамин для аспарагина, так что может поддерживаться свободная -NH₂.

«Полуконсервативные мутации» включают аминокислотные замены аминокислот в тех же группах, перечисленных выше, но не в одной и той же подгруппе. Например, замена аспарагиновой кислоты на аспарагин или аспарагина на лизин включает аминокислоты в одной и той же группе, но в разных подгруппах. «Неконсервативные

мутации» включают замены аминокислот между различными группами, например, лизин на триптофан или фенилаланин на серин и т.д.

Кроме того, одна или несколько аминокислот могут быть встроены в вышеупомянутые полипептиды вариабельной области тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина. Любое количество любых подходящих аминокислот может быть вставлено в аминокислотную последовательность полипептида вариабельной области тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина. В этом отношении по меньшей мере одна аминокислота (например, 2 или более, 5 или более или 10 или более аминокислот), но не более 20 аминокислот (например, 18 или менее, 15 или менее или 12 или менее аминокислот) могут быть вставлены в аминокислотную последовательность полипептида вариабельной области тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина. Предпочтительно, 1-10 аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) вставляют в аминокислотную последовательность полипептида вариабельной области тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина. В этом отношении аминокислота(ы) может(гут) быть встроена(ы) в любой из вышеупомянутых полипептидов вариабельной области тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина в любом подходящем месте. В некоторых воплощениях аминокислота(ы) встроена(ы) в CDR (например, CDR1, CDR2 или CDR3) полипептида вариабельной области тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина; в других воплощениях аминокислоты встроены в каркасную область.

Кроме того, предлагается агент, связывающий дектин-2 (например, антитело или фрагмент антитела), который конкурирует со агентом, связывающим дектин-2 (например, антителом или фрагментом антитела), имеющим вариабельную область тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина, специально предусмотренную в настоящем документе (например, один из связывающих агентов, представленных в настоящем документе), и предпочтительно сохраняющих биологическую активность агента, связывающего дектин-2.

«Биологическая активность» агента, связывающего дектин-2, относится, например, к аффинности связывания дектина-2 или конкретного эпитопа дектина-2, к фармакокинетике и перекрестной реактивности (например, с гомологами или ортологами белка дектина-2 нечеловеческого происхождения или с другими белками или тканями). В некоторых воплощениях биологическая активность агента, связывающего дектин-2, включает способность повышать активность дектина-2 *in vivo* и/или *in vitro*. Примеры активности дектина-2 включают повышенную или усиленную экспрессию и/или продуцирование провоспалительных цитокинов, повышенную экспрессию костимулирующих молекул, таких как CD40, CD86 и молекулы главного комплекса

гистосовместимости (МНС), и повышенный фагоцитоз. Примеры провоспалительных цитокинов включают фактор некроза опухоли (TNF) альфа, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL23p19, IFN γ , IL-12p40 и IL-12p70.

Термин «увеличивать» или «усиливать», используемый в отношении активности дектина-2 (например, опосредованной дектином-2 передачи сигналов), означает увеличивать или усиливать такое связывание или передачу сигналов любым способом и в любой степени (например, действовать как агонист). В некоторых воплощениях сигнальный путь, опосредованный дектином-2, усиливается в достаточной степени для уменьшения или облегчения любого симптома заболевания или состояния, связанного с недостаточной активностью дектина-2, или для улучшения активности дектина-2, или для реверсирования, замедления или прекращения прогрессирования или тяжести такого заболевания или состояния. Агент, связывающий дектин-2, по изобретению предпочтительно увеличивает активность дектина-2 по меньшей мере на около 20%, на около 30%, на около 40%, на около 50%, на около 60%, на около 70%, на около 80%, на около 90%, на около 95%, на около 100%, на около 150%, на около 200%, на около 300% или диапазон, определяемый любыми двумя из предыдущих значений, по сравнению с активностью дектина-2 в клетках, экспрессирующих дектин-2, в отсутствие агента дектина-2.

Другие биологические свойства или характеристики антигенсвязывающего агента, признанные в данной области, включают, например, авидность, селективность, растворимость, укладку, иммунотоксичность, экспрессию и состав. Вышеупомянутые свойства или характеристики можно наблюдать, измерять и/или оценивать с использованием стандартных методов, включая, без ограничения указанным, ELISA, конкурентный ELISA, анализ поверхностного плазмонного резонанса (BIAcore™) или KINEXA™, анализы нейтрализации *in vitro* или *in vivo*, анализы связывания рецептор-лиганд, анализы продуцирования и/или секреции цитокинов или факторов роста, а также анализы трансдукции сигнала и иммуногистохимические анализы.

В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2 (например, антитело или фрагмент антитела) увеличивает или усиливает экспрессию дектина-2 в клетках миелоидного происхождения, таких как, например, моноциты, макрофаги и дендритные клетки, по сравнению с экспрессией дектина-2 в клетках миелоидного происхождения, не подвергавшихся воздействию агента, связывающего дектин-2. Это увеличение или усиление экспрессии дектина-2 может привести к усилению врожденного иммунного ответа. Без связи с какой-либо конкретной теорией, известно, что активация сигнального пути дектина-2, например, увеличивает фагоцитарную активность и активирует

сигнальные пути MAPK и NF- κ B, что приводит к продуцированию провоспалительных цитокинов, таких как, например, TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-23p19, IFN γ , IL-12p40 и IL-12p70.

В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2 (например, антитело или фрагмент антитела), проявляет антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC). ADCC представляет собой механизм клеточно-опосредованной иммунной защиты, при котором эффекторная клетка иммунной системы лизирует клетку-мишень, чьи антигены на поверхности мембраны были связаны специфическими антителами. ADCC не зависит от иммунной системы комплемента, которая также лизирует мишени, но не нуждается в каких-либо других клетках и является частью адаптивного иммунного ответа.

В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2 (например, антитело или фрагмент антитела), способствует антителозависимому клеточно-опосредованному фагоцитозу (ADCP). ADCP представляет собой клеточный процесс, посредством которого эффекторные клетки с фагоцитарным потенциалом, такие как моноциты и макрофаги, могут интернализировать клетки-мишени. После фагоцитоза клетка-мишень находится в фагосоме, которая сливается с лизосомой, чтобы начать деградацию клетки-мишени посредством кислородозависимого или независимого механизма. Эта функция зависит от опсонизации или идентификации клетки-мишени с помощью связывающего агента, который затем также служит мостом между клеткой-мишенью и фагоцитирующей клеткой. Механистически, связывающий агент связывает свой когнатный антиген на клетке-мишени через свой домен распознавания антигена, а затем привлекает фагоцитирующую клетку к мишени с помощью своей Fc-области. После связывания с Fc-рецептором фагоцитирующей клетки клетка-мишень поглощается и разрушается. Этот процесс также приводит к выработке эффекторными клетками растворимых факторов, которые помогают инициировать и управлять иммунным ответом.

В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2 (например, антитело или фрагмент антитела), проявляет комплементзависимую цитотоксичность (CDC). CDC представляет собой эффекторную функцию антител IgG и IgM. Когда связывающие агенты связываются с поверхностным антигеном, запускается классический путь комплемента, что приводит к образованию мембраноатакующего комплекса (МАК) и лизису клеток-мишеней.

В некоторых воплощениях связывающие агенты содержат Fc-область, содержащую одну или несколько модификаций (например, аминокислотную вставку, делецию и/или замену) в Fc-участке, что приводит к модулированному связыванию (например,

повышенному связыванию или уменьшенному связыванию) с одним или более Fc-рецепторов (например, FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32A), FcγRIIB (CD32B), FcγRIIA (CD16a) и/или FcγRIIB (CD16b)) по сравнению со связывающим агентом или антителом с нативной Fc-областью, не имеющей мутации. В некоторых воплощениях связывающие агенты содержат одну или несколько модификаций (например, аминокислотную вставку, делецию и/или замену) в Fc-области, которые снижают связывание Fc-области с FcγRIIB. В некоторых воплощениях связывающие агенты содержат одну или несколько модификаций (например, аминокислотную вставку, делецию и/или замену) в Fc-области антитела, которые снижают связывание с FcγRIIB при сохранении такого же связывания или имеют повышенное связывание с FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32A) и/или FcγRIIA (CD16a) по сравнению со связывающим агентом или антителом с нативной Fc-областью, в которой отсутствует мутация. В некоторых воплощениях связывающие агенты содержат одну или несколько модификаций в Fc-области, которые увеличивают связывание Fc-области с FcγRIIB. В некоторых воплощениях модификации существенно снижают или устраняют эффекторные функции антитела.

Мутации Fc-области могут быть в домене CH2, домене CH3 или их комбинации. «Нативная Fc-область» является синонимом «Fc-области дикого типа» и содержит аминокислотную последовательность, которая идентична аминокислотной последовательности Fc-области, встречающейся в природе, или идентична аминокислотной последовательности обнаруженной Fc-области в нативном антителе. Fc-области человека с нативной последовательностью включают Fc-область человеческого IgG1 с нативной последовательностью; Fc-область человеческого IgG2 с нативной последовательностью; Fc-область человеческого IgG3 с нативной последовательностью; и Fc-область человеческого IgG4 с нативной последовательностью, а также их природные варианты. Нативная последовательность Fc включает различные аллотипы Fc (см., например, Jefferis et al., *mAbs*, 1(4): 332-338 (2009)).

В некоторых воплощениях агент, связывающий декстин-2, содержит Fc-область IgG (например, IgG1) или по меньшей мере его домен CH2 (например, химерный Fc, содержащий области CH1, CH2 и CH3 IgG1, но шарнирную область из другого Ig, такие как IgG2). В некоторых воплощениях агент, связывающий декстин-2, содержит одну или несколько из следующих мутаций или групп мутаций: SD (S239D), SDIE (S239D/I332E), SE (S267E), SEER (S267E/E345R), SELF (S267E /L328F), SDIEAL (S239D/I332E/A330L), GA (G236A), ALIE (A330L/I332E), GASDALIE (G236A/S239D/A330L/I332E), V9 (G237D/P238D/P271G/A330R), LALA (L234A /L235A), CS (C219S), NA (N297A) и V11 (G237D/P238D/H268D/P271G/A330R) и/или одну или несколько мутаций в следующих

аминокислотах: E345R, E233, G237, P238, H268, P271, N297, L328 и A330. Вся нумерация относится к нумерации EU для IgG человека (например, IgG1); однако можно использовать одни и те же мутации в соответствующих положениях другого Ig (например, химерного Ig). В воплощении мутация представляет собой SD. В воплощении мутация представляет собой SDIE. В воплощении мутация представляет собой SE. В воплощении мутация представляет собой SELF. В воплощении мутация представляет собой SDIEAL. В воплощении мутация представляет собой GA. В воплощении мутация представляет собой ALIE. В воплощении мутация представляет собой GASDALIE. В воплощении мутация представляет собой V9. В воплощении мутация представляет собой LALA. В воплощении мутация представляет собой CS. В воплощении мутация представляет собой V11. В воплощении мутация представляет собой E345R. В воплощении мутация представляет собой NA. В воплощении мутация представляет собой SEER. В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, содержит Fc-область с мутациями G236A, LALA и/или CS, необязательно, где Fc-область является афукозилированной (т.е. нефукозилированной). В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, содержит Fc-область с одной или несколькими из перечисленных выше мутаций или групп мутаций, при этом Fc-область является афукозилированной. Дополнительные модификации Fc-области для модулирования связывания с рецептором Fc описаны, например, в публ. патентной заявке США 2016/0145350 и пат. США 7416726 и 5624821, которые полностью включены в настоящий документ ссылкой.

В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, описанный в данной заявке (области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 243 и 283). В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, дополнительно содержащий Fc-область. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG2. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию SE. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию E345R. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию SEER. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию NA. В другом воплощении агент,

связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию GA. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1, содержит мутацию GA и также является афукозилированной. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 1, где Fc-область представляет собой IgG1 и является афукозилированной.

В одном воплощении агентом, связывающим дектин-2, является связывающий агент 20, раскрытый в настоящем документе (области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 261 и 302). В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, дополнительно содержащий Fc-область. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG1. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG2. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG1 и является афукозилированной. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию GA. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию LALA. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию NA. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию CS. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG2 и содержит мутацию CS. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область содержит мутацию E345R. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 20, где Fc-область представляет собой IgG1, содержит мутацию GA и также является афукозилированной.

В одном воплощении агентом, связывающим дектин-2, является связывающий агент 23а, раскрытый в настоящем документе (области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 265 и 305). В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, дополнительно содержащий Fc-область. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область представляет собой IgG1. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2,

представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область представляет собой IgG2. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область представляет собой IgG1 и является афукозилированной. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию E345R. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область представляет собой IgG1 и содержит мутацию GA. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область содержит мутацию NA. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область представляет собой IgG1, содержит мутацию GA и также является афукозилированной. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область представляет собой IgG2 и содержит мутацию CS. В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, представляет собой связывающий агент 23а, где Fc-область содержит мутацию LALA. В другом воплощении агентом, связывающим дектин-2, является Связывающий Агент 23b, описанный в настоящем документе (области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 324 и 305), где Fc-область представляет собой IgG1, и где переменная область тяжелой цепи включает мутацию D101E (нумерация Kabat).

В некоторых воплощениях Fc-область связывающих агентов модифицирована таким образом, чтобы иметь измененный характер гликозилирования Fc-области по сравнению с нативной немодифицированной Fc-областью.

