

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390266** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2023.11.30

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

(22) Дата подачи заявки
2013.04.29

(54) **АНТИТЕЛА ПРОТИВ CD38 И СЛИТЫЕ БЕЛКИ С ОСЛАБЛЕННЫМ
ИНТЕРФЕРОНОМ АЛЬФА-2В**

(62) **201991027; 2013.04.29**

(71) Заявитель:
**ТЕВА ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ
ОСТРЭЙЛИА ПТИ ЛТД. (AU)**

(72) Изобретатель:

**Кларк Адам, Поллард Мэттью, Дойл
Энтони Джерард, Беренс Коллетт,
Ямагиси Тецуо (AU), Уилсон Дэвид С.,
мл., Пог Сара Л., Таура Тецуя (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Представлены антитела, специфически связывающиеся с CD38, также как конструкции, содержащие такие антитела, слитые с белками ослабленного интерферона альфа-2В. Слитые конструкции анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно использовать для ингибирования пролиферации злокачественных клеток, которые экспрессируют как CD38, так и рецептор для IFN-альфа2b, также как для индукции апоптоза в таких клетках. Ингибирование пролиферации и индукция апоптоза злокачественных клеток может служить в качестве фундамента для лечения лежащей в основе злокачественной опухоли.

202390266

A1

A1

202390266

**АНТИТЕЛА ПРОТИВ CD38 И СЛИТЫЕ БЕЛКИ С ОСЛАБЛЕННЫМ ИНТЕРФЕРОНОМ
АЛЬФА-2В**

ССЫЛКА НА СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[001] Эта заявка включает список последовательностей, поданный в электронном виде как текстовый файл, озаглавленный Anti-CD38_Antibodies_ST25, созданный 29 апреля 2013 г., с размером 462000 байт. Содержание списка последовательностей приведено в настоящем документе в качестве ссылки.

ОБЛАСТЬ ОПИСАНИЯ

[002] Это описание относится, главным образом, к области инженерии антител. Более конкретно, это описание относится к антителам, специфически связывающимся с CD38, так же как к конструкциям, содержащим такие антитела и ослабленные лиганды интерфероны-альфа, и к способам лечения с использованием этих конструкций. В этих конструкциях антитела направляют лиганды к клеткам, которые экспрессируют как CD38, так и рецепторы для лигандов, и ослабленный интерферон-альфа уменьшает передачу сигналов интерферона в клетках, которые не экспрессируют CD38.

ПРЕДПОСЫЛКИ ОПИСАНИЯ

[003] Различные публикации, включая патенты, опубликованные заявки, технические статьи, научные статьи, и номера доступа генов или белков процитированы на протяжении описания. Содержание каждого из этих материалов приведено в настоящем документе в качестве ссылки, полностью и для всех целей.

[004] CD38 представляет собой трансмембранный гликопротеин типа II 46 кДа. Он обладает коротким N-концевым цитоплазматическим хвостом из 20 аминокислот, одиночной трансмембранной спиралью и длинным внеклеточным доменом из 256 аминокислот. Он экспрессируется на множестве иммунцитов, включая положительные по CD4 и CD8 Т-клетки, В-клетки, NK-клетки, моноциты, плазматические клетки, и на значительной части нормальных клеток-предшественников костного мозга. В некоторых случаях, экспрессия CD38 на лимфоцитах может являться зависимой от состояния дифференцировки и активации клетки,

например, покоящиеся Т- и В-клетки могут являться отрицательными, в то время как незрелые и активированные лимфоциты могут являться в основном положительными по экспрессии CD38. Экспрессию мРНК CD38 детектировали в не относящихся к гематопоетическим органам, таким как поджелудочная железа, мозг, селезенка и печень (Koguma, T. (1994) Biochim. Biophys. Acta 1223:160).

[005] CD38 представляет собой многофункциональный эктофермент, вовлеченный в трансмембранную передачу сигнала и адгезию клеток. Также известен как гидролаза циклической АДФ-рибозы, поскольку может трансформировать НАД⁺ и НАДФ⁺ в цАДФР, АДФР и НААДФ, в зависимости от внеклеточного pH. Эти продукты индуцируют мобилизацию Ca²⁺ внутри клетки, которая может приводить к фосфорилированию тирозина и активации клетки. CD38 также является рецептором, который может взаимодействовать с лигандом, CD31. Активация рецептора посредством CD31 приводит к внутриклеточным событиям, включая мобилизацию Ca²⁺, активацию клеток, пролиферацию, дифференцировку и миграцию.

[006] CD38 экспрессируется на высоких уровнях на клетках множественной миеломы, в большинстве случаев, Т- и В-линейного острого лимфобластного лейкоза, некоторых острых миелоцитарных лейкозов, лимфом клеток центра фолликула и Т-лимфобластных лимфом. CD38 экспрессируется также на клетках В-линейного хронического лимфобластного лейкоза (В-CLL). В некоторых случаях, пациенты с В-CLL, представленной CD38+ клоном, характеризуются неблагоприятным клиническим течением с более поздними стадиями заболевания, плохой способностью отвечать на химиотерапию и более коротким временем выживаемости. Применение антител против CD38 предложено для лечения экспрессирующих CD38 злокачественных опухолей и гематологических злокачественных опухолей. Таким образом, может обеспечивать преимущества предоставление альтернативных антител против CD38, обладающих желательными производственными свойствами, свойствами стабильности и иммуногенными свойствами.

[007] Описано, что многочисленные пептидные и полипептидные лиганды функционируют посредством взаимодействия

с рецептором на поверхности клеток, и таким образом, стимуляции, ингибирования или иным образом модуляции биологического ответа, обычно вовлекающего пути передачи сигналов внутри клетки, несущей указанный рецептор. Примеры таких лигандов включают в себя пептидные и полипептидные гормоны, цитокины, хемокины, факторы роста и индуцирующие апоптоз факторы.

[008] Благодаря биологической активности таких лигандов, многие обладают потенциальным применением в качестве лекарственных средств. Несколько пептидных или полипептидных лигандов одобрены регулирующими органами в качестве терапевтических продуктов, включая, например, гормон роста человека, инсулин, интерферон (IFN)-альфа2b, IFN-альфа2a, IFN β , эритропоэтин, G-CSF и GM-CSF.

[009] В то время как для этих и других лигандов показан потенциал для терапевтических применений, они также могут проявлять токсичность при введении пациентам-людям. Одной из причин токсичности является то, что большинство из этих лигандов запускают рецепторы на множестве клеток, включая клетки, отличные от клеток, опосредующих желательный терапевтический эффект. Последствием такой «нецелевой» активности лигандов является то, что множество лигандов являются в настоящее время непригодными для использования в качестве лекарственных средств, поскольку лиганды невозможно вводить в достаточно высоких дозах для обеспечения максимальных или оптимальных терапевтических эффектов на клетки-мишени, которые опосредуют терапевтический эффект.

[010] Например, известно с середины 1980-х, что интерфероны, в частности IFN-альфа, являются способными увеличивать апоптоз и уменьшать пролиферацию конкретных клеток злокачественных опухолей. IFN-альфа одобрен FDA для лечения нескольких злокачественных опухолей, включая меланому, почечноклеточный рак, В-клеточную лимфому, множественную миелому, хронический миелогенный лейкоз (CML) и волосатоклеточный лейкоз. Прямой эффект IFN-альфа на клетки

опухолей опосредован IFN-альфа, связывающимся непосредственно с рецептором IFN типа I на этих клетках и стимулирующим апоптоз, терминальную дифференцировку или уменьшенную пролиферацию. Дополнительным непрямым эффектом IFN-альфа на незлокачественные клетки является стимуляция иммунной системы, которая может оказывать дополнительный противораковый эффект, заставляя иммунную систему отторгать опухоль.

[011] Эти виды биологической активности опосредованы рецепторами интерферона типа I на поверхности клеток злокачественных опухолей, которые, при стимуляции, инициируют различные пути передачи сигнала, приводящие к уменьшенной пролиферации и/или индукции терминальной дифференцировки или апоптозу. Рецептор интерферона типа I, однако, присутствует также на большинстве незлокачественных клеток. Активация этого рецептора на незлокачественных клетках посредством IFN-альфа вызывает экспрессию многочисленных провоспалительных цитокинов и хемокинов, приводя к токсичности и неблагоприятным эффектам. Такая токсичность может вызывать тяжелые подобные гриппу симптомы, что не допускает дозирование IFN-альфа субъекту на уровнях, проявляющих максимальную антипролиферативную и проапоптотическую активность для клеток злокачественных опухолей.

[012] Когда IFN-альфа2b используют для лечения множественной миеломы, его полезность заключается, по меньшей мере, частично, в его связывании с рецепторами интерферона типа I на клетках миеломы, что в свою очередь запускает апоптоз и/или уменьшает пролиферацию и таким образом ограничивает прогрессирование заболевания. К сожалению, однако, этот IFN также связывается со здоровыми клетками в организме, запуская множество других клеточных ответов, некоторые из которых являются опасными.

[013] В публикации Ozzello (Breast Cancer Research and Treatment 25:265-76,1993) описана химическая конъюгация IFN-альфа человека с нацеливающим на опухоли антителом, таким образом, локализация прямой ингибирующей активности IFN-альфа в опухоли в качестве способа уменьшения скорости роста опухоли, и

показано, что такие конъюгаты обладают противоопухолевой активностью в модели ксенотрансплантата злокачественной опухоли человека. Механизм наблюдаемой противораковой активности приписывают непосредственному эффекту IFN-альфа на клетки злокачественных опухолей, поскольку IFN-альфа человека, используемый в экспериментах, существенно не взаимодействовал с рецептором IFN типа I мыши, что могло привести к непрямому противораковому эффекту. Из-за этого отсутствия связывания IFN-альфа человека с клетками мыши, токсичность конъюгата антитело - IFN-альфа по сравнению со свободным IFN-альфа не оценивали.

[014] Антитела и IFN-альфа можно также соединять вместе в форме слитого белка. Например, в WO 01/97844 описано непосредственное слияние IFN-альфа человека с C-концом тяжелой цепи IgG, специфического для антигена опухоли CD20.

[015] Как правило, IFN можно нацеливать на клетки злокачественных опухолей. В то время как этот способ может приводить к увеличению активности IFN против клеток злокачественных опухолей, он полностью не решает проблемы нежелательной активности IFN по отношению к здоровым клеткам. Слияние IFN-альфа с C-концом тяжелой цепи IgG может продлевать время полужизни IFN альфа, приводя к нежелательным неблагоприятным событиям. Соответственно, существует необходимость уменьшения нецелевой активности лекарственных средств на основе лигандов, с сохранением в то же время «целевого» терапевтического эффекта таких лигандов.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ОПИСАНИЯ

[016] Описание относится к новым антителам против CD38 и конструкциям, содержащим антитело против CD38 и ослабленный IFN-альфа. Антитела, содержащие одну или множество мутаций в переменных областях их тяжелой и/или легкой цепи, сохраняют способность специфически связывать CD38, включая CD38, экспрессированный на поверхности клеток. Антитела можно сливать, например, с ослабленной формой интерферона альфа для формирования слитой конструкции антитело против CD38 - ослабленный интерферон.

[017] В некоторых аспектах выделенное антитело,

специфически связывающееся с CD38, содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 559, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 664. В некоторых аспектах выделенное антитело, которое специфически связывается с CD38, содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 665, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 666. В некоторых аспектах выделенное антитело, которое специфически связывается с CD38, содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 739, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 664. Аминокислотная последовательность переменной области тяжелой цепи из SEQ ID NO: 559 исключает аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 13. Аминокислотная последовательность переменной области легкой цепи из SEQ ID NO: 664 исключает аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 14. В некоторых аспектах выделенное антитело, которое специфически связывается с CD38, содержит CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 514 или SEQ ID NO: 697, CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 516, SEQ ID NO: 544, SEQ ID NO: 698 или SEQ ID NO: 737, и CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 518, SEQ ID NO: 534, SEQ ID NO: 535, SEQ ID NO: 536, SEQ ID NO: 699 или SEQ ID NO: 738, и может дополнительно содержать CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 319, SEQ ID NO: 583, SEQ ID NO: 590 или SEQ ID NO: 696, CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 235, SEQ ID NO: 307, SEQ ID NO: 311, SEQ ID NO: 585, SEQ ID NO: 591 или SEQ ID NO: 605, CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 237, SEQ ID NO: 321, SEQ ID

NO: 324, SEQ ID NO: 587 или SEQ ID NO: 594.

[018] В предпочтительных аспектах, переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 665, SEQ ID NO: 165, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 167, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 720, SEQ ID NO: 721, SEQ ID NO: 722, SEQ ID NO: 723, SEQ ID NO: 739, SEQ ID NO: 740, SEQ ID NO: 741, SEQ ID NO: 742, SEQ ID NO: 728, SEQ ID NO: 730, SEQ ID NO: 731. В предпочтительных аспектах, переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 660, SEQ ID NO: 661, SEQ ID NO: 662, SEQ ID NO: 663. SEQ ID NO: 161, SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 198 или SEQ ID NO: 700, SEQ ID NO: 701, SEQ ID NO: 704, SEQ ID NO: 705, SEQ ID NO: 706, SEQ ID NO: 707, SEQ ID NO: 708, SEQ ID NO: 709, SEQ ID NO: 710, SEQ ID NO: 711.

[019] Антитело, предпочтительно, является способным связываться с положительными по CD38 клетками. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 100 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 75 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 50 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 30 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 25 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 20 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 15 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее приблизительно 13 нМ. Антитело может связываться с положительными по CD38 клетками с значением EC₅₀ менее

приблизительно 10 нМ.

[020] Антитело может представлять собой моноклональное антитело, и предпочтительно, представляет собой полностью человеческое антитело. Антитело может содержать Fab. Антитело может содержать константную область IgG1 человека или константную область IgG4 человека. Константная область IgG1 или IgG4 может содержать тирозин в положении 252, треонин в положении 254 и глутаминовую кислоту в положении 256 в соответствии с системой нумерации EU. Константная область IgG4 может содержать пролин в положении 228 в соответствии с системой нумерации EU, и пролин в положении 228 может присутствовать в дополнение к тирозину в положении 252, треонину в положении 254 и глутаминовой кислоте в положении 256.

[021] В некоторых аспектах антитело сливают с ослабленным интерфероном альфа-2b. Интерферон альфа-2b может содержать замену аланина в положении 145 на глицин или аспарагиновую кислоту, включая интерферон альфа-2b, обладающий аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 649 или SEQ. ID NO: 651. Ослабленный интерферон альфа-2b можно сливать напрямую с C-концом константной области IgG1 или IgG4, и антитело может содержать аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 652, SEQ ID NO: 653, SEQ ID NO: 654, SEQ ID NO: 655, SEQ ID NO: 656, SEQ ID NO: 657, SEQ ID NO: 658, или SEQ ID NO: 694. Антитело, включая антитело, слитое с ослабленным интерфероном альфа-2b, может содержаться в композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель.

[022] Представлены выделенные полинуклеотиды, кодирующие антитело и антитело, слитое с ослабленным интерфероном альфа-2b. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты из SEQ ID NO: 667, SEQ ID NO: 670, SEQ ID NO: 671, SEQ ID NO: 672, SEQ ID NO: 673, SEQ ID NO: 674, SEQ ID NO: 668, SEQ ID NO: 669, SEQ ID NO: 675, SEQ ID NO: 676, или SEQ ID NO: 677, SEQ ID NO: 678, SEQ ID NO: 679, SEQ ID NO: 680, SEQ ID NO: 681, SEQ ID NO: 682, SEQ ID NO: 683, SEQ ID NO: 684, SEQ ID NO: 685, SEQ ID NO: 686, SEQ ID NO: 687, SEQ ID NO: 688,

SEQ ID NO: 689, SEQ ID NO: 690, SEQ ID NO: 691, SEQ ID NO: 692, SEQ ID NO: 693, SEQ ID NO: 695 SEQ ID NO: 702, SEQ ID NO: 703, SEQ ID NO: 712, SEQ ID NO: 713, SEQ ID NO: 714, SEQ ID NO: 715, SEQ ID NO: 716, SEQ ID NO: 717, SEQ ID NO: 718, SEQ ID NO: 719, SEQ ID NO: 724, SEQ ID NO: 725, SEQ ID NO: 726, SEQ ID NO: 727 SEQ ID NO: 732, SEQ ID NO: 733, SEQ ID NO: 734, SEQ ID NO: 735, SEQ ID NO: 743, SEQ ID NO: 744, SEQ ID NO: 745, SEQ ID NO: 746.

Полинуклеотиды могут содержать вектор. Вектор можно использовать, например, для трансформации клетки. Представлена также трансформированная клетка, содержащая такие полинуклеотиды. Трансформированная клетка может включать в себя клетку млекопитающих, клетку дрожжей или клетку насекомых.

[023] Представлены также стабильные клетки, экспрессирующие антитела. Экспрессирующие антитела клетки могут представлять собой клетки млекопитающих. Предпочтительными клетками являются клетки яичника китайского хомяка (CHO).

[024] Представлены наборы, содержащие антитела, слитые с ослабленным интерфероном альфа-2b. Наборы содержат слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b и инструкции для использования конструкции в способе ингибирования пролиферации клеток опухоли, экспрессирующих CD38 и рецептор интерферона альфа-2b на их поверхности, инструкции для использования конструкции в способе индукции апоптоза в клетках опухоли, экспрессирующих CD38 и рецептор для интерферона альфа-2b на их поверхности, инструкции для использования конструкции в способе лечения опухолей, содержащих клетки, экспрессирующие CD38 и рецептор для интерферон альфа-2b на их поверхности, у нуждающегося в этом субъекта, и необязательно, фармацевтически приемлемый носитель. Представлены наборы, содержащие антитела против CD38, и такие наборы содержат антитело против CD38 и инструкции для использованием антитела в способе детекции положительных по CD38 клеток опухоли в образце ткани, выделенном из субъекта, где антитело может, необязательно, являться слитым с белком ослабленным интерфероном альфа-2b.

[025] Слитые конструкции антитело против CD38 -

ослабленный интерферон альфа-2b можно использовать в качестве терапии при лечении опухолей, содержащих клетки, экспрессирующие CD38 и рецептор для интерферона альфа-2b на их поверхности. Как правило, способ лечения включает в себя введение субъекту, имеющему опухоль, слитой конструкции антитело против CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b в количестве, эффективном для лечения опухоли. Конструкция может содержать любую конструкцию, описанную или проиллюстрированную в настоящем документе. Субъект предпочтительно представляет собой млекопитающее, более предпочтительно, нечеловекообразного примата, и наиболее предпочтительно, человека. Опухоль может включать в себя В-клеточную лимфому, множественную миелому, неходжскинскую лимфому, хронический миелогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз или острый миелогенный лейкоз.

[026] Антитела против CD38, необязательно, слитые с белком ослабленного интерферона альфа-2b, можно использовать в способе детекции CD38 или положительных по CD38 клеток опухоли в образце ткани, выделенном из субъекта. Как правило, способ включает в себя контакт антитела, которое специфически связывается с CD38, с образцом ткани, выделенным из субъекта, и детекцию комплекса антитела и CD38 или положительной по CD38 клетки в образце ткани. Образец ткани может, как известно, иметь, или может, предположительно, иметь положительные по CD38 клетки опухолей. Ткань может содержать кровь или костный мозг. Положительная по CD38 клетка опухоли может представлять собой положительную по CD38 клетку В-клеточной лимфомы, клетку множественной миеломы, клетку неходжскинской лимфомы, клетку хронического миелогенного лейкоза, клетку хронического лимфоцитарного лейкоза или клетку острого миелогенного лейкоза. Субъект предпочтительно представляет собой млекопитающего, более предпочтительно, нечеловекообразного примата и наиболее предпочтительно, человека. Способ может включать в себя стадию выделения образца ткани из субъекта. Способ может дополнительно включать в себя контакт антитела с образцом ткани, который не содержит каких-либо положительных по CD38 клеток, например, чтобы служить в качестве отрицательного контроля.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[027] На фигуре 1 показан пример слитой конструкции анти-CD38 – ослабленный интерферон.

[028] На фигурах 2А и 2В показаны последовательности переменных областей тяжелой цепи Х02.1, родственных конструкций и наиболее гомологичная последовательность зародышевого антитела. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, подчеркнуты.

[029] На фигурах 3А и 3В показаны последовательности переменных областей легкой цепи Х02.1, родственных конструкций и наиболее гомологичная последовательность зародышевого антитела. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, подчеркнуты.

[030] На фигурах 4А–4D показаны последовательности переменных областей легкой цепи А02.1 и родственных конструкций. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, подчеркнуты

[031] На фигуре 5 показана консенсусная последовательность переменной области тяжелой цепи А02.1 и родственных конструкций. Включенные в рамку области содержат CDR (как указано), как определено по системе нумерации Kabat и усовершенствованной системе нумерации Chothia. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, показаны жирным шрифтом. CDR, определенные по усовершенствованной системе нумерации Chothia, подчеркнуты.

[032] На фигуре 6 показана консенсусная последовательность переменной области легкой цепи А02.1 и родственных конструкций. Включенные в рамку области содержат CDR (как указано), как определено по системе нумерации Kabat и усовершенствованной системе нумерации Chothia. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, показаны жирным шрифтом. CDR, определенные по усовершенствованной системе нумерации Chothia, подчеркнуты

[033] На фигурах 7А–7С показаны последовательности переменных областей тяжелой цепи из переменных областей гуманизированной тяжелой цепи. CDR, определенные по системе

нумерации Kabat, подчеркнуты.

[034] На фигурах 8А-8С показаны последовательности переменных областей тяжелой цепи из переменных областей гуманизированной легкой цепи. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, подчеркнуты.

[035] На фигурах 9А и 9В показана переменная область тяжелой цепи A10.0 и родственных конструкций. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, подчеркнуты.

[036] На фигурах 10А и 10В показана переменная область легкой цепи A10.0 и родственных конструкций. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, подчеркнуты.

[037] На фигуре 11 показана консенсусная последовательность переменной области тяжелой цепи A10.0 и родственных конструкций. Включенные в рамку области содержат CDR (как указано), как определено по системе нумерации Kabat и усовершенствованной системе нумерации Chothia. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, показаны жирным шрифтом. CDR, определенные по усовершенствованной системе нумерации Chothia, подчеркнуты.

[038] На фигуре 12 показана консенсусная последовательность переменной области легкой цепи A10.0 и родственных конструкций. Включенные в рамку области содержат CDR (как указано), как определено по системе нумерации Kabat и усовершенствованной системе нумерации Chothia. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, показаны жирным шрифтом. CDR, определенные по усовершенствованной системе нумерации Chothia, подчеркнуты.

[039] На фигуре 13 показана активность связывания вариантов A02.1 с экспрессирующей CD38 линией клеток множественной миеломы ARP-1, как измерено проточной цитометрией. Подробности анализа описаны в примерах из этого описания.

[040] На фигуре 14 показана активность связывания вариантов A02.1 с экспрессирующей CD38 линией клеток множественной миеломы NCI-H929, как измерено проточной цитометрией. Подробности анализа описаны в примерах из этого

описания.

[041] На фигурах 15 и 16 показана антипролиферативная активность вариантов A02.1 для линии клеток множественной миеломы ARP-1. А-изотип представляет собой антитело с не имеющей отношения к делу специфичностью, слитое с ослабленным интерфероном, в качестве контроля. Подробности анализа описаны в примерах (анализ пролиферации клеток).

[042] На фигуре 17 показана антипролиферативная активность IFN-альфа2b (интрона А) по сравнению с A02.1 и A10.0 и соответствующими им неслитыми антителами X02.1 и X10.0 для линии клеток множественной миеломы ARP-1. А-изотип представляет собой антитело с не имеющей отношения к делу специфичностью, слитое с ослабленным интерфероном, в качестве контроля. Подробности анализа описаны в примерах (анализ пролиферации клеток).

[043] На фигуре 18 показана относительная кратность изменения продукции аннексина V в экспрессирующей CD38 линии клеток множественной миеломы NCI-H929 при обработке A02.1 и A10.0 и соответствующими им неслитыми антителами X02.1 и X10.0 в течение 24 часов по сравнению с необработанным контролем. А-изотип представляет собой антитело с не имеющей отношения к делу специфичностью, слитое с ослабленным интерфероном, в качестве контроля. Подробности анализа описаны в примерах (анализ аннексина V).

[044] На фигуре 19 показана относительная кратность изменения активации каспазы в экспрессирующей CD38 линии клеток множественной миеломы H929 с IFN-альфа2b (интроном А) против A02.1 и родственных конструкций по сравнению с необработанными клетками. Изотип 145D представляет собой антитело с не имеющей отношения к делу специфичностью, слитое с ослабленным интерфероном, в качестве контроля. Подробности анализа описаны в примерах (анализ каспазы).

[045] На фигуре 20 показана нецелевая активность IFN-альфа2b (интрона А) по сравнению с A02.6 и A02.6, слитыми с IFN-альфа2b дикого типа (A02.6 (wt. IFN)), в отрицательных по CD38 клетках. Подробности анализа описаны в примерах (НЕК-

BLUE™).

[046] На фигуре 21 показана относительная кратность изменения продукции аннексина V в экспрессирующей CD38 линии клеток множественной миеломы H929 между конструкциями слитого белка субтипов IgG1 и IgG4 против CD38 - ослабленного IFN-альфа. А-изотип представляет собой неспецифическое антитело IgG4, слитое с ослабленным интерфероном, в качестве контроля. Антитела A02.12 и A10.0 содержат константные области IgG4, слитые с ослабленным IFN-альфа, в то время как A02.112 и A10.59 содержат константные области IgG1, слитые с ослабленным IFN-альфа. Подробности анализа описаны в примерах (анализ аннексина V/7AAD).

[047] На фигуре 22 показана активность связывания вариантов A10.0 с экспрессирующей CD38 линией клеток множественной миеломы NCI-H929, как измерено проточной цитометрией. Подробности анализа описаны в примерах из этого описания.

[048] На фигуре 23 показана активация каспазы в экспрессирующей CD38 линии клеток множественной миеломы H929 для A10.0 и A10.38 по сравнению с необработанными клетками. А-изотип представляет собой антитело с не имеющей отношения к делу специфичностью, слитое с ослабленным IFN, в качестве контроля. Подробности анализа описаны в примерах (анализ каспазы).

[049] На фигуре 24 показана относительная кратность изменения активации каспазы в экспрессирующей CD38 линии клеток множественной миеломы H929 посредством вариантов A10.0 по сравнению с необработанными клетками. Подробности анализа описаны в примерах (анализ каспазы).

[050] На фигуре 25 показана относительная кратность изменения продукции аннексина V в экспрессирующей CD38 линии клеток множественной миеломы H929 посредством вариантов A10.0. Подробности анализа описаны в примерах (анализ аннексина V/7AAD).

[051] На фигуре 26 показана антипролиферативная активность IFN-альфа2b (интрона А) по сравнению с конструкциями антител

A02.6, A10.0, A10.38 и исходного химерного A10A2.0 для линии клеток лимфомы Беркитта Daudi. А-изотип представляет собой антитело с не имеющей отношения к делу специфичностью, слитое с ослабленным IFN, в качестве контроля. Подробности анализа описаны в примерах (анализ пролиферации клеток).

[052] На фигуре 27 показаны эффекты конструкций с ослабленным интерфероном антител гуманизированного A10.0 по сравнению с химерным исходным A10A2.0 на рост подкожных опухолей миеломы H929 у мышей SCID. Прямоугольник, обозначенный «фаза лечения», показывает продолжительность лечения с помощью соединений.

[053] На фигуре 28 показана не нацеленная на антиген антитела активность IFN для вариантов A10.0, слитых с одним и тем же ослабленным белком IFN-альфа2b. Подробности анализа описаны в примерах («Анализ нецелевой активности» - анализ репортерного гена iLite).

[054] На фигуре 29 показана «нецелевая» активность IFN-альфа2b (интрона А) по сравнению с вариантами A10.0 и исходного химерного антитела A10A2.0, слитого с IFN-альфа2b дикого типа (химерное A10A2.0 (wt.IFN)). Подробности анализа описаны в примерах («Анализ нецелевой активности» - HEK-BLUE™).

[055] На фигуре 30 показаны консенсусные последовательности вариабельной области тяжелой цепи X910/12-НС-L0-интерферон-альфа (A145D) IgG4 и родственные последовательности. Заключение в рамку области содержат CDR (как указано), как определено по системе нумерации Kabat и усовершенствованной системе нумерации Chothia. CDR, определенные по системе нумерации Kabat, показаны жирным шрифтом. CDR, определенные по усовершенствованной системе нумерации Chothia, подчеркнуты.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[056] Различные термины, относящиеся к аспектам описания, используют на протяжении описания и формулы изобретения. Таким терминам следует давать их обычное значение в данной области, если не указано иначе. Другие конкретно определенные термины следует трактовать образом, согласующимся с определением,

представленным в настоящем документе.

[057] Термины субъект и пациент используют взаимозаменяемо, и они включают в себя любое млекопитающее. Млекопитающие являются предпочтительными, включая домашних и сельскохозяйственных млекопитающих, так же как грызунов, включая мышей, кроликов и крыс, и других грызунов. Нечеловекообразные приматы, такие как яванские макаки, являются более предпочтительными, и люди являются в высшей степени предпочтительными.

[058] Молекула, такая как антитело, является «выделенной», если она изменена и/или удалена из ее естественного окружения человеком.

[059] Как применяют в настоящем документе, формы единственного числа «a», «an» и «the» включают в себя ссылки на множественное число, если явно не указано иначе.

[060] Слитая конструкция антитело против CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b включает в себя, но без ограничения, любое антитело, описанное или проиллюстрированное в настоящем документе, которое специфически связывается с CD38, слитое с белком ослабленным интерфероном альфа-2b, включая интерферон альфа-2b из SEQ ID NO: 647, SEQ ID NO: 648, SEQ ID NO: 649, SEQ ID NO: 650 или SEQ ID NO: 651. В некоторых аспектах, слияние не мутантного белка интерферона альфа-2b, такого как SEQ ID NO: 7, с антителом против CD38 ослабляет биологическую активность молекулы интерферона. В этом описании, ослабленный интерферон, ослабленный интерферон альфа-2b, IFN-альфа2b A145D и IFN-альфа2b A145G используют взаимозаменяемо.

[061] Специфичность не обязательно является абсолютным обозначением, но может представлять собой относительный термин, выражающий степень избирательности конструкции слитого белка антитела с IFN-альфа для положительных по антигену клеток по сравнению с отрицательными по антигену клетками. Специфичность конструкции слитого белка антитела с IFN-альфа для положительной по антигену клетки опосредована переменными областями антитела, и обычно определяющими комплементарность областями (CDR) антитела. Конструкция может обладать 100-

кратной специфичностью для положительных по антигену клеток по сравнению с отрицательными по антигену клетками.

[062] CD38 содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 1, и CD38 яванского макака содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 2.

[063] Кроме того, наблюдали, что интерферон-альфа2b может являться ослабленным в отношении его биологической активности, опосредованной через связывание интерферона с рецептором интерферона на поверхности клеток, посредством введения конкретных аминокислотных замен в белковую последовательность. Ослабленную молекулу интерферона можно сливать с антителами, специфически связывающими CD38, так что антитело может служить в качестве носителя для доставки ослабленного интерферона к положительным по CD38 клеткам с уменьшением в результате нецелевой активности интерферона, вызванной ослабленной молекулой интерферона. Кроме того, наблюдали, что слияние ослабленного интерферона с антителами против CD38 значительно не влияет на способность антитела специфически связывать CD38 на клетках, экспрессирующих CD38, включая клетки в организме животных. Кроме того, наблюдали, что варианты антител против CD38 можно конструировать и экспрессировать так, что антитела обладают уменьшенной иммуногенностью и улучшенной стабильностью и временем полужизни без значительной потери специфичности или аффинности антитела против антигена CD38. Эти варианты антител можно сливать с ослабленным интерфероном.

[064] Соответственно, представлены антитела, специфически связывающие CD38. Кроме того, наблюдали, что такие антитела против CD38 можно применять в качестве носителей для доставки ослабленных лигандов, таких как интерферон альфа. Без намерения быть ограниченными какой-либо конкретной теорией или механизмом действия, считают, что антитела направляют интерферон альфа, к которому они присоединены, к положительным по CD38 клеткам, где интерферон может взаимодействовать с его рецептором. Считают, что антитело, в качестве носителя для доставки, компенсирует уменьшенную способность молекулы интерферона связываться с его рецептором. В этом смысле, ослабленный интерферон обладает

уменьшенной способностью взаимодействовать с его рецептором на здоровых клетках, и в частности, на клетках, которые не экспрессируют CD38. Считают что посредством приведения ослабленного интерферона в близкое соседство с его рецептором на положительных по CD38 клетках, антитела могут улучшать способность ослабленного интерферона связываться с его соответствующим рецептором и индуцировать терапевтический эффект, в то же время проявляя уменьшенную способность индуцировать нежелательные эффекты на здоровые клетки, которые не экспрессируют CD38.

[065] Антитела могут являться поликлональными, однако, в некоторых аспектах, не являются поликлональными. Антитела предпочтительно являются моноклональными. Антитела предпочтительно представляют собой полноразмерные антитела. Полноразмерные антитела, как правило, содержат вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи. Антитела могут содержать производные или фрагменты, или части антител, которые сохраняют специфичность связывания антигена, а также, предпочтительно, сохраняют большую часть или всю аффинность исходной молекулы антитела (например, для CD38). Например, производные могут содержать по меньшей мере одну вариабельную область (вариабельную область либо тяжелой цепи, либо легкой цепи). Другие примеры пригодных производных и фрагментов антител включают в себя, без ограничения, антитела с полиэпитопной специфичностью, биспецифические антитела, мультиспецифические антитела, диатела, одноцепочечные молекулы, так же как молекулы FAb, F(Ab')₂, Fd, Fabc и Fv, одноцепочечные (Sc) антитела, одноцепочечные Fv антитела (scFv), индивидуальные легкие цепи антител, индивидуальные тяжелые цепи антител, продукты слияния между цепями антител и другими молекулами, мономеры или димеры тяжелой цепи, мономеры или димеры легкой цепи, димеры, состоящие из одной тяжелой и одной легкой цепи, и другие мультимеры. одноцепочечные Fv антитела могут являться мультивалентными. Все изотипы антител можно использовать для получения производных, фрагментов и частей антител. Производные, фрагменты и/или части антител можно

получать рекомбинантным способом и экспрессировать посредством любого типа клеток, прокариотических или эукариотических.

[066] В некоторых вариантах осуществления выделенное антитело может относиться к моноклональному антителу, с которым IFN-альфа или ослабленный IFN-альфа, слит по С-концу константной области тяжелой цепи IgG. Когда моноклональное антитело обладает специфичностью связывания с CD38, и IFN-альфа представляет собой ослабленный IFN-альфа 2b, выделенное антитело обозначают также в настоящем документе как слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN-альфа, или слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный IFN-альфа.

[067] В полноразмерном антителе каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи (сокращенной в настоящем документе как HCVR или VH) и константной области тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи состоит из трех доменов, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из переменной области легкой цепи (сокращенной в настоящем документе как LCVR или VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена, CL. Области VH и VL можно далее подразделять на области гипервариабельности, обозначенные определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающиеся областями, являющимися более консервативными, обозначенными каркасными областями (FWR или FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FWR, аранжированных от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FWR1, CDR1, FWR2, CDR2, FWR3, CDR3, FWR4. Как правило, свойства связывания антигена антителом менее вероятно можно нарушить изменениями в последовательностях FWR, чем изменениями в последовательностях CDR. Молекулы иммуноглобулинов могут принадлежать к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу.

[068] Антитела могут происходить из любого вида. Например, антитела могут представлять собой антитела мыши, крысы, козы, лошади, свиньи, быка, верблюда, курицы, кролика, осла, ламы, одногорбого верблюда, акулы или человека, так же как антитела

из любого другого вида животных. Для использования в лечении человека, полученные не от человека антитела можно подвергать структурным изменениям, чтобы они были менее антигенными при введении пациенту-человеку, включая химеризацию или гуманизацию или супергуманизацию.

[069] В некоторых аспектах, антитела представляют собой гуманизированные антитела. Гуманизированные антитела представляют собой антитела, в которых аминокислоты, непосредственно вовлеченные в связывание антигена, *например*, определяющие комплементарность области (CDR) и в некоторых случаях, каркасные области (FWR) или их части, из тяжелых и/или легких цепей не имеют человеческого происхождения, в то время как остальные аминокислоты в антителе являются человеческими или иным образом имеют человеческое происхождение, *например*, каркасная область антитела человека. Гуманизированные антитела включают в себя также антитела, в которых один или несколько остатков человеческого белка модифицированы посредством одной или нескольких аминокислотных замен, и/или один или несколько остатков FWR человеческого белка заменены на соответствующие не имеющие человеческого происхождения остатки. Гуманизированные антитела могут также содержать остатки, не обнаруженные ни в человеческом антителе, ни в не относящемся к человеку антителе. Гуманизированное антитело может представлять собой супергуманизированное антитело, *например*, как описано в Патенте США No. 7732578. Антитела могут представлять собой гуманизированные химерные антитела.

[070] В высоко предпочтительных аспектах, антитела являются полностью человеческими. Полностью человеческие антитела представляют собой антитела, в которых полная молекула является человеческой или иным образом имеет человеческое происхождение, или включает аминокислотную последовательность, идентичную человеческой форме антитела. Полностью человеческие антитела включают в себя антитела, полученные из библиотеки генов V человека, *например*, где гены человека, кодирующие переменные области антител, экспрессированы рекомбинантным способом. Полностью человеческие антитела можно экспрессировать

в других организмах (*например, технологии на мышах и xenomouse*) или в клетках из других организмов, трансформированных генами, кодирующими человеческие антитела. Полностью человеческие антитела могут, тем не менее, включать аминокислотные остатки, не кодированные человеческими последовательностями, *например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом.*

[071] Антитела могут представлять собой полноразмерные антитела любого класса, *например, IgG1, IgG2 или IgG4.* Константные домены таких антител предпочтительно являются человеческими. Вариабельные области таких антител могут не иметь человеческое происхождение, или предпочтительно, имеют человеческое происхождение или являются гуманизированными. Фрагменты антител также можно использовать вместо полноразмерных антител.

[072] Антитела могут представлять собой миниантитела. Миниантитела включают в себя небольшие варианты полноразмерных антител, кодирующие в одной цепи необходимые элементы полноразмерного антитела. *Например, миниантитело может состоять из доменов VH и VL нативного антитела, слитых с шарнирной областью и доменом CH3 молекулы иммуноглобулина.*

[073] В некоторых аспектах, антитело может содержать не происходящие из иммуноглобулинов каркасные области белка. *Например, можно привести ссылку на (Ku & Schutz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6552-6556, 1995), в которой описан белок цитохром b562 с четырехспиральным пучком, обладающим двумя петлями, рандомизированными для создания CDR, которые отбирали по связыванию антигена.*

[074] Могут существовать природные варианты последовательностей среди тяжелых и легких цепей и кодирующих их генов, и таким образом, специалисты в данной области могут ожидать обнаружение некоторого уровня изменчивости в аминокислотных последовательностях или в кодирующих их генах, для антител, описанных и проиллюстрированных в настоящем документе. Эти варианты предпочтительно сохраняют уникальные свойства связывания (*например, специфичность и аффинность*)

исходного антитела. Такие ожидания обусловлены частично вырожденностью генетического кода, так же как известным эволюционным успехом консервативных замен аминокислотной последовательности, которые существенно не изменяют природу кодированного белка. Соответственно, такие варианты и гомологи считают по существу одинаковыми друг с другом и включают в объем описания. Антитела, таким образом, включают в себя варианты, обладающие одиночными или множественными замещениями, делециями, добавлениями или заменами аминокислот, сохраняющие биологические свойства (например, специфичность связывания и аффинность связывания) исходных антител. Варианты предпочтительно являются консервативными, но могут являться неконсервативными.

[075] Положения аминокислот, приписанные к CDR и FWR, можно определять в соответствии с Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 и 1991 (обозначенной также в настоящем документе как система нумерации Kabat). Кроме того, положения аминокислот, приписанные к CDR и FWR, можно определять в соответствии с усовершенствованной схемой нумерации Chothia (<http://www.bioinfo.org.uk/mdex.html>). Константную область тяжелой цепи антитела можно определять по системе нумерации EU (Edelman, GM et al. (1969)., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85).

[076] В соответствии с системой нумерации Kabat, FWR и CDR VH можно располагать следующим образом: остатки 1-30 (FWR1), 31-35 (CDR1), 36-49 (FWR2), 50-65 (CDR2), 66-94 (FWR3), 95-102 (CDR3) и 103-113 (FWR4), и FWR и CDR расположены следующим образом: остатки 1-23 (FWR1), 24-34 (CDR1), 35-49 (FWR2), 50-56 (CDR2), 57-88 (FWR3), 89-97 (CDR3) и 98-107 (FWR4). В некоторых случаях, длина переменных областей может быть увеличена, и в соответствии с системой нумерации Kabat некоторые аминокислоты можно обозначать номером с последующей буквой. Это описание не является ограниченным FWR и CDR, как определено по системе нумерации Kabat, но включает в себя все системы нумерации, включая каноническую систему нумерации или Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-17; Chothia et al. (1989) Nature

342:877-83; и/или Al-Lazikani et al. (1997) J. Mol. Biol. 273:927-48; систему нумерации Honnegher et al. (2001) J. Mol. Biol., 309:657-70; или систему IMGT, обсуждаемую в Giudicelli et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25:206-11. В некоторых аспектах CDR определяют в соответствии с системой нумерации Kabat.

[077] В некоторых конкретных аспектах, для любых субдоменов тяжелой цепи CDR2, описанных в настоящем документе, в соответствии с системой нумерации Kabat, пять С-концевых аминокислот могут не участвовать непосредственно в связывании антигена, и соответственно, понятно, что любую одну или несколько из этих пяти С-концевых аминокислот можно заменять на другую природную аминокислоту без существенного неблагоприятного воздействия на связывание антигена. В некоторых аспектах, для любых субдоменов легкой цепи CDR1, описанных в настоящем документе, в соответствии с системой нумерации Kabat, четыре N-концевые аминокислоты могут не участвовать непосредственно в связывании антигена, и соответственно, понятно, что любую одну или несколько из этих четырех аминокислот можно заменять на другую природную аминокислоту без существенного неблагоприятного воздействия на связывание антигена. Например, как описано в Padlan et al. (1995) FAS EB J. 9:133-139, пять С-концевых аминокислот CDR2 тяжелой цепи и/или четыре N-концевые аминокислоты CDR1 легкой цепи могут не участвовать в связывании антигена. В некоторых аспектах, как CDR2 тяжелой цепи, так и CDR1 легкой цепи не участвуют непосредственно в связывании антигена.

[078] В некоторых аспектах, химические аналоги аминокислот можно использовать в антителах, описанных и/или проиллюстрированных в настоящем документе. Использование химических аналогов аминокислот является полезным, например, для стабилизации молекул, как это необходимо для введения субъекту. Аналоги аминокислот, предусмотренные в настоящем документе, включают в себя, но без ограничения, модификации боковых цепей, включение неприродных аминокислот и/или их производных в ходе синтеза пептида, полипептида или белка и

использование перекрестно сшивающих средств, и другие способы, налагающие конформационные ограничения на белковые молекулы или их аналоги.

[079] Антитела могут содержать посттрансляционные модификации или группы, которые могут влиять на активность или стабильность антитела. Эти модификации или группы включают в себя, но без ограничения, метилированные, ацетилированные, гликозилированные, сульфатированные, фосфорилированные, карбоксилированные и амидированные группы и другие группы, хорошо известные в данной области. Группы включают в себя любую химическую группу или комбинации групп, обычно обнаруживаемые на молекулах иммуноглобулинов в природе или иным образом добавляемые к антителам посредством рекомбинантных систем экспрессии, включая прокариотические и эукариотические системы экспрессии.

[080] Примеры модификаций боковых цепей, предусмотренных по описанию, включают в себя модификации аминокислот, например, посредством восстановительного алкилирования посредством реакции с альдегидом с последующим восстановлением с помощью NaBH_4 ; амидинирование с помощью метилацетимидата; ацилирование с помощью уксусного ангидрида; карбамоилирование аминокислот с помощью цианата; тринитробензилирование аминокислот с помощью 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты (TNBS); ацилирование аминокислот с помощью янтарного ангидрида и тетрагидрофталевого ангидрида; и пиридоксильное метилирование лизина с помощью пиридоксаль-5-фосфата с последующим восстановлением с помощью NaBH_4 .

[081] Гуанидиновую группу остатков аргинина можно модифицировать посредством образования продуктов гетероциклической конденсации с такими реагентами, как 2,3-бутандион, фенилглиоксаль и глиоксаль.

[082] Карбоксильную группу можно модифицировать посредством карбодиимидной активации посредством образования O-ацилизоомочевины с последующей дериватизацией, например, до соответствующего амида.

[083] Сульфгидрильные группы можно модифицировать такими способами, как карбоксиметилирование с помощью иодуксусной

кислоты или иодацетамида; окисление надмуравьиной кислотой до цистеиновой кислоты; образование смешанных дисульфидов с другими тиоловыми соединениями; реакция с малеинимидом, малеиновым ангидридом или другим замещенным малеинимидом; образование производных ртути с использованием 4-хлормеркурибензоата, 4-хлормеркурифенилсульфоновой кислоты, хлорида фенилртути, 2-хлормеркури-4-нитрофенола и других соединений ртути; карбамоилирование цианатом при щелочном pH.

[084] Остатки триптофана можно модифицировать, например, окислением N-бромсукцинимидом или алкилированием индольного кольца 2-гидрокси-5-нитробензилбромидом или сульфенилгалогенидами. Остатки тирозина, с другой стороны, можно изменять посредством нитрирования с помощью тетранитрометана для образования производного 3-нитротирозина.

[085] Модификацию имидазольного кольца остатка гистидина можно осуществлять посредством алкилирования с помощью производных иодуксусной кислоты или N-карбэтоксилирования с помощью диэтилпирокарбоната.

[086] Перекрестно сшивающие средства можно использовать, например, для стабилизации 3D-конформаций антител и конструкций, с использованием гомо-бифункциональных сшивающих средств, таких как бифункциональные сложные имидоэфиры, обладающие спейсерными группами $(\text{CH}_2)_n$ с $n=1$ до $n=6$, глутаральдегид, сложные эфиры N-гидроксисукцинимиды и гетеробифункциональные реагенты, которые обычно содержат группу, реакционноспособную по отношению к аминогруппе, такую как N-гидроксисукцинимид, и группу, специфически реакционноспособную по отношению к другой группе, такую как малеимидогруппу или дитиогруппу (для SH), или карбодимид (для COOH).

[087] Антитела могут быть подвергнуты созреванию аффинности, или могут содержать аминокислотные замены, уменьшающие иммуногенность, например, посредством удаления мотивы связывания МНС класса II. Терапевтическую полезность антител, описанных в настоящем документе, можно дополнительно улучшать посредством модуляции их функциональных характеристик, таких как антителозависимая опосредуемая клетками

цитотоксичность (ADCC), комплементзависимая цитотоксичность (CDC), время полужизни в сыворотке, биораспределение и связывание с Fc рецепторами или комбинация любых из них. Этой модуляции можно достигать посредством белковой инженерии, гликоинженерии или химических способов. В зависимости от необходимого терапевтического применения, может предоставлять преимущества либо увеличение, либо уменьшение любого из этих видов активности. В примере гликоинженерии используют способ Potelligent®, как описано в Shinkawa T. et al. (2003) J. Biol. Chem. 278: 3466-73.

[088] Антитела могут включать в себя модификации, модулирующие их время полужизни в сыворотке и биораспределение, включая модификации, модулирующие взаимодействие антитела с неонатальным рецептором Fc (FcRn), рецептором с ключевой ролью в защите IgG от катаболизма и поддержанием высокой концентрации антител в сыворотке. Модулирующие время полужизни в сыворотке модификации могут происходить в области Fc IgG1 или IgG4, включая тройную замену M252Y/S254T/T256E (нумерация в соответствии с системой нумерации EU (Edelman, G.M. et al. (1969) Proc. Natl. Acad. USA 63, 78-85)), (например, SEQ ID NO: 656, SEQ ID NO: 657, SEQ ID NO: 658, SEQ ID NO: 694), как описано в Патенте США No. 7083784. Другие замены могут происходить в положениях 250 и 428, см., например, Патент США No 7217797, так же как в положениях 307, 380 и 434, см., например, WO 00/42072. Примеры аминокислотных замен в константных доменах, модулирующих связывание с рецепторами Fc и последующие функции, опосредованные этими рецепторами, включая связывание с FcRn и время полужизни в сыворотке, описаны в Публикациях США No. 2009/0142340, 2009/0068175 и 2009/0092599. Голые антитела могут обладать C-концевым лизином тяжелой цепи, исключенным или удаленным для уменьшения гетерогенности. Замена S228P (нумерация EU) в IgG4 человека может стабилизировать обмен Fab-плечей антител *in vivo* (Labrin et al. (2009) Nature Biotechnology 27:8; 767-773).