Имуноглобулин человека гликозилирован по остатку Asn297 в домене C γ 2 каждой тяжелой цепи. Этот N-связанный олигосахарид состоит из основного гептасахарид, N-ацетилглюкозамин-4-маннозы-3 (GlcNAc4Man3). Известно, что удаление гептасахарида эндогликозидазой или PNGазой F приводит к конформационным изменениям в Fc-области, что может значительно снизить аффинность связывания с активирующим Fc γ R и привести к снижению эффекторной функции. Основным гептасахаридом часто украшен галактозой, разделяющей пополам GlcNAc, фукозу или сиаловую кислоту, которая по-разному влияет на связывание Fc с активирующим и ингибирующим Fc γ R. Кроме того, было продемонстрировано, что α 2,6-сиалирование усиливает противовоспалительную активность *in vivo*, в то время как дефукозилирование приводит к улучшению связывания Fc γ RIIIa и 10-кратному увеличению антителозависимой клеточной цитотоксичности и антителозависимого фагоцитоза. Таким образом, специфические паттерны гликозилирования могут быть использованы для контроля эффекторных воспалительных функций.

В некоторых воплощениях модификация для изменения характера гликозилирования представляет собой мутацию. Например, замена на Asn297. В некоторых воплощениях Asn297 заменяется глутамином (N297Q). Способы контроля иммунного ответа с помощью антител, которые модулируют регулируемую Fc γ R передачу сигналов, описаны, например, в пат. США 7 416 726 и публ. пат. заявки США 2007/0014795 и 2008/0286819, которые полностью включены в настоящий документ ссылкой.

В некоторых воплощениях связывающие агенты модифицированы таким образом, чтобы они содержали сконструированную Fab-область с неприродным характером гликозилирования. Например, гибридомы могут быть генетически сконструированы для секреции афукозилированных mAb, десиаилированных mAb или дегликозилированных Fc со специфическими мутациями, которые обеспечивают повышенное связывание FcR γ IIIa и эффекторную функцию. В некоторых воплощениях связывающие агенты разработаны так, чтобы быть афукозилированными.

В некоторых воплощениях вся Fc-область заменяется другой Fc-областью, так что Fab-область конъюгируется с ненативной Fc-областью. Например, Fab-область атезолизумаба, которая обычно содержит Fc-область IgG1, может быть конъюгирована с IgG2, IgG3, IgG4 или IgA, или Fab-область ниволумаба, которая обычно содержит Fc-область IgG4, может быть конъюгирована с IgG1, IgG2, IgG3, IgA1 или IgG2. В некоторых воплощениях Fc-модифицированный связывающий агент с ненативным доменом Fc также содержит одну или несколько дополнительных аминокислотных модификаций, таких как мутация S228P в Fc IgG4, которые модулируют стабильность описанного домена Fc. В некоторых воплощениях связывающий агент, модифицированный Fc, с ненативным доменом Fc также содержит одну или несколько модификаций аминокислот, описанных в настоящем документе, которые модулируют связывание Fc с FcR.

В некоторых воплощениях модификации, которые модулируют связывание Fc-области с FcR, не изменяют связывание Fab-области с ее антигеном по сравнению с немодифицированным Fab. В других воплощениях модификации, которые модулируют связывание Fc-области с FcR, также увеличивают связывание Fab-области с ее антигеном по сравнению с немодифицированным Fab.

В некоторых воплощениях Fc-область модифицируют путем присоединения или включения рецептора трансформирующего фактора роста бета-1 (TGF β 1) или его фрагмента, который способен связывать TGF β 1. Например, рецептор может представлять собой рецептор TGF β II (TGF β RII) (см. патент 9 676 863, включенный в данную заявку полностью). В некоторых воплощениях рецептор TGF β представляет собой рецептор

TGF β человека. В некоторых воплощениях Fc-область (например, IgG) имеет C-концевое объединение с внеклеточным доменом рецептора TGF β (например, TGF β RII) (ECD; например, аминокислоты 24–159 SEQ ID NO: 9 из пат. США 9 676 863). «Fc-линкер» можно использовать для присоединения внеклеточного домена TGF β R к Fc-области (например, IgG), например, линкер G4S4G. Линкер Fc может быть коротким гибким пептидом, который обеспечивает правильное трехмерное складывание молекулы при сохранении специфичности связывания с мишенями. В некоторых воплощениях N-конец рецептора TGF β объединен с Fc-областью (с линкером Fc или без него). В некоторых воплощениях C-конец тяжелой цепи иммуноглобулина объединен с рецептором TGF β (с линкером Fc или без него), например, на N-конце рецептора TGF β . В некоторых воплощениях C-концевой лизиновый остаток тяжелой цепи антитела мутирован в аланин.

Агент, связывающий дектин-2, может иметь любую подходящую аффинность к белку дектин-2 или его эпитопу. Термин «аффинность» относится к константе равновесия для обратимого связывания двух агентов и выражается как константа диссоциации (KD). Аффинность связывающего агента к лиганду, такая как аффинность антитела к эпитопу, может составлять, например, от около 1 пиколярной (пМ) до около 1 микролярной (μ М) (например, от около 1 пиколярной (пМ) до около 1 нанолярной (нМ) или от около 1 нМ до около 1 микролярной (μ М)). В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, может связываться с человеческим белком дектин-2 с KD, меньшей или равной 1 микролярной (например, 0,9 μ М, 0,8 μ М, 0,7 μ М, 0,6 μ М, 0,5 μ М, 0,4 μ М, 0,3 μ М, 0,2 μ М, 0,1 μ М, 0,05 μ М, 0,025 μ М, 0,01 μ М, 0,001 μ М или диапазону, определяемому любыми двумя из предыдущих значений). В одном воплощении агент, связывающий дектин-2, может связываться с белком дектин-2 человека с KD, меньшей или равной 200 нанолярной (например, 190 нМ, 175 нМ, 150 нМ, 125 нМ, 110 нМ, 100 нМ, 90 нМ, 80 нМ, 75 нМ, 60 нМ, 50 нМ, 40 нМ, 30 нМ, 25 нМ, 20 нМ, 15 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 1 нМ или диапазону, определяемому любыми двумя из предыдущих значений). В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, может связываться с белком дектина-2 человека с KD, меньшей или равной 1 нанолярной (например, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ, 0,05 нМ, 0,025 нМ, 0,01 нМ, 0,001 нМ или диапазону, определяемому любыми двумя из предыдущих значений). В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, может связываться с дектином-2 человека с KD, меньшей или равной 200 пМ (например, 190 пМ, 175 пМ, 150 пМ, 125 пМ, 110 пМ, 100 пМ, 90 пМ, 80 пМ, 75 пМ, 60 пМ, 50 пМ, 40 пМ, 30 пМ, 25 пМ, 20 пМ, 15 пМ, 10 пМ, 5 пМ, 1 пМ или диапазону, определяемому любыми двумя из предыдущих значений).

В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, также связывается с

белком дектина-2 из видов, не являющихся человеком, который полезен для разработки на животных моделях (например, скрининг токсинов и т.п.). В некоторых воплощениях агент, связывающий дектин-2, обладает аффинностью к человеческому дектину-2, как описано выше, а также имеет аффинность к дектину-2 яванского макака или крысы, которая находится в пределах указанных выше диапазонов аффинности к человеческому дектину-2.

Аффинность иммуноглобулина к представляющему интерес антигену или эпитопу можно измерить с помощью любого известного в данной области анализа. Такие способы включают, например, клеточную сортировку с активацией флуоресценции (FACS), разделяемые гранулы (например, магнитные гранулы), поверхностный плазмонный резонанс (SPR), конкуренцию в фазе раствора (KINEXA™), пэннинг антигенов и/или ELISA (см. Janeway et al. (eds.), Immunobiology, 9th Ed., Garland Publishing, New York, NY (2017)). В некоторых воплощениях связывающий агент (например, антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела) обладает аффинностью к человеческому дектину-2, как описано выше, как определено с помощью SPR или как определено с помощью анализа конкуренции в фазе раствора. В некоторых воплощениях связывающий агент (например, антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела) обладает аффинностью к человеческому дектину-2, как описано выше, определенной с помощью ELISA или определенной с помощью FACS.

Нуклеиновые кислоты

Изобретение также относится к нуклеиновым кислотам, которые кодируют полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина и/или полипептид легкой цепи иммуноглобулина агента, связывающего дектин-2.

Предполагается, что термин «последовательность нуклеиновой кислоты» охватывает полимер ДНК или РНК, то есть полинуклеотид, который может быть одноцепочечным или двухцепочечным и который может содержать неприродные или измененные нуклеотиды. Термины «нуклеиновая кислота» и «полинуклеотид», используемые в данном документе, относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины, либо рибонуклеотидов (РНК), либо дезоксирибонуклеотидов (ДНК). Эти термины относятся к первичной структуре молекулы и, таким образом, включают двух- и одноцепочечную ДНК, а также двух- и одноцепочечную РНК. Термины включают, в качестве эквивалентов, аналоги либо РНК, либо ДНК, полученные из аналогов нуклеотидов и модифицированных полинуклеотидов, таких как, без ограничения указанным, метилированные и/или кэпированные полинуклеотиды. Нуклеиновые кислоты обычно связаны фосфатными связями с образованием последовательностей нуклеиновых

кислот или полинуклеотидов, хотя в данной области известны многие другие связи (например, фосфоротиоаты, боранофосфаты и т.п.).

Нуклеиновая кислота может быть частью вектора. Таким образом, также предлагается вектор, содержащий одну или более последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина, полипептид легкой цепи иммуноглобулина или обе цепи агента, связывающего дектин-2. Можно использовать любой тип вектора, особенно экспрессирующий вектор, применимый для экспрессии полипептидов в клетке. Вектор может представлять собой, например, плазмиду, эписому, космиду, вирусный вектор (например, ретровирусный или аденовирусный) или фаг. Подходящие векторы и способы получения векторов хорошо известны в данной области (см., например, Sambrook et al., *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 3rd edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001), и Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, New York, N.Y. (1994)).

Вектор предпочтительно содержит последовательности контроля экспрессии, такие как промоторы, энхансеры, сигналы полиаденилирования, терминаторы транскрипции, внутренние сайты посадки рибосом (IRES) и т.п., которые обеспечивают экспрессию кодирующей последовательности в клетке-хозяине. Типичные последовательности контроля экспрессии известны в данной области и описаны, например, в Goeddel, *Gene Expression Technology: Methods in Enzymology*, Vol. 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990).

Большое количество промоторов, включая конститутивные, индуцируемые и репрессируемые промоторы, из множества различных источников хорошо известно в данной области. Репрезентативные источники промоторов включают, например, вирусы, млекопитающих, насекомых, растения, дрожжи и бактерии, и подходящие промоторы из этих источников легко доступны или могут быть получены синтетическим путем на основе общедоступных последовательностей, например, из депозитариев, таких как Американская коллекция типовых культур (ATCC), а также другие коммерческие или индивидуальные источники. Промоторы могут быть однонаправленными (т.е. инициировать транскрипцию в одном направлении) или двунаправленными (т.е. инициировать транскрипцию либо в 3', либо в 5' направлениях). Неограничивающие примеры промоторов включают, например, систему бактериальной экспрессии T7, систему бактериальной экспрессии pBAD (araA), промотор цитомегаловируса (CMV), промотор SV40, промотор RSV. Индуцибельные промоторы включают, например, систему Tet (пат. США 5 464 758 и 5 814 618), систему, индуцируемая экдизоном (No et

al., Proc. Natl. Acad. Sci., 93: 3346-3351 (1996)), систему T-REX™ (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния), систему LACSWITCH™ (Stratagene, Сан-Диего, Калифорния) и систему рекомбиназы, индуцируемую тамоксифеном Cre-ERT (Indra et al., Nuc. Acid. Res., 27: 4324-4327 (1999); Nuc. Acid. Res., 28: e99 (2000); пат. США 7 112 715; и Kramer & Fussenegger, Methods Mol. Biol., 308: 123-144 (2005)).

Термин «энхансер», используемый в данном документе, относится к последовательности ДНК, которая увеличивает транскрипцию, например, последовательности нуклеиновой кислоты, с которой она функционально связана. Энхансеры могут располагаться на расстоянии многих тысяч пар оснований от кодирующей области последовательности нуклеиновой кислоты и могут опосредовать связывание регуляторных факторов, модели метилирования ДНК или изменения в структуре ДНК. Большое количество энхансеров из множества различных источников хорошо известно в данной области и доступно в виде клонированных полинуклеотидов или внутри клонированных полинуклеотидов (например, из депозитариев, таких как АТСС, а также из других коммерческих или индивидуальных источников). Ряд полинуклеотидов, содержащих промоторы (такие как обычно используемый промотор CMV), также содержат энхансерные последовательности. Энхансеры могут быть расположены выше, внутри или ниже кодирующих последовательностей.