[089] Известно, что гликаны, связанные с молекулами антител, влияют на взаимодействие антитела с рецепторами Fc и

рецепторами гликана и таким образом влияют на активность антитела, включая время полужизни в сыворотке. Таким образом, конкретные гликоформы, модулирующие желательные виды активности антитела, могут обеспечивать терапевтическое преимущество. Способы получения сконструированных гликоформ включают в себя, но без ограничения, способы, описанные в Патентах США No. 6602684, 7326681 и 7388081, и Публикации РСТ No. WO 08/006554. Альтернативно, последовательности антител можно модифицировать для удаления участков присоединения соответствующих гликоформ.

[090] Антитела можно метить или конъюгировать с любыми химическими группами или группами биомолекул. Меченные антитела могут находить применение в терапевтических, диагностических применениях или применениях для фундаментальных исследований. Такие метки/конъюгаты могут подвергаться детекции, например, флуорохромы, радиоактивные метки, ферменты, флуоресцентные белки и биотин. Метки/конъюгаты могут представлять собой химиотерапевтические средства, токсины, изотопы и другие средства, используемые для лечения состояний, например, для уничтожения клеток злокачественных опухолей. Химиотерапевтические средства могут представлять собой любые средства, пригодные для целей, в которых используют антитело.

[091] Антитела можно дериватизировать посредством известных защитных/блокирующих групп для предотвращения протеолитического расщепления или улучшения активности или стабильности.

[092] Антитела предпочтительно обладают аффинностью связывания для эпитопа на CD38, включающей в себя константу диссоциации (K_d) менее приблизительно 1×10^{-2} М. В некоторых вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-3} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-4} М. В некоторых вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-5} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-6} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-7} М. В других вариантах осуществления K_d

составляет менее приблизительно 1×10^{-8} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-9} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-10} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-11} М. В некоторых вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-12} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-13} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-14} М. В других вариантах осуществления K_d составляет менее приблизительно 1×10^{-15} М. Значения аффинности относятся к значениям, полученным стандартными способами, включая анализы поверхностного плазмонного резонанса, такие как Biacore™ или анализы с использованием системы Octet® Red 96 (Forte Bio) Dip-and-Read.

[093] Антитела могут включать в себя одноцепочечную молекулу Fv (scFv), Fab или полноразмерное IgG. Любые такие антитела могут содержать тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%, или по меньшей мере приблизительно 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 659 или SEQ ID NO: 665, или SEQ ID NO: 736, при условии, что тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 659 или ее вариант, исключает аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 13. Следует понимать, что антитела, содержащие аминокислотные замены в их тяжелой цепи, сохраняют способность специфически связываться с CD38. Оставшаяся активность специфического связывания CD38 (включая аффинность) предпочтительно является приблизительно такой же, как активность связывания (включая аффинность) антител без каких-либо аминокислотных замен в тяжелой цепи, хотя активность связывания (включая аффинность) может быть меньше или больше,

чем у антитела без каких-либо аминокислотных замен в тяжелой цепи. Антитело может содержать легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%, или по меньшей мере приблизительно 100% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 664 или SEQ ID NO: 666, при условии, что легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 664 или ее вариант, исключает аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 14. Следует понимать, что антитела, содержащие аминокислотные замены в их легкой цепи, сохраняют способность специфически связываться с CD38. Оставшаяся активность специфического связывания CD38 (включая аффинность) предпочтительно, является приблизительно такой же, как активность связывания (включая аффинность) антител без каких-либо аминокислотных замен в легкой цепи, хотя активность связывания (включая аффинность) может быть меньше или больше, чем у антитела без каких-либо аминокислотных замен в легкой цепи.

[094] В некоторых аспектах, FWR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ. ID NO: 199, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 389, SEQ ID NO: 396, SEQ ID NO: 400, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 408, SEQ ID NO: 412, SEQ ID NO: 416, SEQ ID NO: 420, SEQ ID NO: 424, SEQ ID NO: 428, SEQ ID NO: 432, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 470, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 513, SEQ ID NO: 537, SEQ ID NO: 542, SEQ ID NO: 547, SEQ ID NO: 552, SEQ ID NO: 557, SEQ ID NO: 562, SEQ ID NO: 567, SEQ ID NO: 572, SEQ ID NO: 577 или SEQ ID NO: 748, и в некоторых аспектах, FWR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по

меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 389, SEQ ID NO: 396, SEQ ID NO: 400, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 408, SEQ ID NO: 412, SEQ ID NO: 416, SEQ ID NO: 420, SEQ ID NO: 424, SEQ ID NO: 428, SEQ ID NO: 432, SEQ ID NO: 466, SEQ ID NO: 470, SEQ ID NO: 472, SEQ ID NO: 474, SEQ ID NO: 476, SEQ ID NO: 478, SEQ ID NO: 480, SEQ ID NO: 482, SEQ ID NO: 486, SEQ ID NO: 488, SEQ ID NO: 513, SEQ ID NO: 537, SEQ ID NO: 542, SEQ ID NO: 547, SEQ ID NO: 552, SEQ ID NO: 557, SEQ ID NO: 562, SEQ ID NO: 567, SEQ ID NO: 572, SEQ ID NO: 577 или SEQ ID NO: 748. В некоторых аспектах, FWR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 229, SEQ ID NO: 391, SEQ ID NO: 397, SEQ ID NO: 401, SEQ ID NO: 405, SEQ ID NO: 409, SEQ ID NO: 413, SEQ ID NO: 417, SEQ ID NO: 421, SEQ ID NO: 425, SEQ ID NO: 429, SEQ ID NO: 433, SEQ ID NO: 515, SEQ ID NO: 520, SEQ ID NO: 521, SEQ ID NO: 522, SEQ ID NO: 523, SEQ ID NO: 524, SEQ ID NO: 525, SEQ ID NO: 538, SEQ ID NO: 543, SEQ ID NO: 548, SEQ ID NO: 553, SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 563, SEQ ID NO: 568, SEQ ID NO: 573, SEQ ID NO: 578, SEQ ID NO: 749 или SEQ ID NO: 750, и в некоторых аспектах, the тяжелая цепь FWR2 содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 229, SEQ ID NO: 391, SEQ ID NO: 397, SEQ ID NO: 401, SEQ ID NO: 405, SEQ ID NO: 409, SEQ

ID NO: 413, SEQ ID NO: 417, SEQ ID NO: 421, SEQ ID NO: 425, SEQ ID NO: 429, SEQ ID NO: 433, SEQ ID NO: 515, SEQ ID NO: 520, SEQ ID NO: 521, SEQ ID NO: 522, SEQ ID NO: 523, SEQ ID NO: 524, SEQ ID NO: 525, SEQ ID NO: 538, SEQ ID NO: 543, SEQ ID NO: 548, SEQ ID NO: 553, SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 563, SEQ ID NO: 568, SEQ ID NO: 573, SEQ ID NO: 578, SEQ ID NO: 749 или SEQ ID NO: 750. В некоторых аспектах, FWR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 393, SEQ ID NO: 399, SEQ ID NO: 403, SEQ ID NO: 407, SEQ ID NO: 411, SEQ ID NO: 415, SEQ ID NO: 419, SEQ ID NO: 423, SEQ ID NO: 427, SEQ ID NO: 431, SEQ ID NO: 435, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 517, SEQ ID NO: 530, SEQ ID NO: 531, SEQ ID NO: 532, SEQ ID NO: 533, SEQ ID NO: 540, SEQ ID NO: 545, SEQ ID NO: 550, SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 560, SEQ ID NO: 565, SEQ ID NO: 570, SEQ ID NO: 575, SEQ ID NO: 580, SEQ ID NO: 751 или SEQ ID NO: 752 и в некоторых аспектах, FWR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 221, SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 393, SEQ ID NO: 399, SEQ ID NO: 403, SEQ ID NO: 407, SEQ ID NO: 411, SEQ ID NO: 415, SEQ ID NO: 419, SEQ ID NO: 423, SEQ ID NO: 427, SEQ ID NO: 431, SEQ ID NO: 435, SEQ ID NO: 468, SEQ ID NO: 517, SEQ ID NO: 530, SEQ ID NO: 531, SEQ ID NO: 532, SEQ ID NO: 533, SEQ ID NO: 540, SEQ ID NO: 545, SEQ ID NO: 550, SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 560, SEQ ID NO: 565, SEQ ID NO: 570, SEQ ID NO: 575, SEQ ID NO: 580, SEQ ID NO: 751 или SEQ ID NO: 752. В некоторых аспектах, FWR4

тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 519, SEQ ID NO: 541, SEQ ID NO: 546, SEQ ID NO: 551, SEQ ID NO: 556, SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 566, SEQ ID NO: 571, SEQ ID NO: 576, SEQ ID NO: 581 или SEQ ID NO: 753, и в некоторых аспектах, FWR4 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 519, SEQ ID NO: 541, SEQ ID NO: 546, SEQ ID NO: 551, SEQ ID NO: 556, SEQ ID NO: 561, SEQ ID NO: 566, SEQ ID NO: 571, SEQ ID NO: 576, SEQ ID NO: 581 или SEQ ID NO: 753. Следует понимать, что антитела, содержащие аминокислотные замены в каркасной области(областях) тяжелой цепи (FWR1, FWR2, FWR3, и/или FWR4), сохраняют способность специфически связываться с CD38. Оставшаяся активность специфического связывания CD38 (включая аффинность) предпочтительно, является приблизительно такой же, как активность связывания (включая аффинность) антител без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо каркасной области(областях) тяжелой цепи, хотя активность связывания (включая аффинность) может быть меньше или больше, чем у антитела без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо каркасной области(областях) тяжелой цепи.

[095] В некоторых аспектах, CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 390, SEQ ID NO: 514, SEQ ID NO: 526, SEQ ID NO: 527, SEQ ID NO: 528, SEQ ID NO: 529, или SEQ ID NO: 697 и в некоторых аспектах, CDR1 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по

меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 390, SEQ ID NO: 514, SEQ ID NO: 526, SEQ ID NO: 527, SEQ ID NO: 528, SEQ ID NO: 529, или SEQ ID NO: 697. В некоторых аспектах, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 392, SEQ ID NO: 398, SEQ ID NO: 402, SEQ ID NO: 406, SEQ ID NO: 410, SEQ ID NO: 414, SEQ ID NO: 418, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 426, SEQ ID NO: 430, SEQ ID NO: 434, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 516, SEQ ID NO: 539, SEQ ID NO: 544, SEQ ID NO: 549, SEQ ID NO: 554, SEQ ID NO: 559, SEQ ID NO: 564, SEQ ID NO: 569, SEQ ID NO: 574, SEQ ID NO: 579, SEQ ID NO: 698 или SEQ ID NO: 737 и в некоторых аспектах, CDR2 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 392, SEQ ID NO: 398, SEQ ID NO: 402, SEQ ID NO: 406, SEQ ID NO: 410, SEQ ID NO: 414, SEQ ID NO: 418, SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 426, SEQ ID NO: 430, SEQ ID NO: 434, SEQ ID NO: 467, SEQ ID NO: 471, SEQ ID NO: 473, SEQ ID NO: 475, SEQ ID NO: 477, SEQ ID NO: 479, SEQ ID NO: 481, SEQ ID NO: 483, SEQ ID NO: 485, SEQ ID NO: 487, SEQ ID NO: 489, SEQ ID NO: 516, SEQ ID NO: 539, SEQ ID NO: 544, SEQ ID NO: 549, SEQ ID NO: 554, SEQ ID NO: 559, SEQ ID NO: 564, SEQ ID NO: 569, SEQ ID NO: 574, SEQ ID NO: 579, SEQ ID NO: 698 или SEQ ID NO: 737. В некоторых аспектах, CDR3 тяжелой

цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 231, SEQ ID NO: 394, SEQ ID NO: 469, SEQ ID NO: 518, SEQ ID NO: 534, SEQ ID NO: 535, SEQ ID NO: 536, SEQ ID NO: 699 или SEQ ID NO: 738 и в некоторых аспектах, CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 220, SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 231, SEQ ID NO: 394, SEQ ID NO: 469, SEQ ID NO: 518, SEQ ID NO: 534, SEQ ID NO: 535, SEQ ID NO: 536, SEQ ID NO: 699 или SEQ ID NO: 738. Следует понимать, что антитела, содержащие аминокислотные замены в определяющей комплементарности области(областях) (CDR1, CDR2 и/или CDR3) в тяжелой цепи, сохраняют способность специфически связываться с CD38. Оставшаяся активность специфического связывания CD38 (включая аффинность) предпочтительно, является приблизительно такой же, как активность связывания (включая аффинность) антител без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо определяющей комплементарности области(областях) тяжелой цепи, хотя активность связывания (включая аффинность) может быть меньше или больше, чем у антитела без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо определяющей комплементарности области(областях) тяжелой цепи.

[096] В некоторых аспектах, FWR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 259, SEQ ID NO: 260, SEQ ID NO: 261, SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 443, SEQ ID NO: 447, SEQ ID NO: 451, SEQ ID NO: 455, SEQ ID NO: 459, SEQ ID NO: 463, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 497, SEQ ID NO: 501, SEQ ID NO: 509, SEQ ID NO: 582, SEQ ID NO:

607, SEQ ID NO: 614, SEQ ID NO: 618, SEQ ID NO: 622, SEQ ID NO: 626, SEQ ID NO: 630, SEQ ID NO: 634 или SEQ ID NO: 638 и в некоторых аспектах, FWR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 247, SEQ ID NO: 259, SEQ ID NO: 260, SEQ ID NO: 261, SEQ ID NO: 436, SEQ ID NO: 443, SEQ ID NO: 447, SEQ ID NO: 451, SEQ ID NO: 455, SEQ ID NO: 459, SEQ ID NO: 463, SEQ ID NO: 490, SEQ ID NO: 497, SEQ ID NO: 501, SEQ ID NO: 509, SEQ ID NO: 582, SEQ ID NO: 607, SEQ ID NO: 614, SEQ ID NO: 618, SEQ ID NO: 622, SEQ ID NO: 626, SEQ ID NO: 630, SEQ ID NO: 634 или SEQ ID NO: 638. В некоторых аспектах, FWR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 234, SEQ ID NO: 246, SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 281, SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 285, SEQ ID NO: 287, SEQ ID NO: 289, SEQ ID NO: 291, SEQ ID NO: 293, SEQ ID NO: 295, SEQ ID NO: 297, SEQ ID NO: 438, SEQ ID NO: 444, SEQ ID NO: 448, SEQ ID NO: 452, SEQ ID NO: 456, SEQ ID NO: 460, SEQ ID NO: 464, SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 498, SEQ ID NO: 502, SEQ ID NO: 506, SEQ ID NO: 510, SEQ ID NO: 584, SEQ ID NO: 592, SEQ ID NO: 593, SEQ ID NO: 609, SEQ ID NO: 615, SEQ ID NO: 619, SEQ ID NO: 623, SEQ ID NO: 627, SEQ ID NO: 631, SEQ ID NO: 635 или SEQ ID NO: 639 и в некоторых аспектах, FWR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной

последовательностью из SEQ ID NO: 234, SEQ ID NO: 246, SEQ ID NO: 248, SEQ ID NO: 281, SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 285, SEQ ID NO: 287, SEQ ID NO: 289, SEQ ID NO: 291, SEQ ID NO: 293, SEQ ID NO: 295, SEQ ID NO: 297, SEQ ID NO: 438, SEQ ID NO: 444, SEQ ID NO: 448, SEQ ID NO: 452, SEQ ID NO: 456, SEQ ID NO: 460, SEQ ID NO: 464, SEQ ID NO: 492, SEQ ID NO: 498, SEQ ID NO: 502, SEQ ID NO: 506, SEQ ID NO: 510, SEQ ID NO: 584, SEQ ID NO: 592, SEQ ID NO: 593, SEQ ID NO: 609, SEQ ID NO: 615, SEQ ID NO: 619, SEQ ID NO: 623, SEQ ID NO: 627, SEQ ID NO: 631, SEQ ID NO: 635 или SEQ ID NO: 639. В некоторых аспектах, FWR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 236, SEQ ID NO: 245, SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 267, SEQ ID NO: 271, SEQ ID NO: 272, SEQ ID NO: 274, SEQ ID NO: 276, SEQ ID NO: 277, SEQ ID NO: 278, SEQ ID NO: 279, SEQ ID NO: 280, SEQ ID NO: 282, SEQ ID NO: 284, SEQ ID NO: 286, SEQ ID NO: 288, SEQ ID NO: 290, SEQ ID NO: 292, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 296, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 302, SEQ ID NO: 304, SEQ ID NO: 306, SEQ ID NO: 308, SEQ ID NO: 310, SEQ ID NO: 312, SEQ ID NO: 314, SEQ ID NO: 316, SEQ ID NO: 318, SEQ ID NO: 320, SEQ ID NO: 323, SEQ ID NO: 327, SEQ ID NO: 331, SEQ ID NO: 335, SEQ ID NO: 339, SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 347, SEQ ID NO: 351, SEQ ID NO: 355, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 363, SEQ ID NO: 367, SEQ ID NO: 371, SEQ ID NO: 375, SEQ ID NO: 379, SEQ ID NO: 383, SEQ ID NO: 387, SEQ ID NO: 440, SEQ ID NO: 445, SEQ ID NO: 449, SEQ ID NO: 453, SEQ ID NO: 457, SEQ ID NO: 461, SEQ ID NO: 465, SEQ ID NO: 494, SEQ ID NO: 499, SEQ ID NO: 503, SEQ ID NO: 507, SEQ ID NO: 511, SEQ ID NO: 586, SEQ ID NO: 611, SEQ ID NO: 616, SEQ ID NO: 620, SEQ ID NO: 624, SEQ ID NO: 628, SEQ ID NO: 632, SEQ ID NO: 636 или SEQ ID NO: 640, и в некоторых аспектах, FWR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99%

идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ. ID NO: 236, SEQ ID NO: 245, SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 267, SEQ ID NO: 271, SEQ ID NO: 272, SEQ ID NO: 274, SEQ ID NO: 276, SEQ ID NO: 277, SEQ ID NO: 278, SEQ ID NO: 279, SEQ ID NO: 280, SEQ ID NO: 282, SEQ ID NO: 284, SEQ ID NO: 286, SEQ ID NO: 288, SEQ ID NO: 290, SEQ ID NO: 292, SEQ ID NO: 294, SEQ ID NO: 296, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 302, SEQ ID NO: 304, SEQ ID NO: 306, SEQ ID NO: 308, SEQ ID NO: 310, SEQ ID NO: 312, SEQ ID NO: 314, SEQ ID NO: 316, SEQ ID NO: 318, SEQ ID NO: 320, SEQ ID NO: 323, SEQ ID NO: 327, SEQ ID NO: 331, SEQ ID NO: 335, SEQ ID NO: 339, SEQ ID NO: 343, SEQ ID NO: 347, SEQ ID NO: 351, SEQ ID NO: 355, SEQ ID NO: 359, SEQ ID NO: 363, SEQ ID NO: 367, SEQ ID NO: 371, SEQ ID NO: 375, SEQ ID NO: 379, SEQ ID NO: 383, SEQ ID NO: 387, SEQ ID NO: 440, SEQ ID NO: 445, SEQ ID NO: 449, SEQ ID NO: 453, SEQ ID NO: 457, SEQ ID NO: 461, SEQ ID NO: 465, SEQ ID NO: 494, SEQ ID NO: 499, SEQ ID NO: 503, SEQ ID NO: 507, SEQ ID NO: 511, SEQ ID NO: 586, SEQ ID NO: 611, SEQ ID NO: 616, SEQ ID NO: 620, SEQ ID NO: 624, SEQ ID NO: 628, SEQ ID NO: 632, SEQ ID NO: 636 или SEQ ID NO: 640. В некоторых аспектах, FWR4 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 238, SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 446, SEQ ID NO: 450, SEQ ID NO: 454, SEQ ID NO: 458, SEQ ID NO: 462, SEQ ID NO: 496, SEQ ID NO: 500, SEQ ID NO: 504, SEQ ID NO: 508, SEQ ID NO: 512, SEQ ID NO: 588, SEQ ID NO: 613, SEQ ID NO: 617, SEQ ID NO: 621, SEQ ID NO: 625, SEQ ID NO: 629, SEQ ID NO: 633, SEQ ID NO: 637 или SEQ ID NO: 641 и в некоторых аспектах, FWR4 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 238, SEQ ID NO: 442, SEQ ID NO: 446, SEQ ID NO: 450, SEQ

ID NO: 454, SEQ ID NO: 458, SEQ ID NO: 462, SEQ ID NO: 496, SEQ ID NO: 500, SEQ ID NO: 504, SEQ ID NO: 508, SEQ ID NO: 512, SEQ ID NO: 588, SEQ ID NO: 613, SEQ ID NO: 617, SEQ ID NO: 621, SEQ ID NO: 625, SEQ ID NO: 629, SEQ ID NO: 633, SEQ ID NO: 637 или SEQ ID NO: 641. Следует понимать, что антитела, содержащие аминокислотные замены в каркасной области (областях) (FWR1, FWR2, FWR3, и/или FWR4) легкой цепи сохраняют способность специфически связываться с CD38. Оставшаяся активность специфического связывания CD38 (включая аффинность) предпочтительно, является приблизительно такой же, как активность связывания (включая аффинность) антител без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо каркасной области (областях) легкой цепи, хотя активность связывания (включая аффинность) может быть меньше или больше, чем у антитела без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо каркасной области (областях) легкой цепи.

[097] В некоторых аспектах, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 250, SEQ ID NO: 525, SEQ ID NO: 255, SEQ ID NO: 262, SEQ ID NO: 263, SEQ ID NO: 319, SEQ ID NO: 322, SEQ ID NO: 325, SEQ ID NO: 329, SEQ ID NO: 333, SEQ ID NO: 337, SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 345, SEQ ID NO: 349, SEQ ID NO: 353, SEQ ID NO: 357, SEQ ID NO: 361, SEQ ID NO: 365, SEQ ID NO: 369, SEQ ID NO: 373, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 381, SEQ ID NO: 385, SEQ ID NO: 437, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 583, SEQ ID NO: 589, SEQ ID NO: 590, SEQ ID NO: 608, или SEQ ID NO: 696, и в некоторых аспектах, CDR1 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 233, SEQ ID NO: 250, SEQ ID NO: 525, SEQ ID NO: 255, SEQ ID NO: 262, SEQ ID NO: 263, SEQ ID

NO: 319, SEQ ID NO: 322, SEQ ID NO: 325, SEQ ID NO: 329, SEQ ID NO: 333, SEQ ID NO: 337, SEQ ID NO: 341, SEQ ID NO: 345, SEQ ID NO: 349, SEQ ID NO: 353, SEQ ID NO: 357, SEQ ID NO: 361, SEQ ID NO: 365, SEQ ID NO: 369, SEQ ID NO: 373, SEQ ID NO: 377, SEQ ID NO: 381, SEQ ID NO: 385, SEQ ID NO: 437, SEQ ID NO: 491, SEQ ID NO: 583, SEQ ID NO: 589, SEQ ID NO: 590, SEQ ID NO: 608, или SEQ ID NO: 696. В некоторых аспектах, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 235, SEQ ID NO: 249, SEQ ID NO: 253, SEQ ID NO: 264, SEQ ID NO: 299, SEQ ID NO: 301, SEQ ID NO: 303, SEQ ID NO: 305, SEQ ID NO: 307, SEQ ID NO: 309, SEQ ID NO: 311, SEQ ID NO: 313, SEQ ID NO: 315, SEQ ID NO: 317, SEQ ID NO: 326, SEQ ID NO: 330, SEQ ID NO: 334, SEQ ID NO: 338, SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 346, SEQ ID NO: 350, SEQ ID NO: 354, SEQ ID NO: 358, SEQ ID NO: 362, SEQ ID NO: 366, SEQ ID NO: 370, SEQ ID NO: 374, SEQ ID NO: 378, SEQ ID NO: 382, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 439, SEQ ID NO: 493, SEQ ID NO: 585, SEQ ID NO: 591, SEQ ID NO: 605, SEQ ID NO: 610 или SEQ ID NO: 747, и в некоторых аспектах, CDR2 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 235, SEQ ID NO: 249, SEQ ID NO: 253, SEQ ID NO: 264, SEQ ID NO: 299, SEQ ID NO: 301, SEQ ID NO: 303, SEQ ID NO: 305, SEQ ID NO: 307, SEQ ID NO: 309, SEQ ID NO: 311, SEQ ID NO: 313, SEQ ID NO: 315, SEQ ID NO: 317, SEQ ID NO: 326, SEQ ID NO: 330, SEQ ID NO: 334, SEQ ID NO: 338, SEQ ID NO: 342, SEQ ID NO: 346, SEQ ID NO: 350, SEQ ID NO: 354, SEQ ID NO: 358, SEQ ID NO: 362, SEQ ID NO: 366, SEQ ID NO: 370, SEQ ID NO: 374, SEQ ID NO: 378, SEQ ID NO: 382, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 439, SEQ ID NO: 493, SEQ ID NO: 585, SEQ ID NO: 591, SEQ ID NO: 605, SEQ ID NO: 610 или SEQ ID NO: 747. В некоторых аспектах, CDR3 легкой цепи содержит

аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 237, SEQ ID NO: 244, SEQ ID NO: 251, SEQ ID NO: 254, SEQ ID NO: 256, SEQ ID NO: 257, SEQ ID NO: 258, SEQ ID NO: 268, SEQ ID NO: 269, SEQ ID NO: 270, SEQ ID NO: 273, SEQ ID NO: 275, SEQ ID NO: 321, SEQ ID NO: 324, SEQ ID NO: 328, SEQ ID NO: 332, SEQ ID NO: 336, SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 344, SEQ ID NO: 348, SEQ ID NO: 352, SEQ ID NO: 356, SEQ ID NO: 360, SEQ ID NO: 364, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 372, SEQ ID NO: 376, SEQ ID NO: 380, SEQ ID NO: 384, SEQ ID NO: 388, SEQ ID NO: 441, SEQ ID NO: 495, SEQ ID NO: 587, SEQ ID NO: 594, SEQ ID NO: 595, SEQ ID NO: 596, SEQ ID NO: 597, SEQ ID NO: 598, SEQ ID NO: 599, SEQ ID NO: 600, SEQ ID NO: 601, SEQ ID NO: 602, SEQ ID NO: 603, SEQ ID NO: 604, SEQ ID NO: 606 или SEQ ID NO: 612, и в некоторых аспектах, CDR3 легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 237, SEQ ID NO: 244, SEQ ID NO: 251, SEQ ID NO: 254, SEQ ID NO: 256, SEQ ID NO: 257, SEQ ID NO: 258, SEQ ID NO: 268, SEQ ID NO: 269, SEQ ID NO: 270, SEQ ID NO: 273, SEQ ID NO: 275, SEQ ID NO: 321, SEQ ID NO: 324, SEQ ID NO: 328, SEQ ID NO: 332, SEQ ID NO: 336, SEQ ID NO: 340, SEQ ID NO: 344, SEQ ID NO: 348, SEQ ID NO: 352, SEQ ID NO: 356, SEQ ID NO: 360, SEQ ID NO: 364, SEQ ID NO: 368, SEQ ID NO: 372, SEQ ID NO: 376, SEQ ID NO: 380, SEQ ID NO: 384, SEQ ID NO: 388, SEQ ID NO: 441, SEQ ID NO: 495, SEQ ID NO: 587, SEQ ID NO: 594, SEQ ID NO: 595, SEQ ID NO: 596, SEQ ID NO: 597, SEQ ID NO: 598, SEQ ID NO: 599, SEQ ID NO: 600, SEQ ID NO: 601, SEQ ID NO: 602, SEQ ID NO: 603, SEQ ID NO: 604, SEQ ID NO: 606 или SEQ ID NO: 612. Следует понимать, что антитела, содержащие аминокислотные замены в определяющей комплементарности области(областях) (CDR1, CDR2, и/или CDR3) легкой цепи, сохраняют способность специфически связываться с

CD38. Оставшаяся активность специфического связывания CD38 (включая аффинность) предпочтительно, является приблизительно такой же, как активность связывания (включая аффинность) антител без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо определяющей комплементарности области (областях) легкой цепи, хотя активность связывания (включая аффинность) может быть меньше или больше, чем у антитела без каких-либо аминокислотных замен в какой-либо определяющей комплементарности области (областях) легкой цепи.

[098] В некоторых аспектах, антитело содержит конкретные пары тяжелой и легкой цепи. Тяжелые цепи, обладающие аминокислотными последовательностями из SEQ ID NO: 659, могут быть спарены с любыми легкими цепями, обладающими аминокислотными последовательностями из SEQ ID NO: 664, или тяжелые цепи, обладающие аминокислотными последовательностями из SEQ ID NO: 665 могут быть спарены с любыми легкими цепями, обладающими аминокислотными последовательностями из SEQ ID NO: 666, или тяжелая цепь, обладающая аминокислотными последовательностями из SEQ ID NO: 736 может быть спарена с любыми легкими цепями, обладающими аминокислотными последовательностями из SEQ ID NO: 664.

[099] Пары переменных тяжелых и переменных легких цепей могут содержать пары из следующей таблицы:

Наименование антитела	Переменная тяжелая цепь SEQ ID NO: (аминокислота)	Переменная легкая цепь SEQ ID NO: (аминокислота)
A02.10	19	14
<u>A02.11</u>	20	14
A02.112	34	65
A02.12	34	65
A02.13	35	65
A02.16	34	92
A02.17	34	93
A02.18	34	73

A02.19	34	74
A02.2	13	65
A02.20	34	75
A02.21	34	76
A02.22	34	77
A02.23	34	78
A02.24	34	79
A02.25	34	80
A02.26	34	81
A02.27	34	82
A02.28	34	83
A02.29	34	84
A02.3	17	65
A02.30	34	85
A02.31	34	86
A02.32	34	87
A02.33	34	88
A02.34	34	89
A02.35	34	90
A02.36	34	91
A02.37	34	66
A02.38	34	113
A02.39	34	112
A02.4	18	65
A02.40	111	65
A02.41	110	65
A02.43	110	113
A02.44	111	112
A02.46	34	67
A02.47	34	68
A02.48	34	69
A02.49	34	70
A02.5	19	65
A02.50	34	71

A02.51	34	72
A02.52	34	94
A02.53	34	95
A02.54	34	96
A02.55	34	97
A02.56	34	98
A02.57	34	99
A02.58	34	100
A02.59	34	101
A02.6	20	65
A02.60	34	102
A02.61	34	103
A02.62	34	104
A02.63	34	105
A02.64	34	106
A02.65	34	107
A02.66	34	108
A02.67	34	109
A02.8	17	14
A02.9	18	14
A10.1	165	161
A10.10	174	161
A10.11	175	161
A10.12	176	161
A10.13	177	161
A10.14	178	161
A10.15	179	161
A10.16	180	161
A10.17	156	181
A10.18	156	182
A10.19	156	183
A10.2	166	161
A10.20	156	184
A10.21	156	185

A10.22	156	186
A10.23	156	187
A10.24	156	188
A10.25	156	189
A10.26	156	190
A10.27	156	191
A10.28	156	192
A10.29	156	193
A10.3	167	161
A10.30	156	194
A10.31	156	195
A10.32	156	196
A10.35	197	161
A10.36	156	198
A10.38	152	161
A10.39	152	181
A10.4	168	161
A10.40	152	182
A10.41	152	183
A10.42	152	184
A10.43	152	185
A10.44	152	186
A10.45	152	187
A10.46	152	188
A10.47	152	189
A10.48	152	190
A10.49	152	191
A10.5	169	161
A10.50	152	192
A10.51	152	193
A10.52	152	194
A10.53	152	195
A10.54	152	196
A10.57	152	198

A10.59	156	161
A10.6	170	161
A10.7	171	161
A10.8	172	161
A10.9	173	161
A10A2.0 (химерное)	148	157
A10A2.1	149	158
A10A2.10	150	160
A10A2.11	150	161
A10A2.12	150	162
A10A2.13	150	163
A10A2.14	150	164
A10A2.15	151	158
A10A2.16	151	159
A10A2.17	151	160
A10A2.18	151	161
A10A2.19	151	162
A10A2.2	149	159
A10A2.20	151	163
A10A2.21	151	164
A10A2.22	152	158
A10A2.23	152	159
A10A2.24	152	160
A10A2.25	152	161
A10A2.26	152	162
A10A2.27	152	163
A10A2.28	152	164
A10A2.29	153	158
A10A2.3	149	160
A10A2.30	153	159
A10A2.31	153	160
A10A2.32	153	161
A10A2.33	153	162

A10A2.34	153	163
A10A2.35	153	164
A10A2.36	154	158
A10A2.37	154	159
A10A2.38	154	160
A10A2.39	154	161
A10A2.4	149	161
A10A2.40	154	162
A10A2.41	154	163
A10A2.42	154	164
A10A2.43	154	158
A10A2.44	155	159
A10A2.45	155	160
A10A2.46	155	161
A10A2.47	155	162
A10A2.48	155	163
A10A2.49	155	164
A10A2.5	149	162
A10A2.50	156	158
A10A2.51	156	159
A10A2.52	156	160
A10A2.53	156	161
A10A2.54	156	162
A10A2.55	156	163
A10A2.56	156	164
A10A2.6	149	163
A10A2.7	149	164
A10A2.8	150	158
A10A2.9	150	159
A5D1.0 (химерное)	114	125
A5D1.1	115	126
A5D1.10	116	129
A5D1.11	116	130

A5D1.12	116	131
A5D1.13	117	126
A5D1.14	117	127
A5D1.15	117	128
A5D1.16	117	129
A5D1.17	117	130
A5D1.18	117	131
A5D1.19	118	126
A5D1.2	115	127
A5D1.20	118	127
A5D1.21	118	128
A5D1.22	118	129
A5D1.23	118	130
A5D1.24	118	131
A5D1.25	119	126
A5D1.26	119	127
A5D1.27	119	128
A5D1.28	119	129
A5D1.29	119	130
A5D1.3	115	128
A5D1.30	119	131
A5D1.31	120	126
A5D1.32	120	127
A5D1.33	120	128
A5D1.34	120	129
A5D1.35	120	130
A5D1.36	120	131
A5D1.37	121	126
A5D1.38	121	127
A5D1.39	121	128
A5D1.4	115	129
A5D1.40	121	129
A5D1.41	121	130
A5D1.42	121	131

A5D1.43	122	126
A5D1.44	122	127
A5D1.45	122	128
A5D1.46	122	129
A5D1.47	122	130
A5D1.48	122	131
A5D1.49	123	126
A5D1.5	115	130
A5D1.50	123	127
A5D1.51	123	128
A5D1.52	123	129
A5D1.53	123	130
A5D1.54	123	131
A5D1.55	124	126
A5D1.56	124	127
A5D1.57	124	128
A5D1.58	124	129
A5D1.59	124	130
A5D1.6	115	131
A5D1.60	124	131
A5D1.7	116	126
A5D1.8	116	127
A5D1.9	116	128
A5E8.0 (химерное)	132	143
A5E8.1	133	144
A5E8.10	135	145
A5E8.11	135	146
A5E8.12	135	147
A5E8.13	136	144
A5E8.14	136	145
A5E8.15	136	146
A5E8.16	136	147
A5E8.17	137	144

A5E8.18	137	145
A5E8.19	137	146
A5E8.2	133	145
A5E8.20	137	147
A5E8.21	138	144
A5E8.22	138	145
A5E8.23	138	146
A5E8.24	138	147
A5E8.25	139	144
A5E8.26	139	145
A5E8.27	139	146
A5E8.28	139	147
A5E8.29	140	144
A5E8.3	133	146
A5E8.30	140	145
A5E8.31	140	146
A5E8.32	140	147
A5E8.33	141	144
A5E8.34	141	145
A5E8.35	141	146
A5E8.36	141	147
A5E8.37	142	144
A5E8.38	142	145
A5E8.39	142	146
A5E8.4	133	147
A5E8.40	142	147
A5E8.5	134	144
A5E8.6	134	145
A5E8.7	134	146
A5E8.8	134	147
A5E8.9	135	144
X02.10	19	14
X02.100	13	58
X02.101	13	59

X02.102	13	60
X02.103	13	61
X02.104	13	62
X02.105	13	63
X02.106	13	64
X02.107	13	65
X02.108	32	14
<u>X02.11</u>	20	14
X02.110	33	14
X02.114	13	660
X02.115	13	661
X02.116	13	662
X02.117	13	663
X02.118	34	700
X02.119	34	701
X02.120	728	700
X02.121	729	700
X02.122	730	700
X02.123	731	700
X02.124	728	701
X02.125	729	701
X02.126	730	701
X02.127	731	701
X02.68	21	14
X02.69	22	14
X02.70	23	14
X02.71	24	14
X02.72	25	14
X02.73	26	14
X02.74	27	14
X02.75	28	14
X02.76	29	14
X02.77	30	14
X02.78	31	14

X02.8	17	14
X02.80	13	38
X02.81	13	39
X02.82	13	40
X02.83	13	41
X02.84	13	42
X02.85	13	43
X02.86	13	44
X02.87	13	45
X02.88	13	46
X02.89	13	47
X02.9	18	14
X02.90	13	48
X02.91	13	49
X02.92	13	50
X02.93	13	51
X02.94	13	52
X02.95	13	53
X02.96	13	54
X02.97	13	55
X02.98	13	56
X02.99	13	57
X10.100	720	706
X10.101	721	706
X10.102	722	706
X10.103	723	706
X10.104	739	706
X10.105	740	706
X10.106	741	706
X10.107	742	706
X10.108	720	707
X10.109	721	707
X10.110	722	707
X10.111	723	707

X10.112	739	707
X10.113	740	707
X10.114	741	707
X10.115	742	707
X10.116	720	708
X10.117	721	708
X10.118	722	708
X10.119	723	708
X10.120	739	708
X10.121	740	708
X10.122	741	708
X10.123	742	708
X10.124	720	709
X10.125	721	709
X10.126	722	709
X10.127	723	709
X10.128	739	709
X10.129	740	709
X10.130	741	709
X10.131	742	709
X10.132	720	710
X10.133	721	710
X10.134	722	710
X10.135	723	710
X10.136	739	710
X10.137	740	710
X10.138	741	710
X10.139	742	710
X10.140	720	711
X10.141	721	711
X10.142	722	711
X10.143	723	711
X10.144	739	711
X10.145	740	711

X10.146	741	711
X10.147	742	711
X10.60	156	704
X10.61	156	705
X10.62	156	706
X10.63	156	707
X10.64	156	708
X10.65	156	709
X10.66	156	710
X10.67	156	711
X10.68	720	161
X10.69	721	161
X10.70	722	161
X10.71	723	161
X10.72	739	161
X10.73	740	161
X10.74	741	161
X10.75	742	161
X10.76	152	704
X10.77	152	705
X10.78	152	706
X10.79	152	707
X10.80	152	708
X10.81	152	709
X10.82	152	710
X10.83	152	711
X10.84	720	704
X10.85	721	704
X10.86	722	704
X10.87	723	704
X10.88	739	704
X10.89	740	704
X10.90	741	704
X10.91	742	704

X10.92	720	705
X10.93	721	705
X10.94	722	705
X10.95	723	705
X10.96	739	705
X10.97	740	705
X10.98	741	705
X10.99	742	705
X910/12-НС- L0-IFN-альфа (A145D) IgG4	110	112
X913/15-НС- L0-IFN-альфа (A145D) IgG4	111	113

[0100] Антитела можно сливать с ослабленными лигандами, например, для формирования конструкций антитело - ослабленный лиганд, для которых показан повышенный индекс специфичности для антигена по отношению к активации путей передачи сигнала из-за действия ослабленного лиганда на рецептор поверхности клеток. Эти конструкции основаны на наблюдении, что, в контексте конструкции антитело-лиганд, часть лиганда можно подвергать мутагенезу таким образом, что активность лиганда на отрицательных по антигену клетках является существенно ослабленной, в то время как активность лиганда на положительных по антигену клетках является только умеренно ослабленной, если вообще ослабленной. Для таких конструкций показана на один, два, три, четыре или пять порядков величины большая активность на положительных по антигену клетках по сравнению с активностью на отрицательных по антигену клетках, чем для свободного лиганда. В некоторых аспектах конструкция антитело - ослабленный лиганд сохраняет по меньшей мере 1%, по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% активности на положительных по антигену клетках от активности неослабленного свободного (т.е., не присоединенного к антителу) лиганда. В некоторых аспектах,

конструкция антитело – ослабленный лиганд сохраняет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 75% или по меньшей мере 90% от максимальной активности неослабленного свободного (т.е., не присоединенного к антителу) лиганда. Максимальная активность включает в себя уровень активности передачи сигнала (или ее нижестоящего эффекта) на части высокого плато кривой зависимости ответа от дозы, где дальнейшее увеличение количества средства не увеличивает далее уровень ответа.

[0101] В некоторых аспектах, слияние антитела с лигандом интерфероном и включение ослабляющей мутации (мутаций) в лиганд интерферон увеличивает индекс специфичности к антигену (ASI) более чем в 10 раз, предпочтительно, более чем в 50 раз, предпочтительно, более чем в 100 раз, предпочтительно, более чем в 1000 раз, или предпочтительно, более чем в 10000 раз, относительно не слитого антитела. ASI включает в себя кратность увеличения активности передачи сигнала конструкцией антитело – лиганд IFN по сравнению со свободным не мутированным полипептидным лигандом в положительных по антигену клетках-мишенях, умноженную на кратность уменьшения активности передачи сигнала относительно свободного не мутированного полипептидного лиганда в отрицательных по антигену клетках-мишенях. Активность можно количественно выражать посредством значения EC_{50} , которое представляет математическую среднюю точки кривой зависимости ответа от дозы, в которой доза относится к концентрации лиганда или конструкции антитело-лиганд в анализе, и ответ относится к количественному ответу клеток на активность передачи сигнала лигандом в конкретной дозе. Таким образом, например, когда показано, что первое соединение обладает EC_{50} (выраженной, например, в молярных единицах), в 10 раз более низкой, чем EC_{50} второго соединения в таких же клетках, как правило, при измерении таким же способом, говорят, что первое соединение обладает в 10 раз более высокой активностью. И наоборот, когда показано, что первое соединение обладает EC_{50} , в 10 раз более высокой, чем EC_{50} второго соединения в таких же клетках, как правило, при измерении таким же способом, говорят, что первое

соединение обладает в 10 раз более низкой активностью.

[0102] Антитела предпочтительно являются способными связываться с положительными по CD38 клетками. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 100 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 75 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 50 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 30 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 25 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 20 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 18 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 15 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 13 нМ. Антитело может связываться с положительной по CD38 клеткой с значением EC_{50} менее приблизительно 10 нМ.

[0103] Интерферон, связанный с антителом, предпочтительно, содержит изменения в его аминокислотной последовательности, включая точечные мутации и/или делеции, делающие интерферон менее активным в стимуляции его соответствующих рецепторов на клетках с отсутствием экспрессии на поверхности клеток антигена CD38, с которым связывается антитело. Высоко предпочтительный вариант интерферона альфа содержит аминокислотную замену в положении 168 молекулы интерферона альфа 2b из SEQ. ID NO: 7. Например, аминокислоту в положении 168, которая представляет собой аланин в исходной молекуле IFN-альфа2b, предпочтительно, заменяют на глицин (Gly/G) (SEQ ID NO: 650) или аспарагиновую кислоту (Asp/D) (SEQ ID NO: 647). В некоторых аспектах, IFN-альфа2b укорачивают на его N-конце, когда IFN-альфа2b сливают с

константным доменом тяжелой цепи IgG, таким как константный домен тяжелой цепи IgG1 человека или константный домен тяжелой цепи IgG4 человека. Укороченный IFN-альфа2b не имеет двадцати трех N-концевых аминокислот из SEQ ID NO: 7 (от Met 1 до Gly 23 делетированы), и укороченный IFN-альфа2b содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 648. Укороченный IFN-альфа2b может также содержать аминокислотную замену в том, что ранее являлось положением 168, но стало положением 145 в укороченном белке (например, аланин 168 становится аланином 145). В укороченном IFN-альфа2b, аланин предпочтительно заменяют на глицин (Gly/G) (SEQ ID NO: 651) или аспарагиновую кислоту (Asp/D) (SEQ ID NO: 649). Интерферон с заменой A145D (SEQ ID NO: 647 или SEQ ID NO: 649) является особенно предпочтительным в качестве ослабленного лиганда, слитого с антителами по описанию. Любой из этих ослабленных вариантов IFN-альфа с точечными мутациями можно сливать с любым антителом, описанным в настоящем документе, например, в форме конструкции антитело - ослабленный интерферон.

[0104] Связь между антителом и интерфероном предпочтительно содержит слияние, например, пептидная связь между N- или C-концом интерферона и N- или C-концом тяжелой или легкой цепи антитела. В высоко предпочтительных аспектах, между антителом и интерфероном не присутствует линкера, и антитело и интерферон являются, таким образом, слитыми напрямую. Считают, что непосредственное слияние без промежуточного линкерного пептида обеспечивает по меньшей мере поддающуюся измерению степень ослабления белка интерферона, и считают также, что это ослабление является аддитивным с ослаблением белка интерферона, происходящим от мутаций, введенных в белок интерферон, включая мутации, описанные или проиллюстрированные в настоящем документе.

[0105] Полинуклеотидные последовательности, кодирующие антитела и их субдомены (например, FWR и CDR), упомянуты в качестве признаков в описании. Полинуклеотиды включают в себя, но без ограничения, РНК, ДНК, кДНК, гибриды РНК и ДНК, и одно-, двух- или трехцепочечные цепи РНК, ДНК или их гибриды.