Вектор также может содержать «селектируемый маркерный ген». Термин «селектируемый маркерный ген», используемый в данном документе, относится к последовательности нуклеиновой кислоты, которая позволяет клеткам, экспрессирующим последовательность нуклеиновой кислоты, быть специфически отобранными в присутствии соответствующего селективного агента или против соответствующего селективного агента. Подходящие селективные маркерные гены известны в данной области и описаны, например, в публикациях международных патентных заявок WO 1992/008796 и WO 1994/028143; Wigler et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 3567-3570 (1980); O'Hare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 1527-1531 (1981); Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 2072-2076 (1981); Colberre-Garapin et al., J. Mol. Biol., 150: 1-14 (1981); Santerre et al., Gene, 30: 147-156 (1984); Kent et al., Science, 237: 901-903 (1987); Wigler et al., Cell, 11: 223-232 (1977); Szybalska & Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 48: 2026-2034 (1962); Lowy et al., Cell, 22: 817-823 (1980); и пат. США 5 122 464 и 5 770 359.

В некоторых воплощениях вектор представляет собой «эписомальный экспрессирующий вектор» или «эписому», который способен реплицироваться в клетке-хозяине и сохраняется в виде внехромосомного сегмента ДНК в клетке-хозяине в присутствии соответствующего селективного давления (см. например, Conese et al., Gene

Therapy, 11: 1735-1742 (2004)). Репрезентативные коммерчески доступные эписомальные экспрессирующие векторы включают, без ограничения указанным, эписомальные плазмиды, которые используют ядерный антиген 1 Эпштейна-Барр (EBNA1) и точку начала репликации вируса Эпштейна-Барр (EBV) (oriP). Векторы pREP4, pCEP4, pREP7 и pcDNA3.1 от Invitrogen (Карлсбад, Калифорния) и pBK-CMV от Stratagene (Ла-Хойя, Калифорния) представляют собой неограничивающие примеры эписомального вектора, который использует Т-антиген и источник SV40 из репликации вместо EBNA1 и oriP.

Другие подходящие векторы включают интегрирующие экспрессирующие векторы, которые могут случайным образом интегрироваться в ДНК клетки-хозяина или могут включать сайт рекомбинации для обеспечения специфической рекомбинации между экспрессирующим вектором и хромосомой клетки-хозяина. Такие интегрирующие экспрессирующие векторы могут использовать эндогенные последовательности контроля экспрессии хромосом клетки-хозяина для осуществления экспрессии желаемого белка. Примеры векторов, которые интегрируются сайт-специфическим образом, включают, например, компоненты системы flp-in от Invitrogen (Карлсбад, Калифорния) (например, pcDNATM5/FRT) или систему cre-lox, например, обнаружен в основных векторах pExchange-6 от Stratagene (Ла-Хойя, Калифорния). Примеры векторов, которые случайным образом интегрируются в хромосомы клетки-хозяина, включают, например, pcDNA3.1 (при введении в отсутствие Т-антигена) от Invitrogen (Карлсбад, Калифорния), UCOE от Millipore (Биллерика, Массачусетс) и pCI или pFN10A (ACT) FLEXITM от Promega (Мэдисон, Висконсин).

Также можно использовать вирусные векторы. Репрезентативные коммерчески доступные вирусные экспрессирующие векторы включают, без ограничения указанным, систему Peg.S6 на основе аденовируса, доступную у Scuzell, Inc. (Лейден, Нидерланды), rLP1 на основе лентивирусов от Invitrogen (Карлсбад, Калифорния) и ретровирусные векторы pFB-ERV плюс pCFB-EGSH от Stratagene (Ла-Хойя, Калифорния).

Клетки

Последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие последовательности тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина, могут быть введены в клетку на одном и том же векторе (т.е. в цис-положении). Однонаправленный промотор можно использовать для контроля экспрессии каждой последовательности нуклеиновой кислоты. В другом воплощении комбинацию двунаправленных и однонаправленных промоторов можно использовать для контроля экспрессии нескольких последовательностей нуклеиновых кислот. Последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие аминокислотные последовательности изобретения, альтернативно могут быть предоставлены популяции

клеток на отдельных векторах (т.е. *in trans*). Каждая из последовательностей нуклеиновых кислот в каждом из отдельных векторов может содержать одинаковые или разные последовательности контроля экспрессии. Отдельные векторы можно вводить в клетки одновременно или последовательно.

Вектор(ы), содержащий(ие) нуклеиновую(ые) кислоту(ы), кодирующую(ие) аминокислотные последовательности изобретения, можно вводить в клетку-хозяин, которая способна экспрессировать кодируемые ими полипептиды, включая любую подходящую прокариотическую или эукариотическую клетку. Таким образом, изобретение обеспечивает *in vitro* (выделенную) клетку или клеточную линию, содержащую вектор по изобретению, который экспрессирует полипептиды тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина. Предпочтительными клетками-хозяевами являются клетки, которые можно легко и надежно выращивать, которые имеют достаточно высокие темпы роста, которые имеют хорошо охарактеризованные системы экспрессии и могут быть легко и эффективно трансформированы или трансфицированы.

Примеры подходящих прокариотических клеток включают, без ограничения указанным, клетки из родов *Bacillus* (такие как *Bacillus subtilis* и *Bacillus brevis*), *Escherichia* (такие как *E. coli*), *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Salmonella* и *Erwinia*. Особенно полезные прокариотические клетки включают различные штаммы *Escherichia coli* (например, K12, HB101 (ATCC № 33694), DH5 α , DH10, MC1061 (ATCC No. 53338) и CC102).

Предпочтительно вектор вводят в эукариотическую клетку. Подходящие эукариотические клетки известны в данной области и включают, например, дрожжевые клетки, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Примеры подходящих дрожжевых клеток включают клетки из родов *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhino-sporidium*, *Saccharomyces* и *Schizosaccharomyces*. Предпочтительные дрожжевые клетки включают, например, *Saccharomyces cerevisiae* и *Pichia pastoris*.

Подходящие клетки насекомых описаны, например, в Kitts et al., *Biotechniques*, 14: 810-817 (1993); Lucklow, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 4: 564-572 (1993); и Lucklow et al., *J. Virol.*, 67: 4566-4579 (1993). Предпочтительные клетки насекомых включают Sf-9 и HI5 (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния).

Предпочтительно в изобретении используют клетки млекопитающих. Ряд подходящих клеток-хозяев млекопитающих известен в данной области, и многие из них доступны в ATCC. Примеры подходящих клеток млекопитающих включают, без ограничения указанным, клетки яичника китайского хомячка (CHO), такие как клетки CHO-K1 (ATCC No. CCL61), DHFR-клетки CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,

97: 4216-4220 (1980)), клетки эмбриональной почки человека (НЕК) 293 или 293Т (АТСС No. CRL1573) и клетки 3Т3 (АТСС No. CCL92). Другими подходящими клеточными линиями млекопитающих являются линии клеток обезьян COS-1 (АТСС No. CRL1650) и COS-7 (АТСС No. CRL1651), а также линия клеток CV-1 (АТСС No. CCL70). Другие примерные клетки-хозяева млекопитающих включают клеточные линии приматов и клеточные линии грызунов, включая трансформированные клеточные линии. Также подходят нормальные диплоидные клетки, клеточные линии, полученные из культуры первичной ткани *in vitro*, а также первичные эксплантаты. Другие подходящие линии клеток млекопитающих включают, без ограничения указанным, клетки нейробластомы N2A мыши, HeLa, клетки L-929 мыши и линии клеток хомяка ВНК или НаК, все из которых доступны в АТСС. Подходящие клеточные линии также включают гибридомы. Способы выбора подходящих клеток-хозяев млекопитающих и способы трансформации, культивирования, амплификации, скрининга и очистки клеток известны в данной области.

Клетка млекопитающего может быть клеткой человека. Например, клетка млекопитающего может представлять собой человеческую лимфоидную клеточную линию или клеточную линию, полученную из лимфоидной ткани, такую как клеточная линия пре-В-лимфоцитарного происхождения. Примеры линий лимфоидных клеток человека включают, без ограничения указанным, RAMOS (CRL-1596), Daudi (CCL-213), EB-3 (CCL-85), DT40 (CRL-2111), 18-81 (Jack et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 1581-1585 (1988)), клетки Raji (CCL-86) и их производные.

Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая аминокислотную последовательность изобретения, может быть введена в клетку путем «трансфекции», «трансформации» или «трансдукции». «Трансфекция», «трансформация» или «трансдукция» в контексте настоящего документа относятся к введению одного или нескольких экзогенных полинуклеотидов в клетку-хозяина с использованием физических или химических способов. В данной области известны многие методы трансфекции, в том числе, например, копреципитацию ДНК с фосфатом кальция (см., например, Murray E.J. (ed.), *Methods in Molecular Biology*, Vol. 7, *Gene Transfer and Expression Protocols*, Humana Press (1991)); DEAE-dextran; electroporation; cationic liposome-mediated transfection; tungsten particle-facilitated microparticle bombardment (Johnston, *Nature*, 346: 776-777 (1990)); и копреципитацию ДНК с фосфатом стронция (Brash et al., *Mol. Cell Biol.*, 7: 2031-2034 (1987)). Фаговые или вирусные векторы могут быть введены в клетки-хозяева после выращивания инфекционных частиц в подходящих упаковочных клетках, многие из которых имеются в продаже.

Композиции

В изобретении предлагается композиция, включающая агент, связывающий дектин-2, или нуклеиновую(ые) кислоту(ы), кодирующую(ие) этот белок, необязательно, в векторе. Предпочтительно композиция представляет собой фармацевтически приемлемую (например, физиологически приемлемую) композицию, которая содержит носитель, предпочтительно фармацевтически приемлемый (например, физиологически приемлемый) носитель, и агент, связывающий дектин-2, или кодирующую(ие) его нуклеиновую(ые) кислоту(ы). В контексте изобретения можно использовать любой подходящий носитель, и такие носители хорошо известны в данной области техники. Выбор носителя будет частично определяться конкретным местом, в которое можно вводить композицию, и конкретным способом, используемым для введения композиции. Композиция необязательно может быть стерильной. Композиция может быть заморожена или лиофилизована для хранения и восстановлена в подходящем стерильном носителе перед использованием. Композиции могут быть получены в соответствии с обычными способами, описанными, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2001).

Композиция может быть составлена для парентерального введения, такого как внутривенное введение или введение в полость тела или просвет органа. Альтернативно, композицию можно вводить внутриопухолевой инъекцией. Композиции для инъекций обычно содержат активный ингредиент, растворенный или суспендированный в фармацевтически приемлемом носителе. В число приемлемых носителей и растворителей, которые можно использовать, входят вода и изотонический раствор одной или нескольких солей, таких как хлорид натрия, например, раствор Рингера. Кроме того, стерильные нелетучие масла обычно можно использовать в качестве растворителя или суспендирующей среды. Для этой цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моноглицериды или диглицериды. Кроме того, жирные кислоты, такие как олеиновая кислота, также могут быть использованы при приготовлении препаратов для инъекций. Желательно, чтобы эти композиции были стерильными и, как правило, не содержали нежелательных веществ. Эти композиции можно стерилизовать обычными, хорошо известными методами стерилизации. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как агенты, регулирующие pH и буферные агенты, агенты, регулирующие токсичность, например, ацетат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, лактат натрия и т.п.

Композиция может содержать любую подходящую концентрацию агента,

связывающего дектин-2, или нуклеиновую(ые) кислоту(ы), кодирующую(ие) этот белок, необязательно в векторе, в некоторых воплощениях, концентрацию, эффективную для индукции терапевтического ответа. Концентрация может варьировать в широких пределах и будет выбираться в первую очередь на основе объемов жидкости, вязкости, массы тела и т.п., в соответствии с выбранным конкретным способом введения и потребностями пациента. В некоторых воплощениях концентрация полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина по настоящему изобретению, полипептида легкой цепи иммуноглобулина по настоящему изобретению, агента, связывающего дектин-2, по настоящему изобретению, последовательности нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, кодирующей любое из вышеперечисленного, или вектора по настоящему изобретению, содержащего последовательность нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению в составе раствора для инъекций будет варьировать от около 0,1% (масс/масс) до около 10% (масс/масс).

Методы

Представленные в данном документе агенты, связывающие дектин-2, можно использовать для любой подходящей цели. Например, агенты, связывающие дектин-2, могут агонистически связывать клетки, экспрессирующие дектин-2, и использоваться для активации или усиления в них передачи сигнала дектина-2 (например, в терапевтических целях). Соответственно, один аспект раскрытия обеспечивает способ лечения заболевания, состояния или расстройства, респонсивного на активацию и/или усиление передачи сигналов дектина-2 у млекопитающего путем введения агента, связывающего дектин-2, или композиции, включающей его, как описано в данной заявке, млекопитающему.

В некоторых воплощениях агенты, связывающие дектин-2, могут стимулировать антигенпрезентирующую клетку (АПК). Стимуляция может происходить путем контакта АПК с агентом, связывающим дектин-2, в дозе и в течение периода времени, достаточных для усиления передачи сигнала дектина-2 в APC, что приводит к получению стимулированных АПК. В некоторых воплощениях АПК представляет собой клетку миелоидного происхождения. Примеры клеток миелоидного происхождения включают моноциты, макрофаги и дендритные клетки. В некоторых воплощениях стимулированные АПК продуцируют по меньшей мере один провоспалительный цитокин, примеры которого включают фактор некроза опухоли альфа, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-23p19, IFN γ , IL-12p40 и IL-12p70. В некоторых воплощениях стимулированные АПК демонстрируют повышенный фагоцитоз по сравнению с АПК, которые не контактировали с агентом, связывающим дектин-2. В некоторых воплощениях стимулированная АПК контактирует с

раковым антигеном для получения АПК, контактировавшей с антигеном. Раковый антиген может, например, присутствовать в лизате раковых клеток или быть частью раковой клетки. Лизат раковых клеток или раковые клетки могут быть взяты или получены из индивидуума. В некоторых воплощениях у индивидуума имеется рак.