[0106] В некоторых аспектах, полинуклеотиды кодируют тяжелую цепь антитела, которая специфически связывается с эпитопом на CD38. Полинуклеотид может кодировать тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность из любой из SEQ ID NO: 667, SEQ ID NO: 668, SEQ ID NO: 679, SEQ ID NO: 680, SEQ ID NO: 681, SEQ ID NO: 682, SEQ ID NO: 683, SEQ ID NO: 684, SEQ ID NO: 685, SEQ ID NO: 686, SEQ ID NO: 695, SEQ ID NO: 724, SEQ ID NO: 725, SEQ ID NO: 726, SEQ ID NO: 727, SEQ ID NO: 732, SEQ ID NO: 733, SEQ ID NO: 734, SEQ ID NO: 735, SEQ ID NO: 743, SEQ ID NO: 744, SEQ ID NO: 745 или SEQ ID NO: 746. Полинуклеотид может кодировать легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность из любой из SEQ ID NO: 669, SEQ ID NO: 670, SEQ ID NO: 671, SEQ ID NO: 672, SEQ ID NO: 673, SEQ ID NO: 674, SEQ ID NO: 675, SEQ ID NO: 676, SEQ ID NO: 677, SEQ ID NO: 678, SEQ ID NO: 688, SEQ ID NO: 689, SEQ ID NO: 690, SEQ ID NO: 691, SEQ ID NO: 692, SEQ ID NO: 693, SEQ ID NO: 702, SEQ ID NO: 703, SEQ ID NO: 712, SEQ ID NO: 713, SEQ ID NO: 714, SEQ ID NO: 715, SEQ ID NO: 716, SEQ ID NO: 717, SEQ ID NO: 718 или SEQ ID NO: 719. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты из любой из SEQ ID NO: 667, SEQ ID NO: 668, SEQ ID NO: 679, SEQ ID NO: 680, SEQ ID NO: 681, SEQ ID NO: 682, SEQ ID NO: 683, SEQ ID NO: 684, SEQ ID NO: 685, SEQ ID NO: 686, SEQ ID NO: 695, SEQ ID NO: 724, SEQ ID NO: 725, SEQ ID NO: 726, SEQ ID NO: 727, SEQ ID NO: 732, SEQ ID NO: 733, SEQ ID NO: 734, SEQ ID NO: 735, SEQ ID NO: 743, SEQ ID NO: 744, SEQ ID NO: 745, SEQ ID NO: 746, SEQ ID NO: 669, SEQ ID NO: 670, SEQ ID NO: 671, SEQ ID NO: 672, SEQ ID NO: 673, SEQ ID NO: 674, SEQ ID NO: 675, SEQ ID NO: 676, SEQ ID NO: 677, SEQ ID NO: 678, SEQ ID NO: 688, SEQ ID NO: 689, SEQ ID NO: 690, SEQ ID NO: 691, SEQ ID NO: 692, SEQ ID NO: 693, SEQ ID NO: 702, SEQ ID NO: 703, SEQ ID NO: 712, SEQ ID NO: 713, SEQ ID NO: 714, SEQ ID NO: 715, SEQ ID NO: 716, SEQ ID NO: 717, SEQ ID NO: 718 или SEQ ID NO: 719. Полинуклеотид может содержать последовательность нуклеиновой кислоты, обладающую по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 86%, по меньшей мере приблизительно

87%, по меньшей мере приблизительно 88%, по меньшей мере приблизительно 89%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 91%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 667, SEQ ID NO: 668, SEQ ID NO: 679, SEQ ID NO: 680, SEQ ID NO: 681, SEQ ID NO: 682, SEQ ID NO: 683, SEQ ID NO: 684, SEQ ID NO: , SEQ ID NO: 685, SEQ ID NO: 686, SEQ ID NO: 695, SEQ ID NO: 724, SEQ ID NO: 725, SEQ ID NO: 726, SEQ ID NO: 727, SEQ ID NO: 732, SEQ ID NO: 733, SEQ ID NO: 734, SEQ ID NO: 735, SEQ ID NO: 743, SEQ ID NO: 744, SEQ ID NO: 745, SEQ ID NO: 746, SEQ ID NO: 669, SEQ ID NO: 670, SEQ ID NO: 671, SEQ ID NO: 672, SEQ ID NO: 673, SEQ ID NO: 674, SEQ ID NO: 675, SEQ ID NO: 676, SEQ ID NO: 677, SEQ ID NO: 678, SEQ ID NO: 688, SEQ ID NO: 689, SEQ ID NO: 690, SEQ ID NO: 691, SEQ ID NO: 692, SEQ ID NO: 693, SEQ ID NO: 702, SEQ ID NO: 703, SEQ ID NO: 712, SEQ ID NO: 713, SEQ ID NO: 714, SEQ ID NO: 715, SEQ ID NO: 716, SEQ ID NO: 717, SEQ ID NO: 718 или SEQ ID NO: 719, и в некоторых аспектах такие варианты предпочтительно кодируют такие же аминокислоты, как закодированные полинуклеотидной последовательностью из SEQ ID NO: 667, SEQ ID NO: 668, SEQ ID NO: 679, SEQ ID NO: 680, SEQ ID NO: 681, SEQ ID NO: 682, SEQ ID NO: 683, SEQ ID NO: 684, SEQ ID NO: , SEQ ID NO: 685, SEQ ID NO: 686, SEQ ID NO: 695, SEQ ID NO: 724, SEQ ID NO: 725, SEQ ID NO: 726, SEQ ID NO: 727, SEQ ID NO: 732, SEQ ID NO: 733, SEQ ID NO: 734, SEQ ID NO: 735, SEQ ID NO: 743, SEQ ID NO: 744, SEQ ID NO: 745, SEQ ID NO: 746, SEQ ID NO: 669, SEQ ID NO: 670, SEQ ID NO: 671, SEQ ID NO: 672, SEQ ID NO: 673, SEQ ID NO: 674, SEQ ID NO: 675, SEQ ID NO: 676, SEQ ID NO: 677, SEQ ID NO: 678, SEQ ID NO: 688, SEQ ID NO: 689, SEQ ID NO: 690, SEQ ID NO: 691, SEQ ID NO: 692, SEQ ID NO: 693, SEQ ID NO: 702, SEQ ID NO: 703, SEQ ID NO: 712, SEQ ID NO: 713, SEQ ID NO: 714, SEQ ID NO: 715, SEQ ID NO: 716, SEQ ID NO: 717, SEQ ID NO: 718 или SEQ ID NO: 719. Предпочтительно, антитела, кодируемые

вариантами полинуклеотидов, могут специфически связываться с CD38 с аффинностью, почти равной аффинности антитела, кодируемого исходной (без вариантов) полинуклеотидной последовательностью. Аффинность можно измерять, например, в соответствии с любым способом, описанным или проиллюстрированным в настоящем документе, включая способы, описанные в примерах. Последовательности, комплементарные полинуклеотидным последовательностям и вариантам полинуклеотидных последовательностей, также включены в объем описания.

[0107] В описание включены также векторы, содержащие полинуклеотиды по описанию. Векторы могут представлять собой экспрессирующие векторы. Таким образом, представлены рекомбинантные экспрессирующие векторы, содержащие последовательность, кодирующую представляющий интерес полипептид. Экспрессирующий вектор может содержать одну или несколько дополнительных последовательностей, таких как, но без ограничения, регуляторные последовательности, селективный маркер, метка для очистки или сигнал полиаденилирования. Такие регуляторные элементы могут включать в себя транскрипционный промотор, энхансеры, рибосомальные участки связывания мРНК или последовательности, контролирующие терминацию транскрипции и трансляции.

[0108] Экспрессирующие векторы, особенно экспрессирующие векторы для млекопитающих, могут включать один или несколько нетранскрибируемых элементов, таких как точка начала репликации, подходящий промотор и энхансер, связанные с подлежащим экспрессии геном, другие 5'- или 3'-фланкирующие нетранскрибируемые последовательности, 5'- или 3'-нетранскрибируемые последовательности (такие как участки связывания рибосом), участок полиаденилирования, донорный и акцепторный участки сплайсинга, или последовательности терминации транскрипции. Можно включать также точку начала репликации, обеспечивающую способность репликации в специфическом хозяине.

[0109] Векторы можно использовать для трансформации любой

из широкого массива клеток-хозяев, хорошо известных специалистам в данной области, и предпочтительно, клеток-хозяев, способных экспрессировать антитела. Векторы включают в себя, без ограничения, плазмиды, фагмиды, космиды, бакуловирусы, бакмиды, искусственные хромосомы бактерий (BAC), искусственные хромосомы дрожжей (YAC) и бакуловирус, так же как другие бактериальные, эукариотические, дрожжевые и вирусные векторы. Пригодные клетки-хозяева включают в себя, без ограничения, клетки CHO, клетки HEK293 или любую эукариотическую стабильную линию клеток, известную или полученную, а также включают в себя бактерии, дрожжи и клетки насекомых.

[0110] Антитела можно также продуцировать в клетках гибридомы; способы получения гибридом хорошо известны и разработаны в данной области.

[0111] Наблюдали в соответствии с описанием, что когда лиганд интерферон альфа, обладающий одной или несколькими мутациями, значительно уменьшающими аффинность лиганда для рецептора интерферона, связывают с антителом против CD38, направляющим мутантный лиганд интерферон альфа для нацеливания на клетки, экспонирующие соответствующий антителу антиген, активность лиганда на положительных по антигену клетках-мишенях сохраняется, в то время как активность лиганда на не являющихся мишенями отрицательных по антигену клетках является значительно уменьшенной. Конечным результатом является передающая сигналы молекула лиганда, обладающая намного более высокой активностью активации его рецепторов на положительных по антигену клетках-мишенях по сравнению с не являющимися мишенями отрицательными по антигену клетками, что обеспечивает средство для уменьшения токсичности, возникающей из-за нецелевой активности лиганда.

[0112] В некоторых аспектах полипептидная конструкция содержит вариант IFN-альфа, связанный с антителом против CD38 или его антигенсвязывающей частью. Такой полипептид может являться способным проявлять с высокой интенсивностью антипролиферативную активность IFN на положительных по CD38 клетках опухолей, в то же время проявляя намного меньшую

активность на отрицательных по CD38, не относящихся к опухолям клеткам внутри организма.

[0113] Описание относится также к композициям, содержащим антитела и конструкции антител - ослабленный интерферон по описанию. Эти композиции могут дополнительно содержать по меньшей мере один любых пригодных вспомогательных средств, таких как, но без ограничения, один или несколько разбавителей, связующих веществ, стабилизаторов, буферов, солей, липофильных растворителей, консервантов, адъювантов или других пригодных носителей и/или наполнителей. Фармацевтически приемлемые вспомогательные средства являются предпочтительными. Композиции могут содержать любое из антител и конструкций антител - ослабленный интерферон, описанных и/или проиллюстрированных в настоящем документе, и приемлемый носитель, такой как фармацевтически приемлемый носитель. Пригодные носители включают в себя любые среды, которые не мешают биологической активности антитела и/или интерферона, и предпочтительно, не являются токсичными для хозяина, которому их вводят. Носитель может представлять собой водный раствор, такой как вода, солевой раствор или спирт, или физиологически совместимый буфер, такой как раствор Хенкса, раствор Рингера, или физиологический солевой буфер. Носитель может содержать средства для получения состава, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие средства.

[0114] Фармацевтические наполнители и добавки, которые можно использовать в композиции, включают в себя, но без ограничения белки, пептиды, аминокислоты, липиды, и углеводы (например, сахара, включая моносахариды, ди-, три-, тетра-, и олигосахариды; дериватизированные сахара, такие как альдиты, альдоновые кислоты, эстерифицированные сахара и другие известные сахара; и полисахариды или полимеры сахаров), которые можно представлять отдельно или в комбинации, содержащими отдельно или в комбинации любую пригодную массу или объем. Иллюстративные белковые наполнители включают в себя сывороточный альбумин, такой как человеческий сывороточный альбумин (HSA), рекомбинантный человеческий альбумин (rHA),

желатин, казеин и другие известные белки. Репрезентативные аминокислоты, которые могут также функционировать с буферной емкостью, включают в себя аланин, глицин, аргинин, бетаин, гистидин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин, лизин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, фенилаланин и аспартам. Одной предпочтительной аминокислотой является гистидин. Второй предпочтительной аминокислотой является аргинин.

[0115] Углеводные наполнители, пригодные для использования в композиции, включают в себя, например, моносахариды, такие как фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза и сорбоза; дисахариды, такие как лактоза, сахароза, трегалоза, и целлобиоза; полисахариды, такие как рафиноза, мелизитоза, мальтодекстрины, декстраны и крахмалы; и альдиты, такие как маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит, сорбит (глюцит) и миоинозитол. Предпочтительные углеводные наполнители для использования по описанию представляют собой маннит, трегалозу и рафинозу.

[0116] Композиции антител могут также включать в себя буфер или средство для доведения pH; как правило, буфер представляет собой соль, полученную из органической кислоты или основания. Репрезентативные буферы включают в себя соли органических кислот, такие как соли лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, угольной кислоты, виннокаменной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; Трис, гидрохлорид трометамин или фосфатные буферы. Предпочтительными буферами для использования в настоящих композициях являются соли органических кислот, такие как цитрат.

[0117] Кроме того, композиции по описанию могут включать полимерные наполнители/добавки, такие как поливинилпирролидоны, фикоиллы (полимерный сахар), декстраты (например, циклодекстрины, такие как 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин), полиэтиленгликоли, противомикробные средства, антиоксиданты, антистатиками, поверхностно-активные вещества (например,

полисорбаты, такие как «TWEEN® 20» и «TWEEN® 80»), липиды (например, фосфолипиды, жирные кислоты), стероиды (например, холестерин) и хелатирующие агенты (например, ЭДТА).

[0118] Композиции можно также составлять в носителях для замедленного высвобождения или в препаратах-депо. Например, композиции можно составлять с пригодными полимерными или гидрофобными материалами (например, в форме эмульсии в приемлемом масле) или ионообменными смолами, или в форме умеренно растворимых производных, например, в форме умеренно растворимой соли. Липосомы и эмульсии являются хорошо известными примерами носителей для доставки, пригодных для использования в качестве носителей для гидрофобных лекарственных средств.

[0119] Композиции можно составлять для введения субъекту в любой пригодной лекарственной форме. Композиции можно составлять для перорального, трансбуккального, назального, чрескожного, парентерального, инъекционного, внутривенного, подкожного, внутримышечного, ректального или вагинального введения. Композиции можно составлять в пригодном носителе для контролируемого высвобождения, с адъювантом или в форме состава-депо.

[0120] Препараты для парентерального введения включают в себя стерильные растворы, готовые для инъекции, стерильные сухие растворимые продукты, готовые для объединения с растворителем непосредственно перед использованием, включая средства для подкожного введения в форме таблеток, стерильные суспензии, готовые для инъекции, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые для объединения с носителем непосредственно перед использованием, и стерильные эмульсии.

[0121] Слитую конструкцию анти-CD38 – ослабленный интерферон альфа-2b можно использовать, например, для ингибирования, снижения, уменьшения, блокирования или предотвращения пролиферации клетки, экспрессирующей CD38 на ее поверхности. В некоторых аспектах, способы ингибирования или уменьшения пролиферации клетки, экспрессирующей CD38 на ее поверхности, как правило, включают в себя приведение в контакт

клетки, экспрессирующей CD38, со слитой конструкцией анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b в количестве, эффективном для ингибирования или уменьшения пролиферации клетки. Антитело, специфически связывающееся с CD38, может представлять собой любое антитело, описанное или проиллюстрированное в настоящем документе. Ослабленный интерферон альфа 2b может включать в себя IFN-альфа2b A145D или IFN-альфа2b A145G. Клетка может представлять собой лимфоцит, аутоиммунный лимфоцит, или клетку опухоли, такую как клетка лейкоза, клетка множественной миеломы или клетка лимфомы. Слитая конструкция анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b может содержаться в композиции, например, с фармацевтически приемлемым носителем и необязательно, одним или несколькими вспомогательными средствами или наполнителями, включая любой такой носитель, вспомогательное средство или наполнитель, описанные или проиллюстрированные в настоящем документе. Способы можно осуществлять *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*, или *in situ*.

[0122] Слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно также использовать, например, для индукции, облегчения или усиления апоптоза клетки, экспрессирующей CD38 на ее поверхности. В некоторых аспектах, способы индукции апоптоза в клетке, экспрессирующей CD38 на ее поверхности, в общем включают в себя приведение в контакт клетки, экспрессирующей CD38, со слитой конструкцией анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b в количестве, эффективном для индукции апоптоза в клетке. Антитело, специфически связывающееся с CD38, может представлять собой любое антитело, описанное или проиллюстрированное в настоящем документе. Ослабленный интерферон альфа 2b может включать в себя IFN-альфа2b A145D или IFN-альфа2b A145G. Клетка может представлять собой лимфоцит, аутоиммунный лимфоцит или клетку опухоли, такую как клетка лейкоза, клетка множественной миеломы или клетка лимфомы. Слитая конструкция анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b может содержаться в композиции, например, с фармацевтически приемлемым носителем и необязательно, одним или несколькими вспомогательными средствами или наполнителями,

включая любой такой носитель, вспомогательное средство или наполнитель, описанные или проиллюстрированные в настоящем документе. Способы можно осуществлять *in vitro*, *ex vivo*, *in vivo* или *in situ*.

[0123] Слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно также использовать для лечения субъекта, имеющего опухоль, которая содержит клетки, экспрессирующие CD38 на их поверхности, и/или является опосредованной, по меньшей мере, частично, клетками, экспрессирующими CD38 на их поверхности. В некоторых аспектах, способы лечения опухоли, содержащей клетки, экспрессирующие CD38 на их поверхности, в общем включают в себя введение нуждающемуся в этом субъекту слитой конструкции анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b в количестве, эффективном для лечения опухоли у субъекта. Эффективное лечение может включать в себя, например, ингибирование или уменьшение пролиферации положительных по CD38 клеток в опухоли и/или индукцию апоптоза положительных по CD38 клеток в опухоли. Антитело, специфически связывающееся с CD38, может представлять собой любое антитело, описанное или проиллюстрированное в настоящем документе. Ослабленный интерферон альфа 2b может включать в себя IFN-альфа2b A145D или IFN-альфа2b A145G. Слитая конструкция анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b может содержаться в композиции, например, с фармацевтически приемлемым носителем и необязательно, одним или несколькими вспомогательными средствами или наполнителями, включая любой такой носитель, вспомогательное средство или наполнитель, описанные или проиллюстрированные в настоящем документе.

[0124] Слитые конструкции анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b или композицию, содержащую такие конструкции, можно вводить в опухоль посредством введения конструкций из композиции в кровь. Слитые конструкции анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b или композицию, содержащую такие конструкции, можно вводить так, что конструкция диффундирует через кровотоки к клеткам опухолей и/или в клетки опухолей. Конструкция может подвергаться интернализации

клетками опухоли.

[0125] Представлено применение антитела против CD38 или слитой конструкции антитело против CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b в лечении опухолей. Представлены способы лечения опухолей с помощью антитело против CD38 или слитой конструкции антитело против CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b. Можно использовать любое антитело против CD38 или слитую конструкцию антитело против CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b, описанные или проиллюстрированные в настоящем документе. Опухоли, которые можно лечить, включают в себя, но без ограничения, связанные со СПИД злокачественные опухоли, невриному слухового нерва, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, аденокистозную карциному, злокачественные опухоли коры надпочечников, агногенную миелоидную метаплазию, алопецию, альвеолярную саркому мягких тканей, рак анального канала, ангиосаркому, апластическую анемию, астроцитому, атаксию-телеангиэктазию, базально-клеточную карциному (кожи), рак мочевого пузыря, рак костей, злокачественную опухоль кишечника, глиому ствола головного мозга, опухоли головного мозга и CNS, рак молочной железы, опухоли CNS, карциноидные опухоли, рак шейки матки, детские опухоли мозга, детскую злокачественную опухоль, детский лейкоз, детскую саркому мягких тканей, хондросаркому, хориокарциному, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, виды колоректального рака, Т-клеточную лимфому кожи, взрывающую дерматофибросаркому, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, карциному протоков, злокачественные опухоли эндокринной системы, рак эндометрия, эпендимому, рак пищевода, саркому Юинга, злокачественную опухоль внепеченочных желчных протоков, злокачественную опухоль глаза, глаза: меланому, ретинобластому, рак фаллопиевой трубы, анемию Фанкони, фибросаркому, рак желчного пузыря, рак желудка, злокачественные опухоли желудочно-кишечного тракта, опухоль желудочно-кишечного тракта - карциноида, злокачественные опухоли мочеполовой системы, опухоли половых клеток, гестационную трофобластическую болезнь, глиому,

гинекологические злокачественные опухоли, гематологические злокачественные новообразования, волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, гепатоцеллюлярный рак, наследственный рак молочной железы, гистиоцитоз, болезнь Ходжкина, вирус папилломы человека, пузырьный занос, гиперкальциемию, злокачественную опухоль гортаноглотки, внутриглазную меланому, злокачественную опухоль островковой ткани, саркому Капоши, рак почки, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, рак гортани, лейомиосаркому, лейкоз, синдром Ли-Фраумени, рак губы, липосаркому, рак печени, рак легкого, лимфедему, лимфому, лимфому Ходжкина, неходжскинскую лимфому, рак молочной железы мужчин, злокачественную рабдоидную опухоль почки, медуллобластому, меланому, злокачественную опухоль клеток Меркеля, мезотелиому, метастазирующую злокачественную опухоль, злокачественную опухоль ротовой полости, множественные эндокринные неоплазии, фунгоидный микоз, миелодиспластические синдромы, множественную миелому, миелопролиферативные нарушения, злокачественную опухоль полости носа, носоглоточную злокачественную опухоль, нефробластому, нейробластому, нейрофиброматоз, синдром хромосомных поломок Ниймеген, немеланомный рак кожи, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), злокачественные опухоли глаза, рак пищевода, злокачественную опухоль ротовой полости, злокачественную опухоль ротовой части глотки, остеосаркому, рак яичника с наложением стомы, рак поджелудочной железы, рак околоносовых пазух, рак паращитовидной железы, рак околоушной железы, рак полового члена, периферические нейроэктодермальные опухоли, рак гипофиза, истинную полицитемию, рак предстательной железы, редкие злокачественные опухоли и ассоциированные нарушения, почечноклеточный рак, ретинобластому, рабдомиосаркому, синдром Ротмунда-Томсона, злокачественную опухоль слюнной железы, саркому, шванному, синдром Сезари, рак кожи, мелкоклеточный рак легкого (SCLC), рак тонкого кишечника, саркому мягких тканей, опухоли спинного мозга позвоночника, плоскоклеточную карциному (кожи), рак желудка, синовиальную саркому, рак яичка, злокачественную опухоль тимуса, рак щитовидной железы, переходно-клеточный рак (мочевого пузыря),

переходно-клеточный рак (почечной лоханки/мочеточника), трофобластическую злокачественную опухоль, злокачественную опухоль мочеиспускательного канала, злокачественную опухоль мочевыделительной системы, уроплаканы, саркому матки, злокачественную опухоль матки, рак влагалища, рак вульвы, макроглобулинемию Вальденстрема и опухоль Вильмса. В одном варианте осуществления опухоль выбрана из группы из множественной миеломы или неходжскинской лимфомы.

[0126] В предпочтительных аспектах, способы используют для лечения множественной миеломы, лейкоза или лимфомы у нуждающегося в этом субъекта. Такие способы могут дополнительно включать в себя лечение субъекта с помощью ретиноида, такого как полностью транс-ретиноевая кислота. В некоторых предпочтительных аспектах, в которых ассоциированный с поверхностью клеток антиген представляет собой CD38, опухоль или злокачественную опухоль можно выбирать из множественной миеломы, неходжскинской лимфомы, хронического миелогенного лейкоза, хронического лимфоцитарного лейкоза или острого миелогенного лейкоза.

[0127] Слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно комбинировать с другими лекарственными средствами и/или использовать в дополнение к другим режимам или способам лечения злокачественных опухолей, таким как радиотерапия или хирургическая операция. Когда слитые конструкции анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b используют в комбинации с известными лекарственными средствами, комбинацию можно вводить либо последовательно (либо непрерывно, либо с прерыванием периодами без лечения), либо параллельно, либо в форме смеси. В случае злокачественной опухоли, существуют многочисленные известные противораковые средства, которые можно использовать в этом контексте. Предусмотрено также, что лечение в комбинации включает в себя либо лечение слитой конструкцией анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b с последующим известным лечением, либо лечение с помощью известного средства с последующим лечением с помощью слитой конструкции анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b,

например, в качестве поддерживающей терапии. Например, при лечении злокачественной опухоли предусматривают, что слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно вводить в комбинации с алкилирующим средством (таким как мехлорэтамин, циклофосфамид, хлорамбуцил, ифосфамидцисплатин или содержащие платину подобные алкилирующим средства, такие как цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин), антиметаболитом (таким как аналог пурина или пиримидина или антифолатное средство, такое как азатиоприн и меркаптопурин), антрациклином (таким как аналог даунорубицина, доксорубицина, эпирубицинидарубицина, валрубицина, митоксантрона или антрациклина), растительным алкалоидом (таким как алкалоид барвинка или таксан, такой как винкристин, винбластин, винорелбин, виндезин, паклитаксел или доцетаксел), ингибитором топоизомеразы (таким как ингибитор топоизомеразы типа I или типа II), подофиллотоксином (таким как этопозид или тенипозид) или ингибитором тирозинкиназы (таким как иматинибмезилат, нилотиниб или дазатиниб).

[0128] В случае лечения множественной миеломы, слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно вводить в комбинации с другими пригодными способами терапии, такими как лечение субъекта с помощью введения стероидов, таких как дексаметазон, ингибиторы протеасомы (такие как бортезомиб или карфилзомиб), иммуномодулирующих лекарственных средств (такие как талидомид, леналидомид или помалидомид), или индукционная химиотерапия с последующей трансплантацией аутологичных гематopoэтических стволовых клеток, с другими химиотерапевтическими средствами, такими как гидрохлорид мелфалана или химиотерапевтические средства, перечисленные выше, или без них.

[0129] В случае лечения лимфомы Ходжкина, слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно вводить в комбинации с современными лекарственными средствами, такими как ABVD (адриамицин (доксорубицин), блеомицин, винбластин и декарбазин) или Стэнфорд V (доксорубицин, блеомицин, винбластин, винкристин, мехлорэтамин, этопозид,

преднизон), или BEACOPP (доксорубицин, блеомицин, винкристин, циклофосфамид, прокарбазин, этопозид, преднизон).

[0130] В случае неходжскинской лимфомы или других лимфом, слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно вводить в комбинации с современными лекарственными средствами. Примеры лекарственных средств, одобренных для неходжскинской лимфомы, включают в себя абитрексат (метотрексат), адриамицин PFS (гидрохлорид доксорубицина), адриамицин RDF (гидрохлорид доксорубицина), амбохлорин (хлорамбуцил), амбохлорин (хлорамбуцил), арранон (неларабин), гидрохлорид бендамустина, бексар (тозитумомаб и иод I 131 тозитумомаб), бленоксан (блеомицин), блеомицин, бортезомиб, хлорамбуцил, клафен (циклофосфамид), циклофосфамид, цитоксан (циклофосфамид), денилейкин дифтитокс, DepoCyt (липосомный цитарабин), доксорубицин гидрохлорид, DTIC-Dome (декарбазин), фолекс (метотрексат), фолекс PFS (метотрексат), фолотин (пралатрексат), ибритутомаб тиуксетан, истодакс (ромидепсин), лейкеран (хлорамбуцил), линфолизин (хлорамбуцил), липосомный цитарабин, матулан (гидрохлорид прокарбазина), метотрексат, метотрексат LRF (метотрексат), мексат (метотрексат), мексат-AQ (метотрексат), мозобил (плериксафор), неларабин, неозар (циклофосфамид), онтак (денилейкин дифтитокс), плериксафор, пралатрексат, ритуксан (ритуксимаб), ритуксимаб, ромидепсин, тозитумомаб и иод I 131 тозитумомаб, треанда (гидрохлорид бендамустина), велбан (сульфат винбластина), велкад (бортезомиб) и велсар (сульфат винбластина), сульфат винбластина, винкасар PFS (сульфат винкристина), сульфат винкристина, вориностат, зевалин (ибритутомаб тиуксетан), золинза (вориностат). Примеры комбинаций лекарственных средств, используемых для лечения неходжскинской лимфомы, включают в себя СНОР (С = циклофосфамид, Н = гидрохлорид доксорубицина (гидроксидауномицин), О = сульфат винкристина (онковин), Р = преднизон); СОРР (С = циклофосфамид, О = сульфат винкристина (онковин), Р = гидрохлорид прокарбазина, Р = преднизон); СVP (С = циклофосфамид, V = сульфат винкристина, Р = преднизон); ЕРОСН (Е = этопозид, Р = преднизон, О = сульфат винкристина

(онковин), С = циклофосфамид, Н = гидрохлорид доксорубицина (гидроксидауномицин)); ICE (I = ифосфамид, С = карбоплатин, Е = этопозид) и R-СНОР (R = ритуксимаб, С = циклофосфамид, Н = гидрохлорид доксорубицина (гидроксидауномицин), О = сульфат винкристина (онковин), Р = преднизон.

[0131] Антитело против CD38, или слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b можно использовать для детекции положительных по CD38 клеток, включая положительные по CD38 клетки опухолей. В некоторых аспектах, их можно использовать в способах детекции положительных по CD38 клеток опухоли в образце ткани, выделенном от субъекта, где способы могут в общем включать в себя приведение в контакт антитела против CD38 или слитой конструкции анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b, с образцом ткани, выделенным из субъекта, и детекцию комплекса антитела или конструкции и положительных по CD38 клеток в образце ткани. Образец ткани предпочтительно представляет собой кровь. Клетка может представлять собой положительную по CD38 клетку В-клеточной лимфомы, клетку множественной миеломы, клетку неходжскинской лимфомы, клетку хронического миелогенного лейкоза, клетку хронического лимфоцитарного лейкоза или клетку острого миелогенного лейкоза. Способ может дополнительно включать в себя выделение образца ткани от субъекта.

[0132] В описание также описаны признаки наборов, содержащих любое из антител и слитых конструкций анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b, описанных и проиллюстрированных в настоящем документе. Наборы можно использовать, чтобы предоставлять антитела и другие средства для использования в способах диагностики, фундаментальных исследований или терапевтических способах, среди прочих.

[0133] В некоторых аспектах, набор содержит слитую конструкцию анти-CD38 - ослабленный интерферон альфа-2b, где конструкция, необязательно, содержится в композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и инструкции для использования набора в одном или нескольких из способов для ингибирования или уменьшения пролиферации клеток опухоли,

экспрессирующих CD38 на их поверхности, способов индукции апоптоза в клетках опухоли, экспрессирующих CD38 на их поверхности, и/или способов лечения опухоли, содержащей клетки, экспрессирующие CD38 на их поверхности, и/или опосредованной клетками, экспрессирующими CD38 на их поверхности. Такие способы могут представлять собой любой способ, описанный или проиллюстрированный в настоящем документе. Наборы могут содержать фармацевтически приемлемый носитель. Наборы могут содержать одно или несколько фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ и/или один или несколько фармацевтически приемлемых наполнителей. В наборах антител против CD38 может представлять собой любое антитело, описанное или проиллюстрированное в настоящем документе, и ослабленный интерферон альфа-2b может содержать ослабленный интерферон альфа-2b, описанный или проиллюстрированный в настоящем документе. Конструкции могут содержаться в стерильных растворах, готовых для инъекции или внутривенного введения, или могут содержаться в стерильной, лиофилизированной форме, готовой для объединения с носителем непосредственно перед использованием.

[0134] В некоторых аспектах, набор содержит антитело против CD38 и инструкции для использования набора в способе детекции положительных по CD38 клеток в образце, включая образец ткани, выделенный от субъекта. Антитело против CD38 может представлять собой любое антитело, описанное или проиллюстрированное в настоящем документе. Антитело может, необязательно, являться слитым с белком ослабленным интерфероном альфа-2b.

[0135] Следующие примеры представлены для более подробного описания содержания. Они предназначены для иллюстрации, а не для ограничения описания.

Пример 1

Оптимизация X355/02-НС-L0-IFN-альфа (A145D) IgG4

[0136] Другие слитые белки анти-CD38 - ослабленный IFN описаны в Патентной заявке РСТ No. РСТ/AU2012/001323. Они включают в себя конструкцию антитела, обозначенную в Патентной

заявке РСТ как X355/02-НС-L0-IFN-альфа (A145D) IgG4. В этом описании X355/02-НС-L0-IFN-альфа (A145D) IgG4 переименовано в A02.1. Последовательность тяжелой цепи антитела содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 11, и последовательность легкой цепи содержит аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 12. Варибельную легкую цепь A02.1 (SEQ ID NO: 14) совместно экспрессировали с его варибельной тяжелой цепью A02.1 (SEQ ID NO: 13) в формате константной области IgG4 человека, содержащей замену S228P (нумерация EU) (SEQ ID NO: 3). Это антитело обозначено в настоящем документе как X02.1. A02.1 включает в себя слияние с IFN-альфа2b, в то время как X02.1 не включает, несмотря на то, что оба антитела разделяют идентичные последовательности тяжелых цепей и легких цепей.

[0137] Поиск посредством BLAST (Altschul SF (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402) в базе данных зародышевых генов иммуноглобулинов человека проводили с использованием аминокислотной последовательности варибельной тяжелой цепи X02.1. Наиболее близким зародышевым геном варибельной тяжелой цепи человека являлся IGHV4-61*01 (SEQ ID NO: 16). Выравнивание VH X02.1 и IGHV4-61*01 показано на фигуре 2. Варибельная область тяжелой цепи X02.1 отличается на восемь аминокислот от наиболее близкой к ней зародышевой аминокислотной последовательности. Для уменьшения иммуногенности варибельной области тяжелой цепи X02.1, можно получать замены зародышевых аминокислотных остатков в остатках, где она отличается от зародышевой последовательности, и полученные варианты антител тестировать по активности связывания против CD38.

[0138] Несколько вариантов тяжелой цепи исходной последовательности X02.1 подробно описаны на фигуре 2. Эти варибельные области тяжелой цепи получали в формате константной области IgG4 S228P и совместно экспрессировали с легкой цепью A02.1. В таблицах 1a и 1b подробно описаны последовательности тестируемых вариантов, вместе с их способностью связывать CD38 человека, как оценивали с использованием проточной цитометрии и поверхностного

плазмонного резонанса (SPR). Кратко, цепи антитела временно совместно экспрессировали в клетках CHO и очищали посредством хроматографии с белком А, как описано в примере 5. Проточные анализы связывания, как описано в примере 5, использовали для оценки вариантов. EC₅₀ кривой зависимости ответа от дозы для каждого антитела также приведены в таблицах 1a и 1b.

Таблица 1a

Обозначение антитела	Аминокислотная замена в вариательной тяжелой цепи (относительно X02.1)	Вариательная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Вариательная легкая цепь SEQ ID NO:	Связывание CD38 по SPR	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)
X02.8	L74S	17	14	2,30×10 ⁻⁸	18,3
X02.9	H40P	18	14	2,63×10 ⁻⁸	N/T
X02.10	T(82A)S	19	14	2,07×10 ⁻⁸	N/T
X02.11	L74S, I78F R81K, T(82A)S	20	14	2,39×10 ⁻⁸	18,1
X02.108	I78F	32	14	2,63×10 ⁻⁸	N/T
X02.110	R81K	33	14	2,07×10 ⁻⁸	N/T

N/T - Белок невозможно было очистить, и его не тестировали.

Таблица 1b

Обозначение антитела	Аминокислотная замена в вариательной тяжелой цепи (относительно X02.1)	Вариательная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Вариательная легкая цепь SEQ ID NO: [Подтвердить]	Связывание CD38 по SPR	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)
X02.69	Q2V	22	14	3,68×10 ⁻¹¹	16,8
X02.71	129V	24	14	1,29×10 ⁻¹⁰	3,5
X02.78	S32G	31	14	2,04×10 ⁻¹¹	N/T

N/T - Белок не очищали или не тестировали

[0139] Связывание по SPR вариантов, подробно описанных в

таблице 1a, оценивали отдельно от вариантов из таблицы 1b. К_D (M) исходного антитела X02.1 лежала в диапазоне от $2,7 \times 10^{-8}$ до $3,78 \times 10^{-10}$ в экспериментах связывания SPR. Эксперименты проточной цитометрии по связыванию показали, что антитела X02.8, X02.11, X02.69 и X02.71 сильно связывались с положительной по CD38 линией клеток ARP-1.

[0140] Антитела с вышеуказанными аминокислотными заменами затем исследовали в контексте слитого белка посредством конъюгации с ослабленным IFN-альфа2b (названы A02 при связывании с IFN, где номер после десятичного знака представляет такой же вариант, имеющий обозначение X02). Эти переменные области тяжелой цепи получали в формате константной области IgG4, содержащей замену S228P, слитой с ослабленным IFN-альфа2b A145D, и совместно экспрессировали в клетках CHO или HEK с легкой цепью A02.1, как описано в примере 5. Затем белки, успешно выделенные из клеточного супернатанта, тестировали в проточном анализе связывания с линией клеток ARP-1. Значение EC₅₀ кривой зависимости ответа от дозы для каждого антитела приведено в таблице 2. Все протестированные слитые конструкции антител - ослабленный IFN связывались с положительной по CD38 линией клеток ARP-1. Наблюдали, что вариант тяжелой цепи X02.9 (не слитый с IFN) невозможно было легко очищать, в то время как идентичный вариант, слитый с IFN (A02.9) очищали. В некоторых случаях, слитые с ослабленным IFN белки можно было экспрессировать и очищать, когда эквивалентные моноклональные антитела, по-видимому, было более сложно экспрессировать и/или очищать.

Таблица 2

Слитый белок анти-CD38-ослабленный IFN	Аминокислотная замена в вариательной тяжелой цепи (относительно A02.1)	Вариательная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Вариательная легкая цепь SEQ ID NO:	Связывание белка А по SPR(RU)*	Связывание CD38 по SPR (RU) через 350 с*	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)
A02.8	L74S	17	14	4697	833	1,9
A02.9	H40P	18	14	4718	841	1,0
A02.10	T(82A)S	19	14	4647	804	1,5
A02.11	L74S, I78F, R81K, T(82A)S	20	14	4483	827	3,5

*Количество слитого белка анти-CD38 - ослабленный IFN в супернатанте культуры клеток показано по связыванию с белком А по SPR. Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после 350 секунд фазы диссоциации.

[0141] Поиск посредством BLAST проводили с использованием аминокислотной последовательности вариательной легкой цепи A02.1 в базе данных зародышевых генов иммуноглобулинов человека. Наиболее близким зародышевым геном вариательной легкой цепи человека являлся IGLV5-37*01. Выравнивание аминокислотной последовательности A02.1VL и IGLV5-37*01 приведено на фигуре 3. Это выравнивание иллюстрирует 12 различий аминокислот между этими последовательностями.

[0142] Несколько аминокислотных замен выполняли в вариательной легкой цепи X02.1. Эти замены показаны на фигуре 3. Совместную экспрессию этих вариательных областей легкой цепи с вариательной тяжелой цепью X02.1 в формате константной области IgG4, содержащей замену S228P, проводили в клетках CHO, как описано в примере 5.

[0143] Затем антитела, очищенные из супернатантов клеток CHO, тестировали в анализах связывания на основе проточной

цитометрии с положительной по CD38 линией клеток ARP-1. В таблице 3 подробно описаны значения EC_{50} кривой зависимости ответа от дозы, полученные для каждого антитела.

Таблица 3

Обозначение антитела	Аминокислотная замена в вариательной легкой цепи (относительно A02.1)	Вариательная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Вариательная легкая цепь SEQ ID NO:	Связывание CD38 по SPR(KD)	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC_{50} в мкг/мл)	НР LC белка А мг/л
X02.95	A2P	13	53	$4,40 \times 10^{-12}$	N/T	11,1
X02.96	A8P	13	54	$2,50 \times 10^{-10}$	30,0	19,9
X02.97	L11S	13	55	$7,51 \times 10^{-12}$	Низкое связывание	15,0
X02.98	R29S	13	56	$5,84 \times 10^{-12}$	N/T	8,7
X02.99	Y30S	13	57	$3,21 \times 10^{-12}$	4,4	11,5
X02.100	H(54A)D	13	58	$1,60 \times 10^{-7}$	Низкое связывание	18,9
X02.101	V(66B)A	13	59	$2,89 \times 10^{-11}$	13,7	21,0
X02.102	T68A	13	60	$1,20 \times 10^{-10}$	20,4	18,0
X02.103	S70T	13	61	$1,28 \times 10^{-9}$	9,4	27,9
X02.104	T90I	13	62	$1,0 \times 10^{-8}$	9,7	23,1
X02.105	S92P	13	63	$3,31 \times 10^{-8}$	12,7*	19,3
X02.106	G95A	13	64	$4,47 \times 10^{-8}$	N/T	11,6

N/T - Белок не очищали или не тестировали.

Низкое связывание - Наблюдали минимальное связывание, недостаточное для значения EC_{50} .

*Антитело тестировали в проточном анализе связывания против линии клеток H929.

Зарегистрированное значение представляет собой EC_{50} в мкг/мл.

[0144] Антитела X02.96, X02.99, X02.101, X02.102, X02.103 и X02.104 сильно связывались с положительной по CD38 линией клеток ARP-1. X02.105 являлось способным сильно связываться с положительной по CD38 линией клеток H929.

[0145] Анализ аминокислотной последовательности для последовательности вариательной тяжелой цепи X02.1 и A02.1 идентифицировал аминокислоты, которые потенциально могут подвергаться окислению или изомеризации. Они включают в себя потенциальный участок изомеризации на D101 и потенциальный участок окисления на M(100C). Для удаления потенциальных

участков изомеризации и окисления, аминокислотные замены выполняли следующим образом: D(101)E (SEQ ID NO: 30), M(100C)L (SEQ ID NO: 29) и комбинация обеих D(101)E и M(100C)L (SEQ ID NO: 27) (фигура 2). Антитела получали с комбинациями этих аминокислотных замен в вариабельной тяжелой цепи, как показано в таблице 4. Вариабельные области тяжелой цепи антитела получали в формате константной области IgG4, содержащей замену S228P, и совместно экспрессировали с легкой цепью A02.1 в клетках CHO. Затем антитела очищали посредством хроматографии с белком А и проводили скрининг по связыванию с клетками ARP-1 посредством проточной цитометрии. Полученные данные связывания показаны в таблице 4.

Таблица 4

Обозначение антитела	Аминокислотная замена в вариабельной тяжелой цепи (относительно X02.1)	Вариабельная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Вариабельная легкая цепь SEQ ID NO:	Связывание CD38 по SPR (KD)	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)	НР LC бел ка А мг/л
X02.76	M(100C)L	29	14	$1,58 \times 10^{-13}$	4,1	24,8
X02.77	D101E	30	14	$9,11 \times 10^{-12}$	3,7	15,6
X02.74	M(100C)L, D101E	27	14	$6,85 \times 10^{-11}$	N/T	21,8

N/T - Белок не очищали или не тестировали.

[0146] Антитела X02.76 и X02.77 сохраняли их сильное связывание с линией клеток ARP-1, указывая на то, что аминокислотные замены для удаления потенциальных участков окисления и изомеризации в тяжелой цепи X02.1 и A02.1 оказывают небольшое влияние на их активность связывания CD38. Комбинация этих замен для формирования антитела X02.74 приводила к антителу, которое не очищали с использованием способа из примера 5.

[0147] Анализ аминокислот последовательности вариабельной легкой цепи X02.1 и A02.1 идентифицировал аминокислоты, которые потенциально могут подвергаться окислению или дезамидированию.

Они включают в себя потенциальный участок дезамидирования на N69 и потенциальный участок окисления на M89. Кроме того, предсказано существование предположительного участка N-связанного гликозилирования внутри CDR3 легкой цепи в положении N94. Присутствие N-связанных гликанов может вызывать гетерогенность терапевтических белков, осложняющую разработку. Во избежание этих потенциальных проблем синтезировали следующие точечные варианты: N69A (SEQ. ID NO: 39), M89L (SEQ ID NO: 52) и M89I (SEQ ID NO: 51), N94T (SEQ ID NO: 48), N94Q (SEQ ID NO: 38), G95P (SEQ ID NO: 50) и S96A (SEQ ID NO: 45) (см. фигуру 3). Антитела получали посредством совместной экспрессии тяжелых и легких цепей в клетках CHO, как подробно описано в таблице 5. Антитела очищали посредством хроматографии с белком А и проводили скрининг по связыванию с клетками ARP-1 посредством проточной цитометрии. Полученные данные связывания представлены в таблице 5.

Таблица 5

Обозначение антитела	Аминокислотная замена в вариательной легкой цепи (относительно A02.1)	Вариательная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Вариательная легкая цепь SEQ ID NO:	Связывание CD38 по SPR	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)	HPLC белка А мг/л
X02.81	N69A	13	39	$2,67 \times 10^{-10}$	N/T	12,6
X02.93	M89I	13	51	$2,56 \times 10^{-11}$	18,7	20,0
X02.94	M89L	13	52	$3,48 \times 10^{-12}$	8,7	18,9
X02.90	N94T	13	48	$5,52 \times 10^{-10}$	26,2	23,0
X02.80	N94Q	13	38	$1,44 \times 10^{-9}$	13,2	30,3
X02.92	G95P	13	50	Низкое связывание	Низкое связывание	18,1
X02.87	S96A	13	45	$1,99 \times 10^{-9}$	37,5	18,9

N/T - Белок не очищали или не тестировали.

Низкое связывание - Наблюдали минимальное связывание, недостаточное для значения EC₅₀ или KD.

[0148] X02.94 связывалось с положительной по CD38 линией клеток ARP-1, что указывает на то, замена M89L вносит небольшой вклад в активность связывания CD38. Замена N94Q в антителе X02.80 удаляло потенциальный мотив N-связанного

гликозилирования с минимальным влиянием на активность связывания CD38, как измерено посредством проточной цитометрии (таблица 5). Другие замены, удаляющие этот мотив гликозилирования, приводили либо к антителам, которые невозможно было легко очищать, либо к антителам, обладающим ослабленным связыванием с положительной по CD38 линией клеток ARP-1. Потенциальный участок дезамидирования в положении 69 удаляли посредством замены на аланин, хотя это антитело (X02.81) было не просто очищать.

[0149] Другие протестированные антитела, содержащие варианты переменной тяжелой цепи X02.1, перечислены в таблице 6. Эти переменные области тяжелой цепи получали в формате константной области IgG4, содержащей замену S228P. Эти тяжелые цепи совместно экспрессировали с легкой цепью A02.1 в клетках CHO. Антитела экспрессировали и полученные антитела тестировали в анализах на основе проточной цитометрии по связыванию с положительными по CD38 клетками ARP-1. Все замены в переменной тяжелой цепи, за исключением T23K (SEQ ID NO: 21; X02.68), оказывали минимальное влияние на связывание с положительной по CD38 линией клеток ARP-1 в анализах на основе проточной цитометрии.

Таблица 6

Обозначение антитела	Аминокислотная замена в переменной тяжелой цепи (относительно X02.1)	Переменная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Переменная легкая цепь SEQ ID NO:	Связывание CD38 по SPR	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)	HPLC белка А мг/л
X02.73	S19K	26	14	$3,85 \times 10^{-10}$	4,3	20,6
X02.68	T23K	21	14	$1,06 \times 10^{-11}$	N/T	17,0
X02.70	V71R	23	14	$3,54 \times 10^{-9}$	7,2	32,8
X02.75	T73K	28	14	$6,38 \times 10^{-10}$	4,9	17,8
X02.72	T83R	25	14	$1,63 \times 10^{-9}$	3,6	30,6

[0150] Получали также антитела, содержащие другие замены в переменной легкой цепи в последовательности X02.1. Эти варианты легких цепей комбинировали с тяжелой цепью X02.1 в формате константной области IgG4, содержащей замену S228P, и

экспрессировали в клетках CHO, как описано в примере 5. Обобщение тяжелых и легких цепей, использованных для получения этих вариантов антител, дано в таблице 7. Антитела X02.83, X02.85, X02.91, X02.82 сильно связывались с положительной по CD38 линией клеток ARP-1.

Таблица 7

Обозначение антитела	Аминокислотная замена в переменной легкой цепи (относительно A02.1)	Переменная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Переменная легкая цепь SEQ ID NO:	Связывание CD38 по SPR	Проточный анализ связывания ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)	HPLC белка А мг/л
X02.83	E17A	13	41	$2,69 \times 10^{-9}$	8,2	32,8
X02.86	D(27A)G	13	44	$4,28 \times 10^{-9}$	120,4	30,0
X02.85	Δ D(L66A)*** Δ V(L66B)***	13	43	$2,70 \times 10^{-10}$	6,3	17,6
X02.107	E83I, D85T	13	65	$2,47 \times 10^{-8\#\#}$	N/T	10,0*
X02.91	P26R	13	49	$7,07 \times 10^{-10}$	17,6	21,1
X02.88	N32R	13	46	Низкое связывание	Низкое связывание	33,5
X02.82	Y49R	13	40	N/T	3,8	27,9
X02.89	Y51R	13	47	Низкое связывание	Отсутствие связывания	25,7
X02.84	Y49R, Y51R	13	42	Низкое связывание	Отсутствие связывания	35,0

N/T - Белок не очищали или не тестировали.

Низкое связывание - Наблюдали минимальное связывание, недостаточное для значения EC₅₀

*** Δ показывает, что эта аминокислота, присутствующая в легкой цепи A02.1, удалена из этой последовательности.

* расчетный уровень белка на основании уровня связывания белка А по SPR.

Связывание по SPR для X02.107 оценивали в отдельном эксперименте, в котором KD исходного антитела X02.1 составляла $2,7 \times 10^{-8}$. KD исходного антитела X02.1 составляет $3,78 \times 10^{-10}$ в эксперименте связывания по SPR для всех других тестируемых антител.

[0151] Замены, вносящие небольшой вклад в активность связывания CD38 и очистку варианта антитела X02, получали затем в форме нагруженных антител посредством слияния с ослабленным IFN-альфа2b A145D. Замены в легкой цепи X02.1 комбинировали, и полученные варианты совместно экспрессировали с точечными и

комбинаторными вариантами тяжелой цепи X02.1 в клетках HEK293E, как перечислено в таблице 8. Эти антитела были в первую очередь сфокусированы на удалении потенциального участка дезамидирования из легкой цепи X02.1, участка окисления из CDR3 тяжелой цепи X02.1 и предположительного сильно связывающего МНС класса II пептида из каркасной области 3 тяжелой цепи X02.1, предсказанного посредством анализов *in silico* (Epibase, Lonza, UK), фигура 4.