В некоторых воплощениях стимулированную АПК или АПК, контактировавшую с антигеном, вводят индивидууму. В воплощениях, в которых антиген, используемый для контакта с АПК, берется или происходит из индивидуума для получения АПК, контактировавшей с антигеном, где АПК, контактировавшая с антигеном, может быть введена индивидууму. Такие стимулированная АПК или АПК, контактировавшая с антигеном, могут быть аутологичными для индивидуума.

В некоторых воплощениях АПК, контактировавшая с антигеном, контактирует с Т-клеткой. Т-клетка может быть введена человеку. Т-клетка и АПК, контактировавшая с антигеном, с которым контактирует Т-клетка, могут быть аутологичными для индивидуума. В некоторых воплощениях у индивидуума имеется рак.

Используемые в данном документе термины «лечить», «лечение» и «проводить лечение» относятся к любым показателям успеха лечения или облегчения травмы, патологии, состояния (например, рака) или симптома, включая любые объективные или субъективные параметры, такие как уменьшение выраженности симптомов; ремиссия; ослабление симптомов или улучшение переносимости симптома, травмы, патологии или состояния; снижение скорости прогрессирования симптомов; уменьшение частоты или продолжительности симптома или состояния; или, в некоторых ситуациях, предотвращение появления симптома. Лечение или облегчение симптомов может быть основано на любом объективном или субъективном параметре, включая, например, результат медицинского осмотра.

Термины «уменьшать» или «облегчать», используемые в данном документе в отношении активности агента, связывающего дектин-2, относятся к способности существенно запрещать, предотвращать, ограничивать, замедлять, нарушать, изменять, устранять, останавливать или обращать прогрессирование или тяжесть заболевания или состояния (например, например, рака), связанных с белком дектин-2.

Термины «рак», «новообразование» и «опухоль» используются в данном документе для обозначения клеток, которые демонстрируют автономный, нерегулируемый рост, так что клетки демонстрируют аберрантный фенотип роста, характеризующийся значительной потерей контроля над клеточной пролиферацией. Клетки, представляющие интерес для обнаружения, анализа и/или лечения в контексте изобретения, включают раковые клетки (например, раковые клетки из индивидуума с раковым заболеванием),

злокачественные опухолевые клетки, предметатические раковые клетки, метастатические раковые клетки и не-метастатические раковые клетки. Раковые опухоли известны практически для каждой ткани. Фраза «опухолевая нагрузка» относится к количеству раковых клеток или объему раковой опухоли у субъекта. Уменьшение опухолевой нагрузки соответственно относится к уменьшению количества раковых клеток или объема раковых клеток у субъекта. Термин «раковая клетка», используемый в настоящем документе, относится к любой клетке, которая является раковой клеткой (например, из любого из видов раковых опухолей, от которых можно лечить индивидуума, например, выделенной из индивидуума с раком) или полученной из раковой клетки, например, клона раковой клетки. Например, раковая клетка может происходить из сформированной линии раковых клеток, может быть первичной клеткой, выделенной от индивидуума со раковой опухолью, может быть клеткой-потомком первичной клетки, выделенной от индивидуума со раковой опухолью, и т.п. В некоторых воплощениях термин также может относиться к части раковой клетки, такой как субклеточная часть, часть клеточной мембраны или клеточный лизат раковой клетки. Специалистам в данной области известны многие типы раковых опухолей, включая солидные опухоли, такие как карциномы, саркомы, глиобластомы, меланомы, лимфомы и миеломы, и циркулирующие виды рака, такие как лейкозы.

Используемый в данном документе термин «рак» включает любую форму рака, включая, без ограничения указанным, солидные опухоли (например, рак кожи, легких, предстательной железы, молочной железы, желудка, мочевого пузыря, толстой кишки, яичников, поджелудочной железы, почек, печени, глиобластома, медуллобластома, лейомиосаркома, плоскоклеточный рак головы и шеи, меланому и нейроэндокринный рак) и гемобласты (например, гематологические раки); карциномы; опухоли мягких тканей; саркомы; тератомы; меланомы; лейкозы; лимфомы; и рак головного мозга, включая минимальное остаточное заболевание, включая как первичные, так и метастатические опухоли.

Любой рак, на который можно воздействовать клетками, экспрессирующими дектин-2, является подходящим раком для лечения способами и композициями по настоящему изобретению. Используемый в данном документе термин «экспрессия дектина-2» относится к клетке, которая имеет рецептор дектина-2 на поверхности клетки.

Карциномы – это злокачественные новообразования, возникающие в эпителиальных тканях. Эпителиальные клетки покрывают наружную поверхность тела, выстилают внутренние полости и образуют выстилку железистой ткани. Примеры карцином включают, без ограничения указанным, аденокарциному (рак, который

начинается в железистых (секреторных) клетках, таких как рак молочной железы, поджелудочной железы, легких, предстательной железы, желудка, желудочно-пищеводного перехода и толстой кишки); аденокарциному; гепатоцеллюлярную карциному; карциному почек; рак яичников; карциному *in situ*; протоковую карциному; карциному молочной железы; базально-клеточную карциному; плоскоклеточную карциному (например, плоскоклеточную карциному головы и шеи); переходно-клеточную карциному; карциному ободочной кишки; карциному носоглотки; мультилокулярную кистозную почечно-клеточную карциному; овсяно-клеточную карциному; крупноклеточную карциному легкого; мелкоклеточную карциному легкого; немелкоклеточную карцинома легкого; и т.п. Карциномы могут быть обнаружены в предстательной железе, поджелудочной железе, ободочной кишке, головном мозге (обычно в виде вторичных метастазов), легком, молочной железе и коже.

Опухоли мягких тканей представляют собой очень разнообразную группу редких опухолей, происходящих из соединительной ткани. Примеры опухолей мягких тканей включают, без ограничения указанным, альвеолярную саркому мягких тканей; ангиоматозную фиброзную гистиоцитому; хондромиксоидную фиброму; скелетную хондросаркому; внескелетную миксоидную хондросаркому; светлоклеточную саркому; десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль; взрывающаяся дерматофибросаркому; эндометриальную стромальную опухоль; Саркому Юинга; фиброматоз (десмоид); инфантильную фибросаркому; гастроинтестинальную стромальную опухоль; костную гигантоклеточную опухоль; теносиновиальную гигантоклеточную опухоль; воспалительную миофибробластную опухоль; лейомиому матки; лейомиосаркому; липобластому; типичную липому; веретенноклеточную или плеоморфную липому; атипичную липому; хондронную липому; высокодифференцированную липосаркому; миксоидную/круглоклеточную липосаркому; плеоморфную липосаркому; миксоидную злокачественную фиброзную гистиоцитому; злокачественную фиброзную гистиоцитому высокой степени злокачественности; миксофибросаркому; злокачественную опухоль оболочек периферических нервов; мезотелиому; нейробластому; остеохондрому; остеосаркому; примитивную нейроэктодермальную опухоль; альвеолярную рабдомиосаркому; эмбриональную рабдомиосаркому; доброкачественную или злокачественную шванному; синовиальную саркому; опухоль Эвана; узелковый фасцит; фиброматоз десмоидного типа; солитарную фиброзную опухоль; взрывающую дерматофибросаркому (DFSP); ангиосаркому; эпителиоидную гемангиоэндотелиому; теносиновиальную гигантоклеточную опухоль (TGCT); пигментный villonodularный синовит (PVNS); фиброзную дисплазию; миксофибросаркому; фибросаркому;

синовиальную саркому; злокачественную опухоль оболочек периферических нервов; нейрофибромому; плеоморфную аденому мягких тканей; и новообразования, происходящие из фибробластов, миофибробластов, гистиоцитов, сосудистых клеток/эндотелиальных клеток и клеток оболочек нервов.

Саркома представляет собой редкий тип рака, который возникает в клетках мезенхимального происхождения, например, в костях или мягких тканях тела, включая хрящи, жир, мышцы, кровеносные сосуды, фиброзную ткань или другую соединительную или поддерживающую ткань. Различные типы саркомы основаны на том, где формируется рак. Например, остеосаркома образуется в костях, липосаркома — в жире, а рабдомиосаркома — в мышцах. Примеры сарком включают, без ограничения указанным, опухоль Аскина; ботриоидную саркому; хондросаркому; саркому Юинга; злокачественную гемангиоэндотелиому; злокачественную шванному; остеосаркому; и саркомы мягких тканей (например, альвеолярную саркому мягких тканей; ангиосаркому; филоидную цистосаркому, взрывающую дерматофибросаркому (DFSP); десмоидную опухоль; десмопластическую мелкоклеточную опухоль; эпителиоидную саркому; экстраскелетную хондросаркому; экстраскелетную остеосаркому; фибросаркому; гастроинтестинальную стромальную опухоль (GIST); гемангиоперицитому; гемангиосаркому (чаще называемую «ангиосаркомой»); саркому Капоши; лейомиосаркому; липосаркому; лимфангиосаркому; злокачественную опухоль оболочек периферических нервов (MPNST); нейрофибросаркому; синовиальную саркому; и недифференцированную плеоморфную саркому).

Тератома представляет собой тип опухоли зародышевых клеток, которая может содержать несколько различных типов тканей (например, может включать ткани, происходящие из любого и/или всех трех зародышевых листков: энтодермы, мезодермы и эктодермы), включая, например, волосы, мышцы и кости. Тератомы чаще всего возникают в яичниках у женщин, яичках у мужчин и копчике у детей.

Меланома — это форма рака, который начинается в меланоцитах (клетках, вырабатывающих пигмент меланин). Меланома может начаться в родинке (меланома кожи), но также может начаться в других пигментированных тканях, таких как глаза или кишечник.

Карцинома из клеток Меркеля — это редкий тип рака кожи, который обычно проявляется в виде узелка телесного или голубовато-красного цвета. Часто появляется на лице, голове или шее. Карциному из клеток Меркеля также называют нейроэндокринной карциномой кожи. В некоторых воплощениях карцинома из клеток Меркеля дает метастазы при введении.

Лейкозы — это виды рака, которые начинаются в кроветворных тканях, таких как костный мозг, и вызывают образование большого количества аномальных клеток крови, которые попадают в кровоток. Например, лейкозы могут возникать в клетках костного мозга, которые обычно созревают в кровотоке. Лейкозы называются по скорости развития и прогрессирования заболевания (например, острая или хроническая) и по типу пораженных лейкоцитов (например, миелоидные или лимфоидные). Миелоидные лейкозы также называют миелогенными или миелобластными лейкозами. Лимфоидные лейкозы также называют лимфобластными или лимфоцитарными лейкозами. Клетки лимфоидного лейкоза могут скапливаться в лимфатических узлах, которые могут опухать. Примеры лейкозов включают, без ограничения указанным, острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) и хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ).

Лимфомы — это раки, который начинается в клетках иммунной системы. Например, лимфомы могут возникать из клеток костного мозга, которые в норме созревают в лимфатической системе. Существуют две основные категории лимфом. Одной из категорий лимфом является лимфома Ходжкина (ЛХ), которая характеризуется наличием клеток, называемых клетками Рида-Штернберга. В настоящее время существует 6 признанных типов ЛХ. Примеры лимфом Ходжкина включают классическую лимфому Ходжкина (КЛХ) с узловым склерозом, КЛХ со смешанной клеточностью, КЛХ с истощением лимфоцитов, КЛХ с высоким содержанием лимфоцитов и ЛХ с преобладанием узловых лимфоцитов.

Другой категорией лимфомы являются неходжкинские лимфомы (НХЛ), которые включают в себя большую и разнообразную группу раков клеток иммунной системы. Неходжкинские лимфомы можно разделить на виды раков с индолентным (медленно растущим) течением и раков с агрессивным (быстрорастущим) течением. В настоящее время существует 61 признанный тип НХЛ. Примеры неходжкинских лимфом включают, без ограничения указанным, лимфомы, связанные со СПИДом, анапластическую крупноклеточную лимфому, ангиоиммунобластную лимфому, бластную НК-клеточную лимфому, лимфому Беркитта, Беркиттоподобную лимфому (мелкоклеточную лимфому с нерасщепленными клетками), хронический лимфолейкоз/малую лимфоцитарную лимфому, кожную Т-клеточную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, Т-клеточную лимфому энтеропатического типа, фолликулярную лимфому, гепатолиенальную гамма-дельта Т-клеточную лимфому, Т-клеточный лейкоз, лимфобластную лимфому, мантийную лимфому, клеточную лимфому, лимфому маргинальной зоны, назальную Т-клеточную лимфому, педиатрическую лимфому,

периферические Т-клеточные лимфомы, первичную лимфому центральной нервной системы, трансформированные лимфомы, связанные с лечением Т-клеточные лимфомы и макроглобулинемию Вальденстрема.

Рак головного мозга включает любой рак тканей головного мозга. Примеры рака головного мозга включают, без ограничения указанным, глиомы (например, глиобластомы, астроцитомы, олигодендроглиомы, эпендимомы и т.п.), менингиомы, аденомы гипофиза и вестибулярные шванномы, примитивные нейроэктодермальные опухоли (медуллобластомы).

К «патологии» рака относятся все явления, которые ставят под угрозу самочувствие больного. Они включают, помимо прочего, аномальный или неконтролируемый рост клеток, метастазирование, нарушение нормального функционирования соседних клеток, высвобождение цитокинов или других секреторных продуктов на аномальных уровнях, подавление или обострение воспалительного или иммунологического ответа, неоплазию, предраковое состояние, злокачественное новообразование и инвазию в окружающие или отдаленные ткани или органы, такие как лимфатические узлы.

Используемые в данном документе фразы «рецидив рака» и «рецидив опухоли» и их грамматические варианты относятся к дальнейшему росту неопластических или раковых клеток после диагностики рака. В частности, рецидив может произойти, когда в раковой ткани происходит дальнейший рост раковых клеток. «Распространение опухоли» также происходит, когда клетки опухоли диссеминируют в местные или отдаленные ткани и органы, следовательно, распространение опухоли включает в себя метастазы опухоли. «Опухолевая инвазия» происходит, когда рост опухоли распространяется локально, нарушая функцию пораженных тканей путем сжатия, разрушения или предотвращения нормальной функции органа.

Используемый в данном документе термин «метастаз» относится к росту раковой опухоли в органе или части тела, которые не связаны напрямую с органом исходной раковой опухоли. Под метастазами следует понимать микрометастазы, которые представляют собой наличие неопределяемого количества раковых клеток в органе или части тела, которые не связаны непосредственно с органом исходной раковой опухоли. Метастаз также может быть определен как несколько стадий процесса, таких как уход раковых клеток из первоначального очага опухоли и миграция и/или инвазия раковых клеток в другие части тела.

Используемые в данном документе фразы «эффективное количество» и «терапевтически эффективное количество» относятся к дозе вещества, такого как

связывающий агент, который оказывает терапевтический эффект, для которого его вводят. Точная доза будет зависеть от цели лечения и может быть определена специалистом в данной области с использованием известных методов (см., например, Lieberman, *Pharmaceutical Dosage Forms* (vols. 13, 1992); Lloyd, *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding* (1999); Pickar, *Dosage Calculations* (1999); Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition (McGraw-Hill, 2006); и Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 22nd Edition, (Pharmaceutical Press, London, 2012)).

Используемые в настоящем документе термины «реципиент», «индивидуум», «субъект», «хозяин» и «пациент» используются взаимозаменяемо и относятся к любому объекту-млекопитающему, для которого желательна диагностика, лечение или терапия (например, к людям). «Млекопитающее» для целей лечения относится к любому животному, классифицируемому как млекопитающее, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также животных зоопарка, спортивных животных или животных-компаньонов, таких как собаки, лошади, кошки, коровы, овцы, козы, свиньи, верблюды, и т.д. В определенных воплощениях млекопитающее является человеком.

Используемый в данном документе термин «введение» относится к парентеральному, внутривенному, внутрибрюшному, внутримышечному, внутриопухолевому, внутриочаговому, интраназальному или подкожному введению, пероральному введению, введению в виде суппозитория, местному контакту, интратекальному введению или имплантации устройства с медленным высвобождением, например, миниосмотического насоса, субъекту.

Введение композиции, содержащей полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина по настоящему изобретению, полипептид легкой цепи иммуноглобулина по настоящему изобретению, агент, связывающий дектин-2, по настоящему изобретению, последовательность нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, кодирующую любое из вышеперечисленного, или вектор по настоящему изобретению, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, индуцирует иммунный ответ против рака у млекопитающих. «Иммунный ответ» может повлечь за собой, например, активацию (индукцию) одного или нескольких связанных с дектином-2 путей (передачи сигналов) в клетках, экспрессирующих дектин-2, что может привести к экспрессии провоспалительных цитокинов и/или увеличению фагоцитоза в клетках, экспрессирующих дектин-2.

Способы изобретения включают введение «терапевтически эффективного количества» связывающего агента. «Терапевтически эффективное количество» относится

к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса индивидуума, а также способности связывающего агента вызывать желаемый ответ у индивидуума. Например, терапевтически эффективное количество связывающего агента по изобретению представляет собой количество, усиливающее иммунный ответ против рака.

Альтернативно, фармакологический и/или физиологический эффект может быть профилактическим, т.е. эффект полностью или частично предотвращает заболевание или его симптом. В этом отношении способ изобретения включает введение «профилактически эффективного количества» связывающего агента. «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого профилактического результата (например, предотвращения начала заболевания).

Типичная доза может составлять, например, от 1 пг/кг до 20 мг/кг массы тела животного или человека; однако дозы ниже или выше этого примерного диапазона входят в объем изобретения. Суточная доза для парентерального введения может составлять от около 0,00001 мкг/кг до около 20 мг/кг общей массы тела (например, около 0,001 мкг/кг, около 0,1 мкг/кг, около 1 мкг/кг, около 5 мкг/кг, около 10 мг/кг, около 100 мкг/кг, около 500 мкг/кг, около 1 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг или диапазон, определяемый любыми двумя из предыдущих значений), предпочтительно от около от 0,1 мкг/кг до около 10 мг/кг общей массы тела (например, около 0,5 мкг/кг, около 1 мкг/кг, около 50 мкг/кг, около 150 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 750 мкг/кг, около 1,5 мг/кг, около 5 мг/кг или диапазон, определяемый любыми двумя из предыдущих значений), более предпочтительно от около 1 мкг/кг до 5 мг/кг общей массы тела (например, около 3 мкг/кг, около 15 мкг/кг, около 75 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 900 мкг/кг, около 2 мг/кг, около 4 мг/кг или диапазон, определяемый любыми двумя из предыдущих значений), и еще более предпочтительно от около 0,5 до 15 мг/кг массы тела в сутки (например, около 1 мг/кг, около 2,5 мг/кг, около 3 мг/кг, около 6 мг/кг, около 9 мг/кг, около 11 мг/кг, около 13 мг/кг или диапазон, определяемый любыми двумя из предыдущих значений). Терапевтическую или профилактическую эффективность можно контролировать путем периодической оценки пациентов, получающих лечение. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение можно повторять до тех пор, пока не произойдет желаемое подавление симптомов заболевания. Однако могут быть полезны и другие режимы дозирования, которые входят в объем изобретения. Желаемая доза может

быть введена однократным болюсным введением композиции, многократным болюсным введением композиции или непрерывным инфузионным введением композиции.

Можно вводить композицию, содержащую эффективное количество полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина по изобретению, полипептида легкой цепи иммуноглобулина по изобретению, связывающего агент по изобретению, последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, кодирующей любое из вышеперечисленного, или вектор по изобретению, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты по изобретению, млекопитающему с использованием стандартных способов введения, включая пероральное, внутривенное, внутривнутрибрюшинное, подкожное, легочное, чрескожное, внутримышечное, интраназальное, трансбуккальное, подъязычное введение или введение в виде суппозитория. Композиция предпочтительно пригодна для парентерального введения. Термин «парентеральный», используемый в данном документе, включает внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное и внутривнутрибрюшинное введение. Более предпочтительно композицию вводят млекопитающему с использованием периферической системной доставки путем внутривенной, внутривнутрибрюшинной или подкожной инъекции.

После введения млекопитающему (например, человеку) биологическую активность связывающего агента по изобретению можно измерить любым подходящим способом, известным в данной области. Например, биологическую активность можно оценить путем определения стабильности конкретного связывающего агента. В одном воплощении изобретения связывающий агент (например, антитело) имеет период полужизни *in vivo* от около 30 минут до 45 дней (например, около 30 минут, около 45 минут, около 1 часа, около 2 часов, около 4 часов, около 6 часов, около 10 часов, около 12 часов, около 1 дня, около 5 дней, около 10 дней, около 15 дней, около 25 дней, около 35 дней, около 40 дней, около 45 дней или определенный диапазон любыми двумя из предыдущих значений). В другом воплощении агент, связывающий дектин-2, имеет период полужизни *in vivo* от около 2 часов до 20 дней (например, около 5 часов, около 10 часов, около 15 часов, около 20 часов, около 2 дня, около 3 дня, около 7 дней, около 12 дней, около 14 дней, около 17 дней, около 19 дней или диапазон, определяемый любыми двумя из предыдущих значений). В другом воплощении связывающий агент имеет период полужизни *in vivo* от около 10 дней до около 40 дней (например, около 10 дней, около 13 дней, около 16 дней, около 18 дней, около 20 дней, около 23 дней, около 26 дней, около 29 дней, около 30 дней, около 33 дней, около 37 дней, около 38 дней, около 39 дней, около 40 дней или диапазон, определяемый любыми двумя из предыдущих значений).

В дополнение к терапевтическим применениям связывающий агент, описанный в

настоящем документе, можно использовать в диагностических или исследовательских целях. В этом отношении связывающий агент можно использовать в способе диагностики рака. Аналогичным образом связывающий агент можно использовать в анализе для мониторинга уровней белка дектина-2 у субъекта, проходящего тестирование на заболевание или нарушение, которое связано с аномальной экспрессией дектина-2. Исследовательские приложения включают, например, способы, в которых используется связывающий агент и метка для обнаружения белка дектина-2 в образце, например, в жидкости человеческого организма или в экстракте клеток или тканей. Связывающий агент можно использовать с модификацией или без нее, такой как ковалентное или нековалентное мечение детектируемым фрагментом. Например, обнаруживаемый фрагмент может представлять собой радиоизотоп (например, ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S или ^{125}I), флуоресцентное или хемилюминесцентное соединение (например, флуоресцеинизотиоцианат, родамин или люциферин), фермент (например, щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза, или пероксидаза хрена), или простетические группы. Любой способ, известный в данной области, для отдельного конъюгирования антигенсвязывающего агента (например, антитела) с детектируемым фрагментом может быть использован в контексте изобретения (см., например, Hunter et al., *Nature*, 194: 495-496). (1962); David et al., *Biochemistry*, 13:1014-1021 (1974); Pain et al., *J. Immunol. Meth.*, 40: 219-230 (1981); и Nygren, *J. Histochem. and Cytochem.*, 30: 407-412 (1982)).

Уровни белка дектина-2 можно измерить с использованием связывающего агента по изобретению любым подходящим способом, известным в данной области. Такие способы включают, например, иммуногистохимию, иммунофлуоресценцию, радиоиммуноанализ (РИА) и FACS. Нормальные или стандартные значения экспрессии белка дектина-2 могут быть установлены с использованием любого подходящего метода, например, путем объединения образца, содержащего или предположительно содержащего полипептид дектин-2, с антителом, специфичным к дектину-2, в условиях, подходящих для образования комплекса антиген-антитело. Антитело прямо или косвенно метят поддающимся детекции веществом для облегчения обнаружения связанного или несвязанного антитела. Подходящие детектируемые вещества включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы и радиоактивные материалы (см., например, Zola, *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, CRC Press, Inc. (1987)). Затем количество экспрессированного в образце полипептида дектина-2 сравнивали со стандартным значением.

Наборы

Связывающий агент может поставляться в наборе, то есть в виде упакованной

комбинации реагентов в заранее определенных количествах с инструкциями по проведению диагностического анализа. Если связывающий агент помечен ферментом, желательно, чтобы набор включал субстраты и кофакторы, необходимые ферменту (например, предшественник субстрата, который обеспечивает обнаруживаемый хромофор или флуорофор). Кроме того, в набор могут быть включены другие добавки, такие как стабилизаторы, буферы (например, блокирующий буфер или буфер для лизиса) и т.п. Относительные количества различных реагентов можно варьировать, чтобы обеспечить концентрации реагентов в растворе, которые существенно оптимизируют чувствительность анализа. Реагенты могут поставляться в виде сухих порошков (обычно лиофилизированных), включая эксципиенты, которые при растворении образуют раствор реагента соответствующей концентрации.

Примеры неограничивающих аспектов раскрытия

Аспекты, включая воплощения изобретения, описанные в настоящем документе, могут быть полезными по отдельности или в сочетании с одним или несколькими другими аспектами или воплощениями. Без ограничения предшествующего описания, некоторые неограничивающие аспекты раскрытия, пронумерованные (1)-(33), представлены ниже. Как будет очевидно специалистам в данной области после прочтения настоящего описания, каждый из отдельно пронумерованных аспектов может быть использован или объединен с любым из предыдущих или последующих отдельно пронумерованных аспектов. Это предназначено для обеспечения поддержки всех таких комбинаций аспектов и не ограничивается комбинациями аспектов, явно указанных ниже:

(1) Агент, связывающий дектин-2, содержащий полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, где:

полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина включает определяющую комплементарность область 1 (HCDR1), содержащую любую из SEQ ID NO: 1-30, определяющую комплементарность область 2 (HCDR2), содержащую любую из SEQ ID NO: 31-64, и определяющую комплементарность область 3 (HCDR3), содержащую любую из SEQ ID NO: 65-103 или 323; или

полипептид вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина включает определяющую комплементарность область 1 (LCDR1), содержащую любую из SEQ ID NO: 104-125, определяющую комплементарность область 2 (LCDR2), содержащую любую из SEQ ID NO: 126-148, и определяющую комплементарность область 3 (HCDR3), содержащую любую из SEQ ID NO: 149-181.