Таблица 8

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Аминокислотная замена в вариательной тяжелой цепи (относительно A02.1)	Вариательная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Аминокислотная замена в вариательной легкой цепи (относительно A02.1)	Вариательная легкая цепь SEQ ID NO:
A02.2	Нет	13	E83I, D85T	65
A02.3	L74S	17	E83I, D85T	65
A02.4	H40P	18	E83I, D85T	65
A02.5	T(82A)S	19	E83I, D85T	65
A02.6	L74S, I78F, R81K, T(82A)S	20	E83I, D85T	65
A02.12	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T	65
A02.13	H40P, L74S, I78F, R81K, T(82A)S	35	E83I, D85T	65
A02.37	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, M89L	66
A02.46	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, N69Q	67
A02.47	L74S, I78F, R81K, T(82A)S,	34	E83I, D85T, N69T	68

	M(100C)L			
A02.48	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, N69G	69
A02.49	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, N69H	70
A02.50	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, N69K	71
A02.51	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, N69P	72

[0152] Антитела, перечисленные в таблице 8, анализировали по экспрессии белка и связыванию с CD38 посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Проводили также анализы активности с использованием супернатанта культуры клеток, полученного от трансфицированных клеток, для оценки относительной активности каждого из этих слитых белков анти-CD38-ослабленный IFN, как описано в примере 5. Полученные данные приведены в таблице 9.

Таблица 9

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	HPLC белка А (мг/л)	Связывание CD38 по SPR (RU) через 350 с*	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)
A02.2	30,2	756	N/T	N/T	N/T
A02.3	21,6	835	N/T	N/T	N/T
A02.4	27,3	809	N/T	N/T	N/T
A02.5	22,0	788	N/T	N/T	N/T
A02.6	33,7	895	N/T	N/T	N/T

A02.12	25,3	N/A	2,7	7,0	236
A02.46	3,1	914	2,2	5,8	1190
A02.47	26,5	1455	3,10	4,44	N/T
A02.48	3,4	921	2,0	5,6	562
A02.49	3,0	946	2,1	5,5	875
A02.50	3,1	809	1,9	6,1	1681
A02.51	1,8	368	2,0	5,8	3741

Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после 350 секунд фазы диссоциации. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. N/A - Не доступно; N/T - Не тестировали.

[0153] Из тестированных белков A02.12 хорошо экспрессировался и обладал активностью в анализах аннексина V, каспазы и пролиферации клеток. Замена N69T в антителе A02.47 не влияла на уровни экспрессии или активность в анализах аннексина V или каспазы, что позволяет предполагать, что удаление этого участка дезамидирования является возможным. Замену N69T можно включать в другие конструкции в настоящем документе для удаления этого предположительного участка дезамидирования с минимальными потерями функциональной активности полученного антитела.

Пример 2

Анализ иммуногенности in silico аминокислотной последовательности легкой цепи A02.1

[0154] Предположительные иммуногенные эпитопы идентифицировали в аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи A02.1 с использованием программного обеспечения для анализа EpiBase (Lonza, UK). Для удаления предположительных иммуногенных эпитопов, замены вводили в переменную легкую цепь A02.1 (фигура 4). Легкие цепи с более низкой предсказанной иммуногенностью совместно

экспрессировали в клетках HEK293E с переменной областью тяжелой цепи A02.12 (SEQ ID NO: 34), полученной в формате константной области IgG4, содержащей замену S228P, слитой с A145D-ослабленным IFN. Полученные варианты антител подробно описаны в таблице 10.

Таблица 10

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Аминокислотная замена в переменной тяжелой цепи (относительно A02.1)	Переменная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Аминокислотная замена в переменной легкой цепи (относительно A02.1)	Переменная легкая цепь SEQ ID NO:
A02.18	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, L47E	73
A02.19	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, L47G	74
A02.20	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, L47N	75
A02.21	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, L47P	76
A02.22	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, L47S	77
A02.23	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, L48E	78
A02.24	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, L48P	79
A02.25	L74S, I78F, R81K, T(82A)S,	34	E83I, D85T, Y49E	80

	M(100C)L			
A02.26	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, Y49Q	81
A02.27	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, Y50P	82
A02.28	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, Y50N	83
A02.29	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, Y50T	84
A02.30	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, Y51D	85
A02.31	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, S52E	86
A02.32	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, S52H	87
A02.33	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, S52Q	88
A02.34	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, H(54A)N	89
A02.35	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	E83I, D85T, H(54A)P	90
A02.36	L74S, I78F, R81K, T(82A)S,	34	E83I, D85T, K(54B)D	91

	M(100C)L			
--	----------	--	--	--

[0155] Вышеописанные антитела анализировали по экспрессии белка, связыванию с CD38 посредством SPR и активности с использованием скрининга супернатанта культуры клеток, как описано в примере 5. Результаты этих анализов подробно описаны в таблице 11. Эти данные показывают, что замена некоторых остатков для снижения предсказанной иммуногенности антитела приводит к слитым белкам анти-CD38-ослабленный IFN, которые экспрессируются и обладают функциональной активностью в анализах аннексина V, каспазы и анализах пролиферации клеток.

Таблица 11

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	HPLC белка A (мг/л)	Связывание CD38 по SPR (RU) через 350 с*	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)
A02.18	9,3	745	N/T	N/T	N/T
A02.19	8,0	741	N/T	N/T	N/T
A02.20	9,1	N/T	2,2	5,6	37
A02.21	3,3	DNB	N/T	N/T	N/T
A02.22	10,4	738	N/T	N/T	N/T
A02.23	15,9	192	2,7	6,9	N/T
A02.24	23,5	87	1,4	2,3	N/T
A02.25	25,7	80	3,0	4,3	2477
A02.26	35,0	383	3,2	6,0	66
A02.27	12,3	DNB	1,3	2,5	29910
A02.28	16,1	422	2,7	6,3	N/T
A02.29	19,7	150	2,7	5,8	133
A02.30	25,2	122	1,9	2,5	N/T
A02.31	28,4	359	3,0	7,1	514
A02.32	13,5	663	2,7	7,7	60
A02.33	11,2	107	N/T	N/T	N/T
A02.34	16,6	407	4,8	5,1	503

A02.35	11,2	738	2,4	4,8	3050
A02.36	16,7	192	2,8	8,0	N/T

Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после 350 секунд фазы диссоциации. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. DNB – Не связывался; N/T – Не тестировали.

Пример 3

Множественные аминокислотные замены приводят к оптимизированным вариантам A02.1

[0156] Посредством комбинации замен, улучшающих иммуногенность, технологичность или активность антител против CD38, описанных выше, в одной генетической конструкции, получили высоко оптимизированные антитела против CD38 и слитые белки анти-CD38-ослабленный IFN. В таблице 12 обобщены такие комбинаторные замены и подробно описаны комбинации тяжелых и легких цепей, совместно экспрессированных в клетках HEK293E и затем тестированных.

Таблица 12

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Аминокислотная замена в вариательной тяжелой цепи (относительно A02.1)	Вариательная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Аминокислотная замена в вариательной легкой цепи (относительно A02.1)	Вариательная легкая цепь SEQ ID NO:
A02.16	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, E83I, D85T, M89L, N94Q.	92
A02.17	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, E83I, D85T, M89L, N94E	93

A02.52	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52Q, E83I, D85T, M89L, N94E	94
A02.53	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	Y30S, S52Q, E83I, D85T, M89L, N94E	95
A02.54	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52Q, E83I, D85T, M89L, N94Q	96
A02.55	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	Y30S, S52Q, E83I, D85T, M89L, N94Q	97
A02.56	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52E, M89L, E83I, D85T, N94E	98
A02.57	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	Y30S, S52E, E83I, D85T, M89L, N94E	99
A02.58	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52E, E83I, D85T, M89L, N94Q	100
A02.59	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	Y30S, S52E, E83I, D85T, M89L, N94Q	101
A02.60	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52Q, N69Q, E83I, D85T, M89L, N94E	102
A02.61	L74S, I78F,	34	Y30S, S52Q,	103

	R81K, T(82A)S, M(100C)L		N69Q, E83I, D85T, M89L, N94E	
A02.62	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52Q, N69Q, E83I, D85T, M89L, N94Q	104
A02.63	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	Y30S, S52Q, N69Q, E83I, D85T, M89L, N94Q	105
A02.64	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52E, N69Q, E83I, D85T, M89L, N94E	106
A02.65	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	Y30S, S52E, N69Q, E83I, D85T, M89L, N94E	107
A02.66	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	R29G, Y30S, S52E, N69Q, E83I, D85T, M89L, N94Q	108
A02.67	L74S, I78F, R81K, T(82A)S, M(100C)L	34	Y30S, S52E, N69Q, E83I, D85T, M89L, N94Q	109

[0157] Каждое антитело, описанное в таблице 12, анализировали по экспрессии белка, связыванию CD38 посредством SPR, и активности с использованием супернатанта культуры клеток. Полученные данные приведены в таблице 13. Эти результаты показывают, что комбинаторными заменами, как предсказано *in silico*, предоставляющими преимущества, получены некоторые слитые белки анти-CD38 - ослабленный IFN, которые экспрессировались и обладали функциональной активностью в

анализах аннексина V, каспазы и пролиферации клеток.

Таблица 13

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	HPLC белка А (мг/л)	Связывание CD38 по SPR (RU) через 350 с*	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)
A02.14	8,1	1247	2,18	5,47	398
A02.15	29,6	1409	3,92	5,62	491
A02.16	5,7	1050	2,4	7,9	636
A02.17	10,0	1103	3,7	5,7	467
A02.52	2,8	416	2,0	5,4	2665
A02.53	3,0	545	2,2	4,7	6338
A02.54	1,8	250	1,9	5,9	15350
A02.55	2,1	436	2,2	4,5	12740
A02.56	2,0	178	1,7	4,3	13860
A02.57	2,7	345	2,5	6,6	6363
A02.58	2,3	273	1,9	4,9	9142
A02.59	1,2	388	2,0	4,7	6176
A02.60	1,3	DNB	1,5	3,3	185600
A02.61	1,2	DNB	1,7	4,1	65160
A02.62	1,3	DNB	1,8	5,0	55590
A02.63	1,2	DNB	1,7	3,4	152100
A02.64	1,1	DNB	1,8	3,2	89120
A02.65	1,4	DNB	1,6	4,1	37240
A02.66	1,3	DNB	1,6	4,0	57540
A02.67	1,6	DNB	2,3	3,9	82760

Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после 350 секунд фазы диссоциации. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. DNB - Не связывался; N/T - Не тестировали.

Пример 4

Спаривание различных тяжелых и легких цепей антител против CD38

[0158] Чтобы определить, можно ли получить функциональные слитые белки анти-CD38 - ослабленный IFN, тяжелые (SEQ. ID NO: 110) и легкие (SEQ ID NO: 112) цепи из антитела X910/12-НС-L0-IFN-альфа (A145D) IgG4, описанного в PCT/AU2012/001323, и тяжелые (SEQ ID NO: 111) и легкие (SEQ ID NO: 113) цепи из антитела X913/15-НС-L0-IFN-альфа (A145D) IgG4, описанного в PCT/AU2012/001323, спаривали друг с другом в различных комбинациях и с тяжелыми и легкими цепями, описанными в вышеуказанных примерах. Представлено обобщение спариваний тяжелых и легких цепей, перечисленное в таблице 14.

Таблица 14

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Варибельная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Варибельная легкая цепь SEQ ID NO:
A02.38	34	113
A02.39	34	112
A02.40	111	65
A02.41	110	65
X913/15-НС-L0- IFN-альфа (A145D) IgG4	111	113
A02.43	110	113
A02.44	111	112
X910/12-НС-L0- IFN-альфа (A145D) IgG4	110	112

[0159] Каждое полученное антитело анализировали по экспрессии белка, связыванию с CD38 посредством SPR и активности с использованием анализов активности в супернатанте культуры клеток. Результаты этих анализов представлены в таблице 15а. Эти данные показывают, что это спаривание различных тяжелых и легких цепей из отдельных антител привело к некоторым слитым белкам анти-CD38-ослабленн IFN, которые экспрессировались и обладали функциональной активностью в

анализах аннексина V, каспазы и пролиферации клеток.

Таблица 15а

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	HPLC белка А (мг/л)	Связывание CD38 по SPR(RU) через 350 с*	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)
A02.38	2,9	DNB	0,9	4,3
A02.39	21,3	66	2,5	6,6
A02.40	2,1	DNB	1,0	4,4
A02.41	50,0	165	2,6	6,7
X913/15-НС- L0- IFN- альфа (A145D) IgG4	8,2	96	2,2	5,4
A02.43	2,5	DNB	0,9	4,1
A02.44	2,2	DNB	1,0	4,5
X910/12-НС- L0- IFN- альфа (A145D) IgG4	27,1	125	2,6	5,9

Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после 350 секунд фазы диссоциации. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. DNB – Не связывался.

[0160] Выборку вышеуказанных слитых белков анти-CD38-ослабленный IFN очищали и анализировали по связыванию с положительными по CD38 клетками в анализах на основе клеток. Кроме того, повторяли анализы активности для получения более точного определения относительной активности каждого слитого белка анти-CD38 – ослабленный IFN. Результаты этих анализов

приведены в таблице 15b.

Таблица 15b

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Проточное связывание ARP-1 (EC ₅₀ в мкг/мл)	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)	Фигуры
A02.1	1,45	1,86	4,2	278,2	13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
A02.2	2,46	1,94	4,4	175,7	13, 19
A02.3	0,96	1,86	3,5	254,9	13, 19
A02.4	1,50	1,88	3,8	198,3	13, 19
A02.5	1,45	1,88	4,3	146,3	13, 19
A02.6	1,42	2,03	3,5	102,3	13, 15, 19, 20
A02.8	1,93	1,91	3,8	125,5	13, 19
A02.9	1,03	1,96	3,6	107,1	13, 19
A02.10	1,48	1,95	3,8	125,6	13, 19
<u>A02.11</u>	3,48	1,98	3,9	374	13, 19
A02.12	3,40*	1,40	3,4	23,66	14, 16, 19, 21
A02.14	10,01*	1,82	2,5	398,20	19
A02.15	1,97*	3,09	6,8	491,70	19
A02.16	3,89*	2,66	5,2	636,80	14, 19
A02.17	9,32*	2,23	3,2	467,1	14, 19
A02.18	1,64	1,55	3,7	78,72	19
A02.19	1,07	1,63	3,5	230,3	19
A02.20	15,92*	1,61	2,9	36	19
A02.22	1,58	1,91	3,8	207	19
A02.25	0,37*	1,42	2,4	2477	19
A02.26	37,99*	1,56	2,0	66	19

A02.27	LB*	1,06	1,0	29910	14, 16, 19
A02.29	0,48*	1,55	3,0	133	19
A02.31	0,26*	1,78	2,1	514	14, 16, 19
A02.32	LB*	1,83	3,3	605	19
A02.33	1,54	1,96	3,7	741	16, 19
A02.34	0,89*	3,06	4,7	503	19
A02.35	3,44*	1,71	1,5	3050	19
A02.37	LB*	2,05	4,3	128	19
A02.39	LB*	1,92	4,3	3714	19
A02.41	0,78*	2,01	3,4	554	14, 19
A02.42	LB*	1,52	3,3	310	19
A02.45	0,71*	1,66	1,6	1697	19
A02.47	16,35*	1,53	4,69	144,3	19

Проточное связывание относится к концентрации антитела, необходимой для достижения 50% от максимальной средней интенсивности флуоресценции. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. LB – низкое связывание, недостаточное для значения EC₅₀. * Антитело тестировали в проточном анализе связывания против линии клеток H929. Зарегистрированное значение представляет собой EC₅₀ в мкг/мл.

[0161] На фигуре 5 перечислены конструкции, относящиеся к консенсусной вариабельной тяжелой цепи, и на фигуре 6 перечислены конструкции, относящиеся к консенсусной вариабельной легкой цепи A02.1 с функциональной активностью. Кроме того, можно предусматривать, что можно получать комбинации замен, такие как описаны для антител против CD38 X02.114, X02.115, X02.116, X02.117, X02.118, X02.119 (фигура 6), X02.120, X02.121, X02.122, X02.123, X02.124, X02.125, X02.126 или X02.127 (фигура 30). Кроме того, вышеуказанные антитела против CD38 можно также конструировать в форме слитых

белков анти-CD38 – ослабленный IFN и тестировать по функциональной активности, как описано в настоящем документе.

Модель ксенотрансплантата множественной миеломы H929

[0162] Активность *in vivo* A02.1 тестировали ранее в модели *s.c.* множественной миеломы NCI-H929, как описано в примере 5. Показано, что A02.1 обладает сильной противоопухолевой активностью. Данные представлены в PCT/AU2012/001323.

[0163] Модель ксенотрансплантата *множественной миеломы* H929 можно использовать для тестирования противоопухолевой активности любого из слитых белков анти-CD38 – ослабленный IFN, описанных выше.

Ослабленный IFN необходим для сильной активации апоптоза и каспазы в линиях клеток опухоли

[0164] С использованием анализа аннексина V и анализа каспазы показано, что сильная апоптотическая активность и активация каспазы зависит от слитых белков анти-CD38 – ослабленный IFN, содержащих ослабленный IFN (таблица 16а, фигура 18). В анализе аннексина V содержащие ослабленный IFN белки (A02.1 и A02.6) обладали в 2 раза большей активностью, чем белки, не содержащие ослабленный IFN (X02.1 и X02.6).

Таблица 16а

Слитый белок анти-CD38 -ослабленный IFN	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)
A02.1	3,57	5,60
X02.1	1,50	2,34
A02.6	2,03	3,5
X02.6	1,04	0,40

Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ.

Пример 5

Общие способы

[0165] Продукция антител и слитых с антителами конструкций в клетках HEK-293E. Кодирующие белок конструкции ДНК-плазмид (антитела и родственные конструкции антитело-IFN-альфа2b) получали с использованием набора HiSpeed Plasmid Maxi (Qiagen, Valencia, CA) и затем трансфицировали клетки HEK293E (CNRC, Montreal, Canada), выращенные в синтетической среде F17, дополненной 0,45% (масс./об.) D-(+)-глюкозы (Sigma, Castle Hill, NSW), 25 мкг/мл генетицина (Invitrogen, Carlsbad, CA), и 1 x GlutaMAX (Invitrogen, Carlsbad, CA) с использованием коммерчески доступного реагента для трансфекции и среды OptiMEM (Invitrogen, Carlsbad, CA). После обеспечения экспрессии в течение 6 суток в инкубаторе, оборудованном 5% CO₂ и встряхиванием 120 об./мин, культуральную среду выделяли и подвергали аффинной очистке с использованием агарозных бусин с белком A Mab Select SuRe™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Очищенные белковые конструкции подвергали обмену буфера на 0,2 М аргинин HCl, 25 мМ лимонную кислоту, 71,5 мМ гидроксид натрия при pH 6,0 с использованием колонки PD Midi-Trap G-25 (GE Healthcare, Piscataway, NJ) или обессоливающей колонки HiPrep 26/10 (HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting). Затем очищенные белковые конструкции концентрировали с использованием устройств для фильтрации центрифугированием 50 кДа Amicon Ultra (Millipore, Billerica, MA), с последующим определением концентрации белка посредством считывания оптической плотности при 280 нм.

Продукция антител и слитых с антителами конструкций в клетках CHO.

[0166] Кодирующие белок конструкции ДНК-плазмид (антитела и родственные конструкции антитело-IFN-альфа2b) получали с использованием набора HiSpeed Maxi Kit (Qiagen, Valencia, CA) и затем трансфицировали клетки CHO (Lonza), выращенные в среде для экспрессии Freestyle™ CHO (Invitrogen, Carlsbad, CA) с использованием коммерчески доступного реагента для трансфекции и среды OptiPro SFM™ (Invitrogen, Carlsbad, CA). После обеспечения экспрессии в течение 6 суток в инкубаторе, оборудованном 10% CO₂ и встряхиванием 120 об./мин,

культуральную среду выделяли и подвергали аффинной очистке с использованием агарозных бусин с белком A Mab Select SuRe (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Очищенные белковые конструкции подвергали обмену буфера на 0,2 М аргинин HCl, 25 мМ лимонную кислоту, 71,5 мМ гидроксид натрия при pH 6,0 с использованием колонки PD Midi-Trap G-25 (GE Healthcare, Piscataway, NJ) или обессоливающей колонки HiPrep 26/10 (HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting). Затем очищенные белковые конструкции концентрировали с использованием устройств для фильтрации центрифугированием 50 кДа Amicon Ultra (Millipore, Billerica, MA), с последующим определением концентрации белка посредством считывания оптической плотности при 280 нм.

[0167] Связывание слитых белков анти-CD38 - ослабленный IFN с CD38, как измерено посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Способность антител против CD38 и слитых белков анти-CD38 - ослабленных IFN связываться с CD38 человека измеряли с использованием неочищенного супернатанта трансфицированных клеток, подготовленного 7:1 с уменьшителем неспецифического связывания (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Кратко, с использованием Biacore™ 3000 или T200, белок А иммобилизовали в проточной ячейке (FC) 1 (FC1) и FC2 (или альтернативно, FC3 и FC4) на сенсорном чипе CM5 качества для исследований с использованием присоединения по аминокгруппе, получая приблизительно 1500 RU. FC2 (или FC4) использовали в качестве контроля на протяжении экспериментов. Эксперименты проводили при 37°C в буфере HBS-P+ (0,01 М HEPES, 0,15 М NaCl, 0,005% об./об. поверхностно-активное вещество P20, pH 7,4). При скорости потока 20 мкл/мин, обе проточные ячейки регенерировали с помощью 10 мкл 50 мМ гидроксида натрия перед тем, как 40 мкл супернатанта, содержащего белок, пропускали только поверх FC1 (или FC3). 30 мкл CD38 (10 мкг/мл в рабочем буфере) или 30 мкл рабочего буфера инъецировали поверх FC1 и FC2 с временем диссоциации 5 минут. Обе поверхности регенерировали дважды с помощью гидроксида натрия. Результаты получали с использованием программного обеспечения BIAevaluation, поставленного вместе с

устройством. Microsoft Excel использовали для расчетов. Программное обеспечение BIAevaluation автоматически вычитало контрольную сенсограмму, получая кривую FC2-1 (или FC4-3) для каждого образца. Двойной контроль осуществляли для каждого антитела посредством вычитания сенсограммы после инъекции CD38 из сенсограммы после инъекции пустого рабочего буфера. Связывание с белком А относится к единицам ответа, измеренным из сенсограммы с фиксированной временной точкой 412,5 с, и это соответствует уровню белка, связанного на поверхности с белком А. Связывание с CD38 представляет собой единицы ответа, измеренные через 507,5 с, и является показателем уровня связанного CD38 с сенсором для захвата белка. Диссоциация CD38 представляет собой единицы ответа, измеренные через 865,5 с, и является показателем уровня CD38, связанного на поверхности для захвата белка приблизительно через 300 с фазы диссоциации. BIAevaluation использовали для подбора сенсограммы с использованием уравнения Ленгмюра 1:1 для получения равновесной константы связывания (KD)

HPLC белка А.

[0168] Супернатанты анализировали посредством HPLC белка А с использованием колонки POROS A/20 2,1x30 мм Id (Applied Biosystems), соединенной с хроматографической системой Agilent 1100. Колонку уравнивали с помощью PBS pH 7,4, и белок элюировали с помощью PBS с pH, доведенным до 2,2. Стандартную кривую получали с использованием известных количеств моноклонального антитела в PBS. Хроматограммы при длине волны 215 нм или 280 нм интегрировали в программное обеспечение изготовителя, и площадь под кривой (AUC) регистрировали и интерполировали против полученной стандартной кривой для определения концентрации.

Проточная цитометрия связывания антител и слитых белков анти-CD38 - ослабленный IFN с положительной по CD38 человека линией клеток, ARP-1 и H929.

[0169] Линия клеток множественной миеломы ARP-1 являлась даром Bart Barlogie MD, PhD, Director of the Myeloma Institute at the University of Arkansas Medical Center (Little Rock, AK).

Она описана в Hardin J. et al. (1994) Blood. 84:3063-70). Линию клеток множественной миеломы NCI-H929 (H929) закупили из ATCC (CRL-9068, Gazdar, Blood 67:1542-1549, 1986).