(2) агент, связывающий дектин-2, содержащий вариабельную область тяжелой

цепи иммуноглобулина с любой из SEQ ID NO: 243-282 или 324, или по меньшей мере ее CDR; и варибельную область легкой цепи иммуноглобулина с любой из SEQ ID NO: 283-322 или по меньшей мере ее CDR.

(3) Агент, связывающий дектин-2, содержащий полипептид варибельной области тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 90% идентична любой из SEQ ID NO: 243-282 или 324, и полипептид варибельной области легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 90% идентична любой из SEQ ID NO: 284-322.

(4) Агент, связывающий дектин-2, по любому из аспектов 1-3, который содержит полипептиды тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина или, по меньшей мере, их CDR, из агента, связывающего дектин-2, из таблицы 1.

(5) Связывающий дектин-2 агент по любому из аспектов 1-4, где связывающий агент представляет собой антитело, конъюгат антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

(6) Агент, связывающий декстин-2, по аспекту 5, где связывающий агент представляет собой фрагмент антитела, выбранный из F(ab')₂, Fab', Fab, Fv, scFv, dsFv, dAb и одноцепочечного связывающего полипептида.

(7) Агент, связывающий дектин-2, по аспекту 5, где связывающий агент представляет собой антитело.

(8) Агент, связывающий дектин-2, по любому из аспектов 5-7, где антитело представляет собой антитело IgG, IgM, IgA, IgD или IgE.

(9) Агент, связывающий дектин-2, по любому из аспектов 5-8, где антитело представляет собой антитело IgG.

(10) Агент, связывающий дектин-2, по аспекту 9, где антитело IgG содержит одну или несколько мутаций в Fc-области, которые приводят к модулированному связыванию с одним или несколькими рецепторами Fc.

(11) Агент, связывающий дектин-2, по любому из аспектов 7-10, где указанное антитело проявляет антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP) или комплементзависимую цитотоксичность (CDC).

(12) Связывающий дектин-2 агент по любому из аспектов 1-11, где связывающий агент является частью биспецифического антитела, химерного антигенного рецептора, химерного Т-клеточного рецептора или биспецифического рекрутера Т-клеток.

(13) Нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид тяжелой цепи

иммуноглобулина из агента, связывающего дектин-2, по любому из аспектов 1-12.

(14) Нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид легкой цепи иммуноглобулина из агента, связывающего дектин-2, по любому из аспектов 1-12.

(15) Нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид легкой цепи иммуноглобулина агента, связывающего дектин-2, по любому из аспектов 1-12.

(16) Вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты по любому из аспектов 13-15.

(17) Выделенная клетка, содержащая нуклеиновую кислоту по любому из аспектов 13-15, необязательно в векторе.

(18) Способ получения агента, связывающего дектин-2, по любому из аспектов 1-12, включающий экспрессию в клетке *in vitro* одной или более нуклеиновых кислот, кодирующих полипептиды тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина.

(19) Композиция, содержащая агент, связывающий дектин-2, по любому из аспектов 1-12 или нуклеиновую кислоту по любому из аспектов 13-15, необязательно в векторе, и фармацевтически приемлемый носитель.

(20) Агент, связывающий дектин-2, по любому из аспектов 1-12 или содержащий его конъюгат, или композиция по п. 19, для применения в качестве лекарственного средства для лечения заболевания, расстройства или состояния у млекопитающего, которые являются респонсивными на ингибирование или связывание дектина-2.

(21) Агент или композиция, связывающая дектин-2, по п. 20, где заболевание, нарушение или состояние представляет собой рак.

(22) Связывающий дектин-2 агент по любому из аспектов 1-12 или композиция по п. 19 для применения в качестве лекарственного средства для усиления иммунного ответа у млекопитающего.

(23) Агент, связывающий дектин-2, для применения по п. 22, отличающийся тем, что иммунный ответ представляет собой противоопухолевый иммунный ответ.

(24) Способ лечения заболевания, нарушения или состояния у млекопитающего, респонсивного на связывание или ингибирование дектина-2, причем способ включает введение млекопитающему агента, связывающего дектин-2, по любому из аспектов 1-12 или содержащего его конъюгата или композиции по п. 19.

(25) Способ по п. 24, отличающийся тем, что заболевание, нарушение или состояние представляет собой рак.

(26) Гибридома или клеточная линия, которая экспрессирует агент, связывающий дектин-2, по любому из аспектов 1-12.

(27) Способ стимуляции антигенпрезентирующей клетки (АПК), включающий приведение АПК в контакт со агентом, связывающим дектин-2, по аспектам 1-12 в дозе и в течение периода времени, достаточных для усиления передачи сигналов дектина-2 в APC, с получением тем самым стимулированной АПК.

(28) Способ по п. 27, отличающийся тем, что АПК представляет собой клетку миелоидного происхождения.

(29) Способ по п. 28, отличающийся тем, что миелоидная клетка представляет собой моноцит, макрофаг или дендритную клетку.

(30) Способ по аспектам 27-29, где стимулированная АПК продуцирует по меньшей мере один провоспалительный цитокин и/или проявляет повышенный фагоцитоз по сравнению с АПК, которая не подвергалась контакту со агентом, связывающим дектин-2.

(31) Способ по п. 30, где по меньшей мере один провоспалительный цитокин выбран из группы, состоящей из TNF α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-23p19, IFN γ , IL-12p40 и IL-12p70.

(32) Способ по любому из аспектов 27-31, включающий приведение в контакт стимулированной АПК с раковым антигеном для получения АПК, контактировавшей с антигеном.

(33) Способ по любому из аспектов 28-32, где раковый антиген присутствует в лизате раковых клеток или является частью раковых клеток.

Примеры

Человеческие моноциты выделяли из камер LRS, полученных из Стэнфордского центра крови (Пало-Альто, Калифорния; камера является побочным продуктом лейкофереза), используя коктейль для обогащения моноцитов человека RosetteSep™ (STEMCELL Technologies Inc.), а затем набор для обогащения моноцитов человека EasySep™ без истощения по CD16 (STEMCELL Technologies Inc.) в соответствии с инструкциями производителя. Выделенные моноциты человека использовали в следующих экспериментах.

Пример 1

В первом эксперименте выделенные моноциты человека культивировали в полной среде RPMI (10% FBS, P/S, глутамин) с добавлением 100 нг/мл hGM-CSF (PeproTech, Inc.). После двухдневной инкубации обработанные моноциты собирали клеточным скребком и добавляли в 96-луночные планшеты, обработанные TC (Corning Inc., Корнинг, Нью-Йорк), предварительно покрытые одним из клонов антител, перечисленных на фиг. 1. Покрытые антителами 96-луночные планшеты, использованные в этом эксперименте,

готовили путем разбавления указанного антитела до 25 мкг/мл в PBS и инкубации в течение ночи при 4°C с последующими несколькими промываниями PBS. После 18-часовой инкубации собирали надосадочные жидкости и измеряли уровни TNF α с помощью ELISA в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen eBioscience Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go!). Результаты первого эксперимента показаны на фиг. 1. Как видно на фиг. 1, ряд тестируемых антител вызывал значительное увеличение экспрессии TNF α .

Протестированные антитела соответствуют раскрытым в данном документе связывающим агентам 1-40 следующим образом:

Таблица 8

Тестируемое антитело	Связывающий агент (SEQ ID NO для VH и VL)	Тестируемое антитело	Связывающий агент (SEQ ID NO для VH и VL)
R3H-P1C02	1 (SEQ ID NO: 243 и 283)	R3H-P1E01	21 (SEQ ID NO: 262 и 303)
R3H-P3A02	2 (SEQ ID NO: 244 и 284)	R3C-P2B08	22 (SEQ ID NO: 263 и 304)
R3H-P3H07	3 (SEQ ID NO: 245 и 285)	R3C-P1G05	23 (SEQ ID NO: 264 и 305)
R3M-P2C06	4 (SEQ ID NO: 246 и 286)	R3H-P1B11	24 (SEQ ID NO: 266 и 306)
R3C-P1E10	5 (SEQ ID NO: 247 и 287)	R3H-P2B10	25 (SEQ ID NO: 267 и 307)
R3H-P1D01	6 (SEQ ID NO: 248 и 288)	R3C-P3C07	26 (SEQ ID NO: 268 и 308)
R3H-P1C10	7 (SEQ ID NO: 249 и 289)	R3H-P3A06	27 (SEQ ID NO: 269 и 309)
R3H-P2D03	8 (SEQ ID NO: 250 и 290)	R3H-P3D01	28 (SEQ ID NO: 270 и 310)
R4H-P1G05	9 (SEQ ID NO: 251 и 291)	R3M-P2D05	29 (SEQ ID NO: 271 и 311)
R3M-P1C03	10 (SEQ ID NO: 252 и 292)	R3C-P2D05	30 (SEQ ID NO: 272 и 312)
R3H-P2G03	11 (SEQ ID NO: 253 и 293)	R3H-P2D12	31 (SEQ ID NO: 273 и 313)
R4H-P1G11	12 (SEQ ID NO: 254 и 294)	R3H-P2A09	32 (SEQ ID NO: 274 и 314)
R3H-P1B01	13 (SEQ ID NO: 255 и 295)	R3H-P2G01	33 (SEQ ID NO: 275 и 315)
R3C-P1C09	14 (SEQ ID NO: 256 и 296)	R3M-P3E03	34 (SEQ ID NO: 276 и 316)
R3H-P1G03	15 (SEQ ID NO: 257 и 297)	R3H-P3B09	35 (SEQ ID NO: 277 и 317)
R3M-P3B04	16 (SEQ ID NO: 258 и 298)	R4C-P1F06	36 (SEQ ID NO: 278 и 318)
R3H-P2F02	17 (SEQ ID NO: 259 и 299)	R3H-P2D07	37 (SEQ ID NO: 279 и 319)
R3M-P3B11	18 (SEQ ID NO: 256 и 300)	R3M-P3C04	38 (SEQ ID NO: 280 и 320)
R3M-P1D05	19 (SEQ ID NO: 260 и 301)	R3H-P1C12	39 (SEQ ID NO: 281 и 321)
R3H-P1F05	20 (SEQ ID NO: 261 и 302)	R3C-P1C01	40 (SEQ ID NO: 282 и 322)

Пример 2

Во втором эксперименте выделенные человеческие моноциты культивировали в полной среде RPMI (10% FBS, P/S, глутамин) с добавлением 200 нг/мл hGM-CSF (PeproTech, Inc.). После инкубации в течение трех дней обработанные моноциты собирали клеточным скребком и добавляли в 96-луночные планшеты, обработанные TC (Corning Inc., Корнинг, Нью-Йорк), где моноциты стимулировали одним из клонов антител, перечисленных на фиг. 2 (в растворимой форме) при 100 мкг/мл. После 18-часовой инкубации собирали надосадочные жидкости и измеряли уровни TNF α с помощью ELISA в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen eBioscience Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go!). Результаты первого эксперимента показаны на фиг. 2. Как видно на фиг. 2, ряд тестируемых антител вызывал значительное увеличение экспрессии TNF α .

Протестированные антитела соответствуют описанным в данном документе связывающим агентам, как показано в таблице 8.

Пример 3

В третьем эксперименте выделенные человеческие моноциты культивировали в полной среде RPMI (10% FBS, P/S, глутамин), дополненной человеческим GM-CSF (PeproTech, Inc.). После 6 дней инкубации макрофаги собирали и добавляли в 96-луночные планшеты, обработанные TC (Corning Inc., Корнинг, Нью-Йорк), где макрофаги стимулировали путем титрования дозы каждого из указанных антител. После 18-часовой инкубации собирали надосадочные жидкости и измеряли уровни TNF α с помощью ELISA в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen eBioscience Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go!). Как видно на фиг. 3, ряд тестируемых антител вызывал значительное увеличение экспрессии TNF α . Каждое тестируемое антитело представляло собой R3H-P1F05 (соответствует раскрытому в настоящем документе связывающему агенту 20 (т.е. содержит области VH и VL соответственно SEQ ID NO: 261 и 302)), каждое с определенными модификациями Fc-области антитела или без них, как показано на фиг. 3, включая, например, использование Fc-домена IgG2 вместо Fc-домена IgG1.

В частности, R3H-P1F05 содержит SEQ ID NO: 326 и 334, R3H-P1F05 hIgG1-G236A содержит SEQ ID NO: 326 и 335, R3H-P1F05 hIgG1-LALA содержит SEQ ID NO: 326 и 336, R3H-P1F05 hIgG1-N297A содержит SEQ ID NO: 326 и 337, а R3H-P1F05 hIgG1-C219S содержит SEQ ID NO: 326 и 338.

Пример 4

В четвертом эксперименте выделенные человеческие моноциты культивировали в полной среде RPMI (10% FBS, P/S, глутамин), дополненной человеческим GM-CSF (PeproTech, Inc.). После 5 дней инкубации макрофаги собирали и добавляли в 96-луночные планшеты, обработанные TC (Corning Inc., Корнинг, Нью-Йорк), где макрофаги стимулировали путем титрования дозы каждого из указанных антител. После 20-часовой инкубации собирали надосадочной жидкости и измеряли уровни TNF α с помощью ELISA в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen eBioscience Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go!). Как видно на фиг. 4, ряд тестируемых антител вызывал значительное увеличение экспрессии TNF α . Каждое протестированное антитело представляло собой R3H-P1F05 (соответствует раскрытому в данном документе связывающему агенту 20 (области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 261 и 302)) или антитело, соответствующее раскрытому в данном документе связывающему агенту 23a (т.е. содержащему области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 265 и 305), каждая с определенными модификациями Fc-области антитела или без них, как показано на фиг. 4.

В частности, R3H-P1F05 содержит SEQ ID NO: 326 и 334, R3H-P1F05-E345R содержит SEQ ID NO: 326 и 339, R3H-P1F05 hIgG1-G236A содержит SEQ ID NO: 326 и 335, связывающий агент 23a hIgG1 содержит SEQ ID NO: 327 и 340, связывающий агент 23a hIgG1-E345R содержит SEQ ID NO: 327 и 341, а связывающий агент 23a hIgG1-G236A содержит SEQ ID NO: 327 и 342.

Пример 5

В пятом эксперименте выделенные моноциты человека культивировали в полной среде RPMI (10% FBS, P/S, глутамин) с добавлением M-CSF человека (PeproTech, Inc.). После 6 дней инкубации макрофаги собирали и добавляли в 96-луночные планшеты, обработанные TC (Corning Inc., Корнинг, Нью-Йорк), где макрофаги стимулировали путем титрования дозы каждого из указанных антител. После 20-часовой инкубации собирали надосадочные жидкости и измеряли уровни TNF α с помощью ELISA в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen eBioscience Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go!). Как видно на фиг. 5A и 5B, ряд тестируемых антител вызывал значительное увеличение экспрессии TNF α . Каждое протестированное антитело представляло собой R3H-P1F05 (фиг. 5A) (соответствует раскрытому в настоящем документе связывающему агенту 20 (т.е. содержащему области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 261 и 302)) или связывающему агенту 23a, раскрытому в настоящем документе (фиг. 5B) (т.е. содержащему области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 265 и 305), каждая с определенными модификациями Fc-области антитела или без них, как показано на фиг. 5A и 5B, где «nf» означает нефукозилированный (т.е. афукозилированный).

В частности, на фиг. 5A каждый из R3H-P1F05 и R3H-P1F05-nf содержит SEQ ID NO: 326 и 334, а каждый из R3H-P1F05 hIgG1-G236A и R3H-P1F05 hIgG1-G236A-nf содержит SEQ ID NO: 326 и 335. На фиг. 5B связывающий агент 23a hIgG1 и связывающий агент 23a hIgG1-nf каждый содержит SEQ ID NO: 327 и 340, а связывающий агент 23a hIgG1-G236A и связывающий агент 23a hIgG1-G236A-nf каждый содержит SEQ ID NO: 327 и 342.

Пример 6

В шестом эксперименте выделенные моноциты человека культивировали в полной среде RPMI (10% FBS, P/S, глутамин), дополненной человеческим M-CSF (PeproTech, Inc.). После 5 дней инкубации макрофаги собирали и добавляли в 96-луночные планшеты, обработанные TC (Corning Inc., Корнинг, Нью-Йорк), где макрофаги стимулировали путем титрования дозы каждого из указанных антител. После 20-часовой инкубации собирали надосадочные жидкости и измеряли уровни TNF α с помощью ELISA в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen eBioscience Human TNF alpha ELISA Ready-SET-

Go!). Как видно на фиг. 6, ряд тестируемых антител вызывал значительное увеличение экспрессии TNF α . Каждое тестируемое антитело представляло собой антитело, соответствующее раскрытому в данном документе связывающему агенту 23a (т.е. содержащему области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 265 и 305), или антитело, соответствующее раскрытому в данном документе связывающему агенту 23b (т.е. содержащему области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 324 и 305), каждая с определенными модификациями Fc-области антитела или без них, как показано на фиг. 6, включая использование домена IgG2 вместо домена IgG1.

В частности, связывающий агент 23a hIgG1 содержит SEQ ID NO: 327 и 340; SEQ ID NO: 327 и 343, а связывающий агент 23a hIgG1-LALA содержит SEQ ID NO: 327 и 344.

Пример 7

В седьмом эксперименте выделенные человеческие моноциты культивировали в полной среде RPMI (10% FBS, P/S, глутамин), дополненной человеческим GM-CSF (PeproTech, Inc.). После инкубации в течение 3 дней макрофаги собирали и добавляли в 96-луночные планшеты, обработанные TC (Corning Inc., Корнинг, Нью-Йорк), которые были предварительно покрыты указанными антителами. Покрытые антителами 96-луночные планшеты, использованные в этом эксперименте, готовили путем разбавления указанного антитела в PBS и инкубации в течение ночи при 4°C с последующими несколькими промывками PBS. После 20-часовой инкубации собирали надосадочные жидкости и измеряли уровни TNF α с помощью ELISA в соответствии с инструкциями производителя (Invitrogen eBioscience Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go!). Как видно на фиг. 7, ряд тестируемых антител вызывал значительное увеличение экспрессии TNF α . Каждое протестированное антитело представляло собой R3H-P1C02 (соответствующие связывающему агенту 1, описанному в настоящем документе (т.е. содержащие области VH и VL, соответственно, SEQ ID NO: 243 и 283)), с определенными модификациями Fc-области антитела или без них, как показано на фиг. 7, где «nf» означает нефукозилированный (т.е. афукозилированный).

В частности, каждый из R3H-P1C02 hIgG1 и R3H-P1C02 hIgG1nf содержит SEQ ID NO: 325 и 328, R3H-P1C02 hIgG1-S267E содержит SEQ ID NO: 325 и 329, R3H-P1C02 hIgG1-E345R содержит SEQ ID NO: 325 и 330, R3H-P1C02 hIgG1-SEER содержит SEQ ID NO: 325 и 331, R3H-P1C02 hIgG1-N297A содержит SEQ ID NO: 325 и 332, и каждый из R3H-P1C02 hIgG1-G236A и R3H-P1C02 hIgG1nf-G236A содержит SEQ ID NO: 325 и 333.

Термины «около» и «приблизительно», используемые в данном документе для модификации числового значения, указывают на близкий диапазон, окружающий числовое значение. Таким образом, если «X» представляет собой значение, «около X» или

«около X» указывает значение от $0,9X$ до $1,1X$, например, от $0,95X$ до $1,05X$ или от $0,99X$ до $1,01X$. Ссылка на «около X» или «приблизительно X» конкретно указывает по меньшей мере значения X , $0,95X$, $0,96X$, $0,97X$, $0,98X$, $0,99X$, $1,01X$, $1,02X$, $1,03X$, $1,04X$ и $1,05X$. Соответственно, «около X» и «приблизительно X» предназначены для описания и обеспечения письменного описания в поддержку ограничения формулы изобретения, например, « $0,98X$ ».

Все источники, включая публикации, патентные заявки и патенты, процитированные в данном документе, настоящим включены ссылкой в той же степени, как если бы каждый источник был отдельно и конкретно указан для включения в качестве ссылки и был изложен в данном документе полностью.

Использование терминов в единственном числе, или указание «по меньшей мере один» и подобных референтов в контексте описания изобретения (особенно в контексте представленной далее формулы изобретения) должно толковаться как охватывающее как единственное, так и множественное число, если иное не указано в данном документе или явно не противоречит контексту. Использование термина «по меньшей мере один», за которым следует список из одного или нескольких элементов (например, «по меньшей мере, один из A и B»), должно толковаться как означающее один элемент, выбранный из перечисленных элементов (A или B) или любое сочетание двух или более из перечисленных элементов (A и B), если иное не указано в данном документе или явно не противоречит контексту. Термины «содержащий», «имеющий», «включающий» и «охватывающий» следует толковать как неограничивающие термины (т.е. означающие «включая, без ограничения указанным»), если не указано иное. Перечисление диапазонов значений в данном документе просто предназначено для того, чтобы служить кратким способом индивидуальной ссылки на каждое отдельное значение, попадающее в этот диапазон, если в данном документе не указано иное, и каждое отдельное значение включается в описание, как если бы оно было отдельно указано в данном документе. Все способы, описанные в данном документе, могут осуществляться в любом подходящем порядке до тех пор, пока в данном документе не указано иное или иное очевидно не следует из контекста. Использование любых и всех примеров или примерных формулировок (например, «таких как»), представленных в настоящем документе, предназначено просто для лучшего освещения изобретения и не налагает ограничения на объем изобретения, если не заявлено иное. Никакое выражение в описании не должно рассматриваться в качестве обозначения любого не заявленного элемента, существенного для практического применения изобретения.

В данной заявке описаны предпочтительные воплощения этого изобретения,

включая лучший из известных изобретателям способ осуществления изобретения. Вариации этих предпочтительных воплощений могут стать очевидными для специалистов в данной области техники после прочтения предшествующего описания. Авторы изобретения ожидают, что квалифицированные специалисты будут использовать такие варианты в зависимости от обстоятельств, и авторы изобретения предполагают, что изобретение будет реализовано на практике иначе, чем конкретно описано в данном документе. Соответственно, это изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта изобретения, перечисленного в прилагаемой формуле изобретения, как это разрешено применимым законодательством. Кроме того, любая комбинация вышеописанных элементов во всех возможных их вариантах охватывается изобретением, если иное не указано в настоящем документе или иное явно не противоречит контексту.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Агент, связывающий дектин-2, содержащий полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина, отличающийся тем, что:

полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина включает определяющую комплементарность область 1 (HCDR1), содержащую любую из SEQ ID NO: 1-30, определяющую комплементарность область 2 (HCDR2), содержащую любую из SEQ ID NO: 31-64, и определяющую комплементарность область 3 (HCDR3), содержащую любую из SEQ ID NO: 65-103 или 323; или

полипептид вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина включает определяющую комплементарность область 1 (LCDR1), содержащую любую из SEQ ID NO: 104-125, определяющую комплементарность область 2 (LCDR2), содержащую любую из SEQ ID NO: 126-148, и определяющую комплементарность область 3 (HCDR3), содержащую любую из SEQ ID NO: 149-181.

2. Агент, связывающий дектин-2, содержащий вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина любой из SEQ ID NO: 243-282 или 324, или по меньшей мере ее CDR; и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина любой из SEQ ID NO: 283-322 или по меньшей мере ее CDR.

3. Агент, связывающий дектин-2, содержащий полипептид вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 90% идентична любой из SEQ ID NO: 243-282 или 324, и полипептид вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 90% идентична любой из SEQ ID NO: 284-322.

4. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 1-3, который содержит полипептиды тяжелой и легкой цепей иммуноглобулина или, по меньшей мере, их CDR, из агента, связывающего дектин-2, из таблицы 1.

5. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 1-4, отличающийся тем, что связывающий агент представляет собой антитело, конъюгат антитела или его антигенсвязывающий фрагмент.

6. Агент, связывающий дектин-2, по п. 5, отличающийся тем, что связывающий агент представляет собой фрагмент антитела, выбранный из F(ab')₂, Fab', Fab, Fv, scFv, dsFv, dAb и одноцепочечного связывающего полипептида.

7. Агент, связывающий дектин-2, по п. 5, отличающийся тем, что связывающий агент представляет собой антитело.

8. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 5-7, отличающийся тем, что указанное антитело представляет собой антитело IgG, IgM, IgA, IgD или IgE.

9. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 5-8, отличающийся тем, что указанное антитело представляет собой антитело IgG.

10. Агент, связывающий дектин-2, по п. 9, отличающийся тем, что антитело IgG содержит одну или несколько мутаций в Fc-области, которые приводят к модулированному связыванию с одним или несколькими рецепторами Fc.

11. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 7-10, отличающийся тем, что указанное антитело проявляет антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP) или комплементзависимую цитотоксичность (CDC).

12. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 1-11, отличающийся тем, что связывающий агент представляет собой или является частью мультиспецифического или биспецифического антитела, химерного антигенного рецептора, химерного Т-клеточного рецептора, биспецифического рекрутера Т-клеток, поливалентного антитела, диатела, триатела, тетратела, гексатела, фрагмента bis-scFV, димера Fab или тримера Fab.

13. Нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина агента, связывающего дектин-2, по любому из пунктов 1-12.

14. Нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид легкой цепи иммуноглобулина из агента, связывающего дектин-2, по любому из пунктов 1-12.

15. Нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина и полипептид легкой цепи иммуноглобулина из агента, связывающего дектин-2, по любому из пунктов 1-12.

16. Вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты по любому из пунктов 13-15.

17. Выделенная клетка, содержащая нуклеиновую кислоту по любому из пунктов 13-15, необязательно в векторе.

18. Способ получения агента, связывающего дектин-2, по любому из пунктов 1-12, включающий экспрессию в клетке *in vitro* одной или нескольких нуклеиновых кислот, кодирующих полипептиды тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина.

19. Композиция, содержащая агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 1-12 или нуклеиновую кислоту по любому из пунктов 13-15, необязательно в векторе, и фармацевтически приемлемый носитель.

20. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 1-12 или содержащий его

конъюгат, или композиция по п. 19, для применения в качестве лекарственного средства для лечения заболевания, расстройства или состояния у млекопитающего, респонсивного к ингибированию или связыванию дектина-2.

21. Агент, связывающий дектин-2, или композиция по п. 20, отличающиеся тем, что заболевание, нарушение или состояние представляют собой рак.

22. Агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 1-12 или композиция по п. 19 для применения в качестве лекарственного средства для усиления иммунного ответа у млекопитающего.

23. Агент, связывающий дектин-2, для применения по п. 22, отличающийся тем, что иммунный ответ представляет собой противоопухолевый иммунный ответ.

24. Способ лечения заболевания, нарушения или состояния у млекопитающего, которое реагирует на связывание или ингибирование дектина-2, включающий введение млекопитающему агента, связывающего дектин-2, по любому из пунктов 1-12 или конъюгата, содержащего его, или композиции по п. 19.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что заболевание, нарушение или состояние представляет собой рак.

26. Гибридома или клеточная линия, экспрессирующая агент, связывающий дектин-2, по любому из пунктов 1-12.

27. Способ стимуляции антигенпрезентирующей клетки (АПК), включающий приведение АПК в контакт со агентом, связывающим дектин-2, по пунктам 1-12 в дозе и в течение периода времени, достаточных для усиления передачи сигналов дектина-2 в АРС, с получением тем самым стимулированной АПК.

28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что АПК представляет собой клетку миелоидного происхождения.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что миелоидная клетка представляет собой моноцит, макрофаг или дендритную клетку.

30. Способ по пп. 27-29, отличающийся тем, что стимулированная АПК продуцирует по меньшей мере один провоспалительный цитокин и/или проявляет повышенный фагоцитоз по сравнению с АПК, которая не контактировала с агентом, связывающим дектин-2.

31. Способ по п. 30, отличающийся тем, что по меньшей мере один провоспалительный цитокин выбран из группы, состоящей из $TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-2$, $IL-6$, $IL-23p19$, $IFN\gamma$, $IL-12p40$ и $IL-12p70$.

32. Способ по любому из пунктов 27-31, включающий приведение в контакт стимулированных АПК с раковым антигеном с получением АПК, контактировавшей с

антигеном.

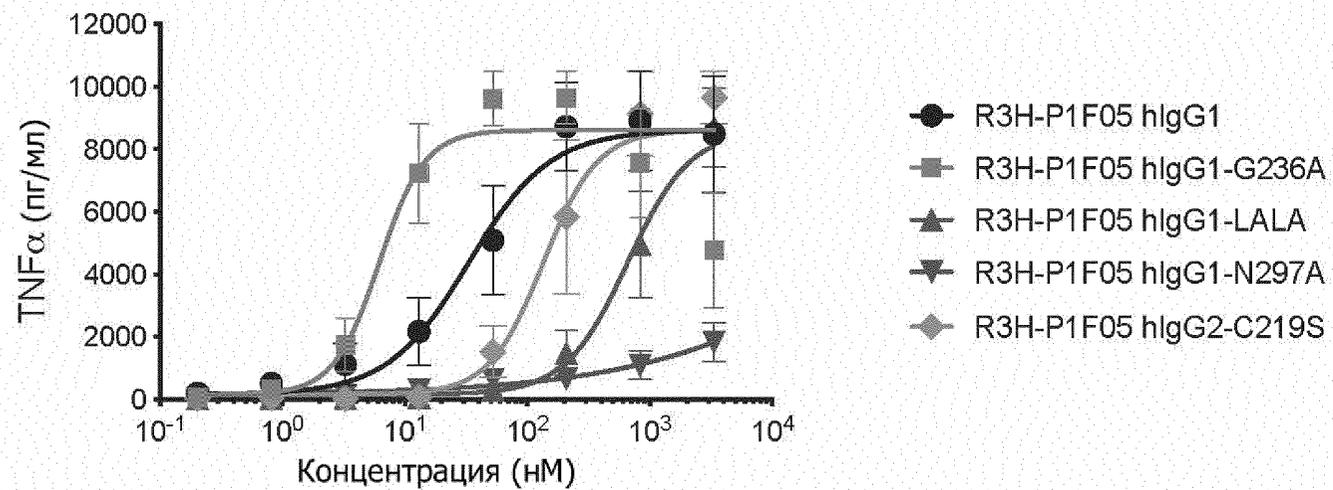
33. Способ по любому из пунктов 28-32, отличающийся тем, что раковый антиген присутствует в лизате раковых клеток или является частью раковых клеток.



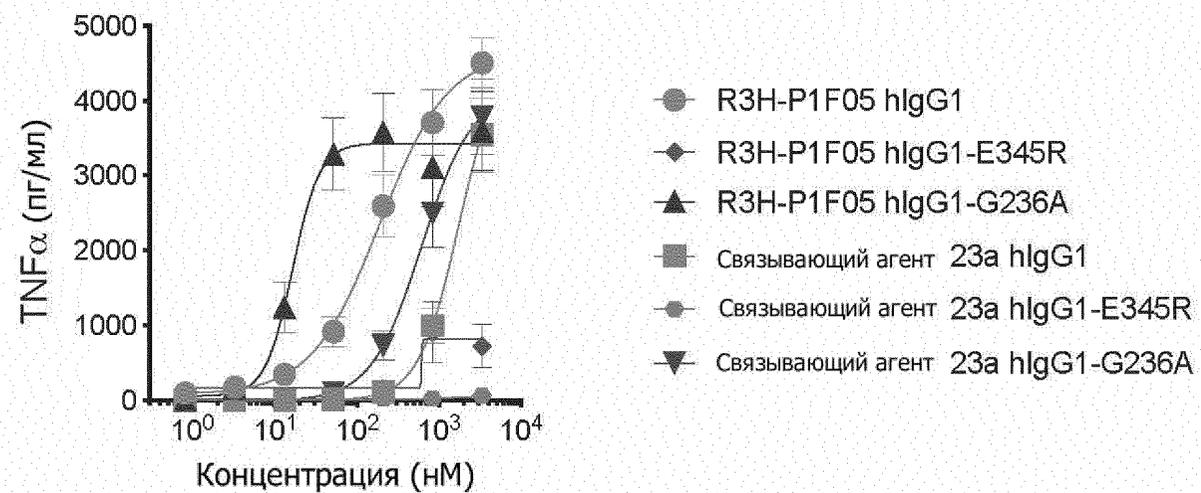
ФИГ. 1



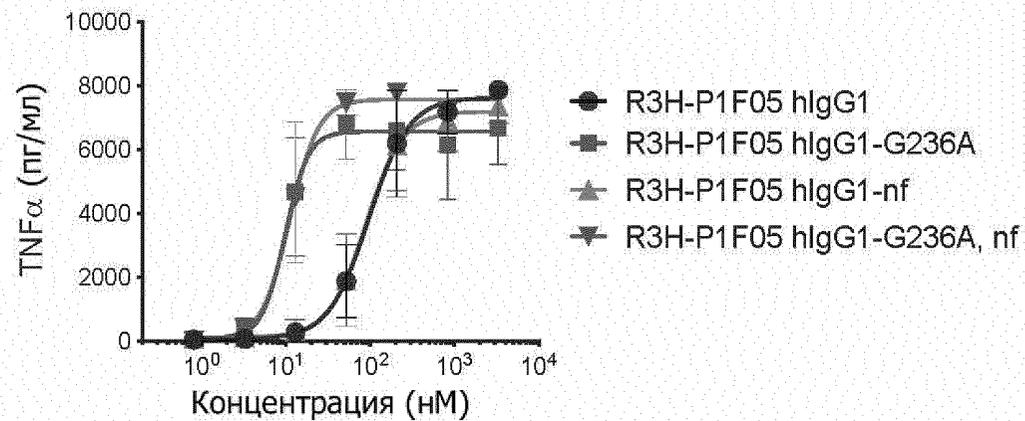
Фиг. 2



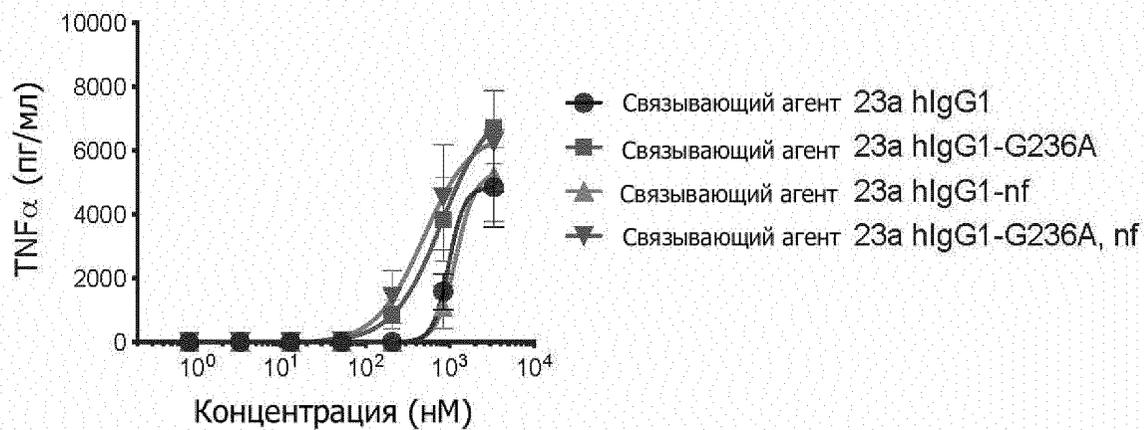
Фиг. 3



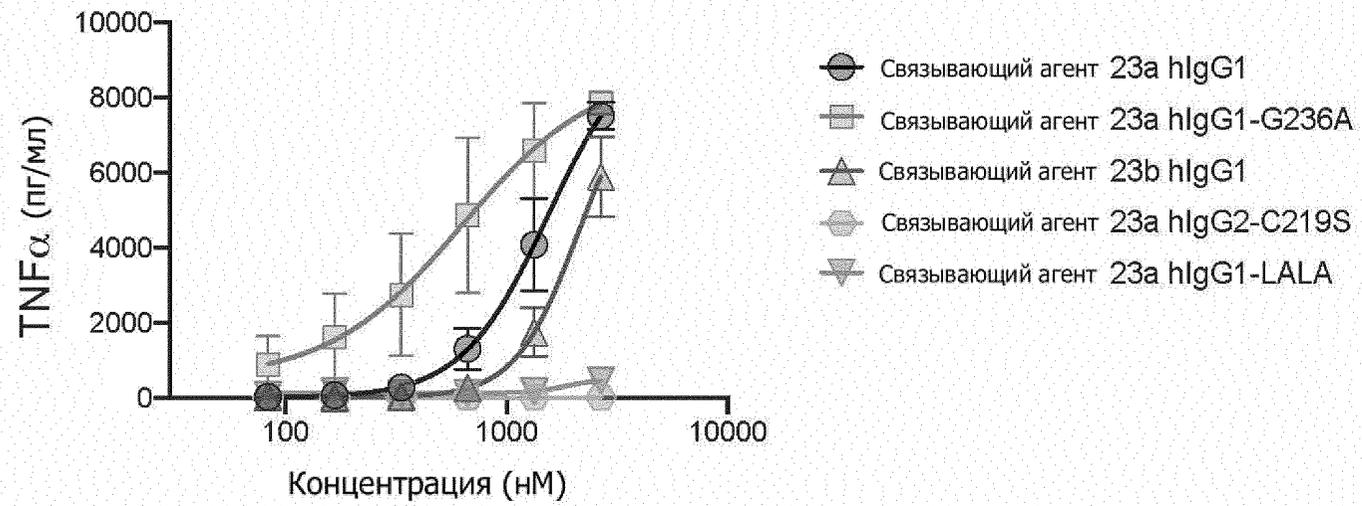
Фиг. 4



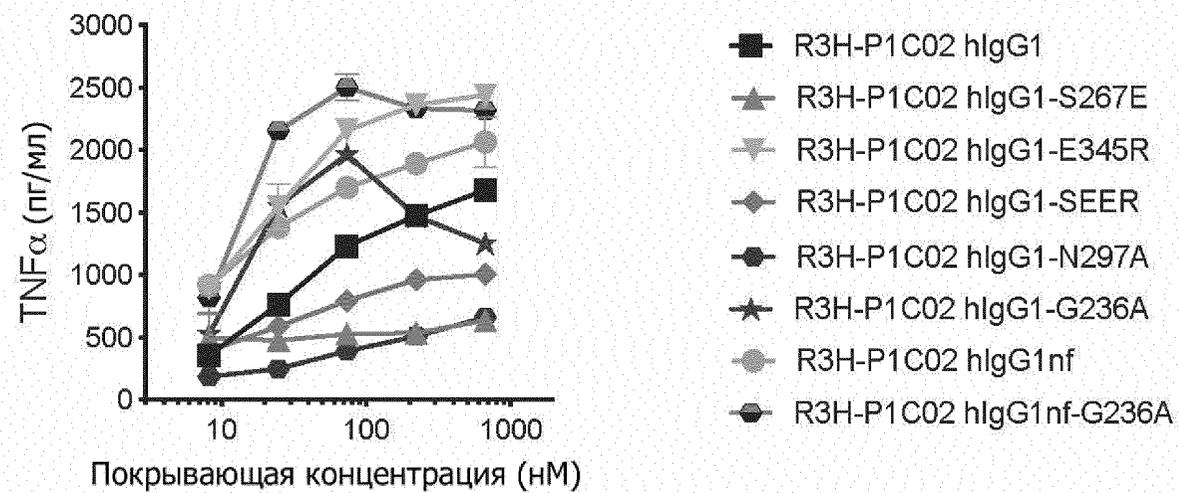
Фиг. 5А



Фиг. 5В



Фиг. 6



Фиг. 7