[0170] Тестировали способность антител или конструкций антитело-интерферон связываться с положительными по CD38 человека линиями клеток миеломы ARP-1 или H929 в анализах на основе проточной цитометрии. Клетки ARP-1 или клетки H929 (5×10^5 , как судили по исключению трипанового синего) инкубировали с каждым белком или с белковой конструкцией человеческого моноклонального антитела IgG4 с не относящейся к делу специфичностью в различных концентрациях в 50 мкл буфера FACS (PBS плюс 1% эмбриональная телячья сыворотка, FCS, 0,2 M HEPES, 0,5 M ЭДТА) в 96-луночных планшетах в течение 60 минут на льду в темноте. Клетки промывали три раза с помощью буфера FACS перед инкубацией в течение 30 минут в 50 мкл буфера FACS, содержащего антитела козы против IgG человека (Fc-специфические, конъюгированные с изотиоцианатом флуоресцеина, FITC; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). После промывки три раза с помощью буфера FACS, клетки фиксировали с помощью 50 мкл PBS, содержащего 4% формальдегид об./об., и инкубировали при 4°C в темноте в течение 16 часов. Инкубированные клетки в суспензии разводили дополнительными 150 мкл буфера FACS и анализировали по связыванию посредством проточной цитометрии на FACS Canto II (BD Biosciences, San Diego, CA) с использованием прямого рассеяния, бокового рассеяния и интенсивности флуоресценции в канале FITC. Зарегистрированное значение представляет собой среднюю интенсивность флуоресценции (MFI).

Анализы нацеливания

[0171] Анализ пролиферации Daudi: Этот анализ использовали для количественной оценки антипролиферативной активности видов IFN и слитых белковых конструкций антитело-IFN в клетках, экспонирующих CD38. Клетки Daudi экспрессируют CD38 в форме ассоциированного с поверхностью клетки антигена. Жизнеспособность клеток измеряли с использованием реагента CellTiter-Glo®, кат. #G7570, из Promega (Madison, Wisconsin).

Это анализ на основе люминесценции, определяющий жизнеспособность клеток в культуре на основании количественной оценки АТФ. Сила сигнала является пропорциональной количеству жизнеспособных клеток в лунке микропланшета для титрования. Подробности анализа являются следующими: клетки Daudi (полученные из ATCC, Manassas, VA) культивировали во флаконе T75 (TPP, Trasadingen, Switzerland, кат.# 90076) до предпочтительной плотности между $0,5 \times 10^5$ и $0,8 \times 10^5$ жизнеспособных клеток/мл в RPMI 1640 (Mediatech, Inc., Manassas, VA, кат. # 10-040- CV) с 10% эмбриональной бычьей сывороткой (FBS; Hyclone, Logan, UT кат. # SH30070,03). Клетки собирали центрифугированием при $400 \times g$ в течение пяти минут, декантацией супернатанта и ресуспендированием осадка клеток в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем клетки подсчитывали, и плотность доводили до $3,0 \times 10^5$ клеток/мл в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем аликвоты по 50 мкл суспензии клеток добавляли в каждую лунку 96-луночного круглодонного планшета для культивирования клеток (далее в настоящем документе «экспериментальный планшет») (TPP, кат.# 92067). В отдельном, стерильном 96-луночном планшете (далее в настоящем документе «планшет для разведения»; Costar, Corning, NY кат.# 3879), тестируемые вещества серийно разводили в двух повторах в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем 50 мкл/лунку переносили из планшета для разведения в экспериментальный планшет. Затем экспериментальный планшет инкубировали в течение четырех суток при 37°C с 5% CO_2 . Смесь поставленного производителем буфера для анализа и субстрата для анализа (далее в настоящем документе «реагент CellTiter-Glo®», смешанную согласно инструкциям производителя) добавляли в экспериментальный планшет по 100 мкл/лунку. Планшет встряхивали в течение двух минут.

[0172] Затем 100 мкл/лунку переносили из экспериментального планшета в 96-луночный плоскодонный белый непрозрачный планшет (далее в настоящем документе «планшет для анализа»; BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ кат.# 35 3296). Затем позволяли стабилизацию содержимого планшета для анализа в

темноте в течение 15 минут при комнатной температуре. Планшет считывали на счетчике для множества меток Victor 3V (Perkin Elmer, Waltham, MA, модель # 1420-041) на люцинометрическом канале и измеряли люминесценцию. Результаты представлены как «относительные единицы люминесценции» (RLU). Данные анализировали с использованием Prism 5 (Graphpad, San Diego, CA) с использованием нелинейной регрессии и подбора кривой по трем параметрам для определения средней точки кривой (EC50).

[0173] Анализ пролиферации клеток ARP-1: Этот анализ использовали для количественного определения антипролиферативной активности видов IFN и конструкций слитого белка антитело-IFN против положительных по антигену CD38 клеток. Клетки ARP-1 экспрессируют CD38 в форме ассоциированных с поверхностью клеток антигенов. Жизнеспособность клеток измеряли с использованием реагента CellTiter-Glo®, кат. #G7570, из Promega (Madison, Wisconsin). Это анализ на основе люминесценции, определяющий жизнеспособность клеток в культуре посредством количественной оценки АТФ. Сила сигнала является пропорциональной количеству жизнеспособных клеток в лунке микропланшета для титрования.

[0174] Подробности анализа являются следующими: клетки ARP-1 культивировали во флаконе T175 (Costar, Corning, NY Lakes, NJ, кат.# CLS431080) до предпочтительной плотности между $2,0 \times 10^5$ и $2,0 \times 10^6$ жизнеспособных клеток/мл в RPMI 1640 (Life Technologies, Mulgrave, VIC, cat # 11875-093) с 10% эмбриональной бычьей сывороткой (FBS; AusGeneX, Molendinar, QLD, Australia кат.# FBS500S). Клетки собирали центрифугированием при $400 \times g$ в течение пяти минут, декантацией супернатанта и ресуспендированием осадка клеток в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем клетки подсчитывали и плотность доводили до $2,0 \times 10^5$ клеток/мл в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем аликвоты по 50 мкл суспензии клеток добавляли в каждую лунку 96-луночного плоскодонного белого непрозрачного планшета (далее в настоящем документе «экспериментальный планшет»; Costar, Corning, NY Lakes, NJ, кат.# CLS3917). В отдельном, стерильном 96-луночном

планшете (далее в настоящем документе «планшет для разведения»; Costar, Corning, NY кат.# 3799), тестируемые вещества серийно разводили в двух повторах в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем 50 мкл/лунку переносили из планшета для разведения в экспериментальный планшет. Затем экспериментальный планшет инкубировали в течение четырех суток при 37°C с 5% CO₂. Каждый экспериментальный планшет включал конструкцию исходного антитела с IFN в качестве относительного контроля.

[0175] Смесь поставленного производителем буфера для анализа и субстрата для анализа (реагент CellTiter-Glo®, смешанную согласно инструкциям производителя) добавляли в экспериментальный планшет по 100 мкл/лунку. Планшет встряхивали в течение двух минут. Затем позволяли стабилизацию содержимого планшета для анализа в темноте в течение 15 минут при комнатной температуре. Планшет считывали на считывателе планшетов FLUOstar Galaxy (BMG Labtech, Durham, NC) на люцинометрическом канале и измеряли люминесценцию. Данные анализировали с использованием Prism 5 (Graphpad, San Diego, CA) с использованием нелинейной регрессии и подбора кривой по трем параметрам для определения средней точки кривой (EC₅₀).

[0176] Анализ аннексина V: клетки H929 собирали центрифугированием при 400×g в течение пяти минут, декантацией супернатанта и ресуспендированием осадка клеток в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем клетки подсчитывали и плотность доводили до 1,0×10⁶ клеток/мл в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем аликвоты по 50 мкл суспензии клеток добавляли в каждую лунку 96-луночных круглодонных прозрачных планшетов (далее в настоящем документе «экспериментальный планшет»; Costar, Corning, NY кат.# CL3799). В отдельном, стерильном 96-луночном планшете (далее в настоящем документе «планшет для разведения»; Costar, Corning, NY кат.# CL3799), тестируемые вещества разводили до 40 нМ в четырех повторах в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем 50 мкл/лунку переносили из планшета для разведения в экспериментальный планшет. Затем экспериментальный планшет инкубировали в течение 24 часов при 37°C с 5% CO₂. Затем клетки центрифугировали при 400×g в течение

5 мин, супернатант декантировали и ресуспендировали в 100 мкл буфера HEPES, содержащего аннексин V-FITC (1/200) и 7-AAD (1/50). Затем клетки инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре и затем анализировали по окрашиванию аннексина V и 7-AAD посредством проточной цитометрии в FACS Canto II (BD Biosciences, San Diego, CA) с использованием прямого рассеяния, бокового рассеяния, каналов FITC и PerCP-Cy5.5. Положительные по аннексину V клетки обозначают клетки, положительно окрашенные посредством аннексина V-FITC после 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ и выраженные как кратность изменения относительно необработанных клеток.

[0177] Анализ Каспазы: Активированные каспазы 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10 измеряли с помощью реагента для гомогенного анализа каспаз, флуориметрического, кат. #12236869001, из Roche (West Sussex, UK) после обработки тестируемыми антителами. Подробности анализа следуют ниже.

[0178] Клетки ARP-1, экспрессирующие высокие уровни CD38, культивировали во флаконе T175 (Costar, Corning, NY, кат.# CLS431080) до предпочтительной плотности между $2,0 \times 10^5$ и $2,0 \times 10^6$ жизнеспособных клеток/мл в RPMI 1640 (Life Technologies, Mulgrave, VIC, кат. # 11875-093) с 10% FBS (AusGeneX, Molendinar, QLD, Australia кат.# FBS500S). Клетки собирали центрифугированием при $400 \times g$ в течение пяти минут, декантацией супернатанта и ресуспендированием осадка клеток в RPMI 1640, свободной от фенола красного (Life Technologies, Mulgrave, VIC, кат. # 11835-030), + 10% FBS. Затем клетки подсчитывали и плотность доводили до $2,0 \times 10^5$ клеток/мл в RPMI 1640, свободной от фенола красного, + 10% FBS. Затем аликвоты по 50 мкл суспензии клеток добавляли в каждую лунку 96-луночного плоскодонного планшета с черными стенками и прозрачным дном (далее в настоящем документе «экспериментальный планшет»; Costar, Corning, NY кат.# CLS3603). В отдельном, стерильном 96-луночном планшете (далее в настоящем документе «планшет для разведения»; Costar, Corning, NY кат.# 3799), тестируемые вещества разводили до 40 нМ в четырех повторах в RPMI 1640,

свободной от фенола красного, + 10% FBS. Затем 50 мкл/лунку переносили из планшета для разведения в экспериментальный планшет. Затем экспериментальный планшет инкубировали в течение 24 часов при 37°C с 5% CO₂. Поставляемый производителем буфер для анализа добавляли к поставляемому производителем субстрату и смешивали согласно инструкциям производителя для получения «раствора субстрата». Затем 100 мкл раствора субстрата добавляли в каждую лунку планшета для анализа. Планшет встряхивали в течение 2 минут. Затем планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут в темноте и наконец считывали на считывателе для планшетов FLUOstar Galaxy (BMG Labtech, Durham, NC) с фильтром возбуждения 470–500 нм и фильтром излучения 500–560 нм, и флуоресценцию измеряли и представляли как кратность изменения относительно необработанных клеток. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ.

Анализ нецелевой активности

[0179] Анализ репортерного гена iLite: *Анализ «нецелевого» iLite* (PBL Interferon Source, Piscataway, NJ, Кат.# 51100) проводили по большей части, как описано производителем, с добавлением стадии блокирования IgG человека. Линия клеток iLite описана производителем как «стабильно трансфицированная линия клеток, полученная из коммерчески доступной промоцитарной линии клеток человека, характеризующаяся экспрессией антигенов МНС класса II, в частности, человеческого лимфоцитарного антигена (HLADR), на поверхности клеток». Линия клеток содержит стабильно трансфицированный ген люциферазы, экспрессией которого управляют посредством отвечающего на интерферон элемента (IRE), который позволяет количественную оценку активности интерферона на основании выхода люминесценции. Поставленный производителем планшет iLite (далее в настоящем документе планшет для анализа) и разбавитель вынимали из морозильника -80°C и позволяли уравновешивание до комнатной температуры. Затем добавляли 50

мкл разбавителя на лунку в планшет для анализа. Флакон поставленных производителем репортерных клеток вынимали из морозильника -80°C и размораживали в водяной бане при 37°C . Затем аликвоты клеток по 25 мкл распределяли в каждую лунку планшета для анализа. Затем 12,5 мкл 8 мг/мл IgG человека, разведенного в RPMI 1640 + 10% FBS (Sigma Chemicals, St. Louis, MO; кат.# 14506), добавляли на лунку. Содержимое смешивали и инкубировали при 37°C в течение 15 минут. В отдельном «планшете для разведения» тестируемые вещества серийно разводили в двух повторах в RPMI 1640 + 10% FBS. Затем по 12,5 мкл тестируемых веществ переносили из планшета для разведения в планшет для анализа. Затем планшет для анализа инкубировали при 37°C с 5% CO_2 в течение 17 часов. Поставленные производителем буфер для анализа и субстрат вынимали из морозильника -80°C и позволяли уравнивание до комнатной температуры в течение двух часов. Поставленный производителем буфер для анализа добавляли в поставленный производителем флакон с субстратом и хорошо перемешивали согласно инструкциям производителя для получения «люминесцентного раствора». Затем 100 мкл люминесцентного раствора добавляли в каждую лунку планшета для анализа. Планшет встряхивали в течение 2 минут. Затем планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут в темноте и наконец считывали на считывателе для множества меток Victor 3V на люминометрическом канале, и люминесценцию измеряли и представляли как RLU. Данные анализировали с помощью Graphpad Prism 5, как описано для «нецелевого (Daudi) анализа». Для тестирования конструкций слитого белка антитело против CD38-IFN в анализе iLite, поставленный производителем разбавитель дополняли 0,25 мг/мл антитела против CD38 (тот же самый клон антитела, тестированный в форме конструкции слитого белка антитело-IFN, для блокирования любого связывания конструкций слитого белка антитело против CD38-IFN с CD38, экспрессированным на клетках iLite).

[0180] Анализ нецелевой активности HEK-Blue™: Анализ использовали для количественной оценки способности слитых

конструкций антитело-IFN связывать рецептор интерферон-альфа/β (IFNAR) с использованием линии клеток HEK-Blue™ IFN-альфа/β (InvivoGen, San Diego, CA). «Анализ нецелевой активности (НВ-IFN)» проводили по большей части, как описано производителем линии клеток HEK-Blue™ IFN-альфа/β. Клетки HEK-Blue™ IFN-альфа/β специально разработаны для мониторинга активации пути JAK-STAT, индуцируемого видами IFN типа I. Клетки получены введением генов STAT2 и IRF9 человека в клетки HEK293 для получения полностью активного пути передачи сигнала IFN типа I. Клетки HEK-Blue™ IFN-альфа/β стабильно экспрессируют репортерный ген секретлируемой эмбриональной щелочной фосфатазы (SEAP) под контролем промотора ISG54. ISG54 является хорошо известным ISG, активируемым по зависимому от ISRE механизму посредством видов IFN типа I. При стимуляции IFN-альфа или IFNβ клетки HEK-Blue™ IFN-альфа/β активируют путь JAK-STAT и затем экспрессию репортерного гена SEAP. SEAP секретлируется в среду и может быть оценена количественно с использованием колориметрического реагента QUANTI-Blue™. Кратко, клетки HEK-Blue™ IFN-альфа/β (InvivoGen, San Diego CA кат.# hkb-ifnab) размораживали и культивировали в среде DMEM (Mediatech, Manassas VA, кат.# 10-013-CV) + 10% FBS (Hyclone, Logan UT, кат.# SH30070,03), инактивированной нагреванием (HI FBS). Когда клетки достигали конфлюэнтности 60-80%, их поднимали с помощью раствора для открепления клеток (Mediatech, кат.# 25-056-CI). Клетки промывали дважды в DMEM + HI FBS и подсчитывали. Клетки доводили до $3,3 \times 10^5$ жизнеспособных клеток/мл в DMEM + HI FBS и аликвоты по 150 мкл на лунку вносили в плоскодонный 96-луночный планшет для культивирования клеток (далее в настоящем документе «экспериментальный планшет»). Затем 50 мкл IFN-альфа2b или конструкции слитого белка, разведенных в DMEM + HI FBS, добавляли на лунку. Планшет инкубировали при 37°C с 5% CO₂ в течение 16-24 часов. QUANTI-Blue (InvivoGen, кат.# rep-qbl) подготавливали согласно указаниям производителя. Аликвоты QUANTI-Blue (150 мкл) вносили в каждую лунку плоскодонного

планшета (далее в настоящем документе «планшет для анализа»). Затем 50 мкл супернатанта на лунку из экспериментального планшета переносили в планшет для анализа. Затем планшет для анализа инкубировали при 37°C в течение 1-3 часов. Оптическую плотность в планшете для анализа при 630 нм считывали на счетчике для множества меток модели 1420-41 Victor 3V от Perkin-Elmer. Данные анализировали с использованием Graph Pad Prism.

Модель ксенотрансплантата H929

[0181] Эффект на рост опухоли миеломы различных доз конструкций A10.38 и A10.0 слитых белков анти-CD38 - ослабленный IFN-альфа сравнивали с эффектом конструкции слитого белка, не нацеленного на CD38. Для этих сравнений использовали модель s.c. множественной миеломы NCI-H929.

[0182] Линию клеток множественной миеломы, NCI-H929 (ATCC CRL-9068, Gazdar, Blood 67: 1542-1549, 1986), выращивали подкожно у мышей с иммунной недостаточностью (SCID).

[0183] Мышам SCID CB.17 в возрасте от восьми до двенадцати недель инъецировали подкожно в бок 1×10^7 клеток опухоли NCI-H929 в 50% матригеле™. Когда средний размер опухолей достигал 170-350 мм³, мышей группировали в 4 когорты по 7 мышей в каждой, и обработку начинали в нулевое время (T0). Все обработки проводили посредством внутрибрюшинной инъекции (i.p.) дважды в неделю в течение 3 недель (указано прямоугольниками под графиком). Все соединения дозировали при 100 мкг/дозу (приблизительно 4,5 мг/кг), за исключением группы носителя. Объем опухоли измеряли дважды в неделю посредством измерения штангенциркулем. Конечная точка представляла собой объем опухоли 2000 мм³.

[0184] Эффект на рост опухоли миеломы различных доз конструкций слитых белков A02.6, A10.0 и A10.38 анти-CD38 - ослабленный IFN-альфа сравнивали с эффектом носителя. Для этих сравнений использовали модель s.c. множественной миеломы NCI-H929.

[0185] Линию клеток множественной миеломы, NCI-H929 (ATCC

CRL-9068, Gazdar, Blood 67: 1542-1549, 1986), выращивали подкожно у мышей с иммунной недостаточностью (SCID).

[0186] Мышам SCID CB.17 в возрасте от восьми до двенадцати недель инъецируют подкожно в бок 1×10^7 клеток опухоли NCI-H929 клетки опухолей в 50% матригеле. Когда средний размер опухолей достигает 90 мм³, мышей группируют в 4 когорты по 5 мышей в каждой, и обработку начинают в нулевое время (T₀). Все обработки проводят посредством внутрибрюшинной инъекции (i.p.) дважды в неделю в течение 3 недель (указано прямоугольниками под графиком). Все соединения дозируют при 100 мкг/дозу (приблизительно 4,5 мг/кг), за исключением группы носителя. Объем опухоли измеряют дважды в неделю посредством измерения штангенциркулем.

Пример 6

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN с альтернативной константной областью

[0187] A02.12 содержит слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN, в котором константная область белка представляет собой HC-L0-IFN-альфа (A145D) IgG4 (SEQ. ID NO: 9). Вариабельная область тяжелой цепи этого антитела переформатирована в константную область IgG1, слитую с A145D ослабленным IFN-альфа2b (SEQ ID NO: 10). Совместной экспрессией этой тяжелой цепи с легкой цепью X02.107 (SEQ ID NO: 65) в клетках HEK293E получали антитело A02.112. Сравнение антител A02.12 и A02.112 с использованием анализов связывания CD38 на основе проточной цитометрии и анализов активности показывает, что другие константные области антител, таких как IgG1 человека, также можно использовать, получая в результате слитые белки антитело - ослабленный IFN с сильной биологической активностью, эквивалентной активности слитых белков, полученных с использованием константной области IgG4 (Таблица 16b).

Таблица 16b

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Проточное связывание (EC ₅₀ в мкг/мл)	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)	Фигуры
A02.12	3,40*	1,40	2,70	23,66	Фиг. 21
A02.112	<0,3*	3,14	3,74	N/T	Фиг. 21

* Антитело тестировали в проточном анализе связывания против линии клеток H929.

Зарегистрированное значение представляет собой EC₅₀ в мкг/мл. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. N/T - Не тестировали.

Пример 7

Гуманизация переменных областей R5D1, R5E8 и R10A2

[0188] Антитела крысиного происхождения против CD38 R5D1, R5E8 и R10A2 описаны в PCT/AU2012/001323 и выбраны для гуманизации. Переменные области этих антител супергуманизировали, как описано в Патентной публикации США No. 2003/0039649. Кратко, канонические структуры приписывали каждой тяжелой и легкой цепи грызунов посредством проверки их соответствующих аминокислотных последовательностей. R10A2 приписана каноническая структура 2-1-1/1-2 (V_L/V_H), R5E8 приписана каноническая структура 4-1-1/1-2, и R5D1 приписана каноническая структура 2-1-1/1-2. Человеческие зародышевые последовательности такой же канонической структуры использовали в качестве акцепторных каркасных областей для прививки донорных CDR. Конструировали также варианты полученных генов супергуманизированных антител, содержащие аминокислотные замены в положениях внутри их последовательности, кажущихся вероятно важными для поддержания их активности связывания. Различные супергуманизированные переменные области тяжелой цепи

показаны на фигуре 7. Различные супергуманизированные переменные области легкой цепи показаны на фигуре 8.

[0189] Последовательности переменной области тяжелой цепи субклонировали в вектор pEE6.4, содержащий константную область IgG4 человека, обладающую заменой S228P, слитую с ослабленным IFN-альфа2b A145D (SEQ. ID NO: 9). Переменные области легкой цепи субклонировали в вектор pEE12.4, содержащий константную область каппа человека (SEQ. ID NO: 5). Антитела получали посредством совместной экспрессии тяжелых цепей в pEE6.4 и легких цепей в pEE12.4 в клетках CHO, как описано ранее. В таблице 17 обобщены спаривания тяжелых и легких цепей, использованные для получения каждого супергуманизированного белка на основе 5D1. В таблице 18 подробно описаны спаривания тяжелых и легких цепей для полученного супергуманизированного белка на основе 5E8, в то время как спаривания тяжелых и легких цепей, использованные для получения супергуманизированных белков на основе 10A2, приведены в таблице 19. Ранжирование за один цикл равновесных констант диссоциации (K_D) супергуманизированных антител проводили посредством анализа VIAcore™ полученных после трансфекции CHO супернатантов. Способ использовали для определения того, экспрессируются ли антитела (связывание с белком А) и каким обладают уровнем активности связывания с CD38 человека.

Таблица 17

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Переменная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Variable Light SEQ ID NO:	K_D (M)	Связывание белка А (RU)
A5D1.0 (химерное)	114	125	$2,28 \times 10^{-9}$	N/A
A5D1.1	115	126	$2,95 \times 10^{-8}$	175
A5D1.2	115	127	$2,95 \times 10^{-8}$	289
A5D1.3	115	128	$2,35 \times 10^{-8}$	248
A5D1.4	115	129	$2,85 \times 10^{-8}$	427
A5D1.5	115	130	$1,84 \times 10^{-7}$	269

A5D1.6	115	131	$2,32 \times 10^{-8}$	338
A5D1.7	116	126	$1,05 \times 10^{-8}$	132
A5D1.8	116	127	$6,80 \times 10^{-9}$	263
A5D1.9	116	128	$9,93 \times 10^{-8}$	128
A5D1.10	116	129	$5,69 \times 10^{-9}$	358
A5D1.11	116	130	$1,64 \times 10^{-8}$	250
A5D1.12	116	131	$5,61 \times 10^{-9}$	345
A5D1.13	117	126	$1,44 \times 10^{-8}$	213
A5D1.14	117	127	$1,52 \times 10^{-8}$	344
A5D1.15	117	128	$1,46 \times 10^{-8}$	167
A5D1.16	117	129	$1,37 \times 10^{-8}$	524
A5D1.17	117	130	$3,28 \times 10^{-8}$	410
A5D1.18	117	131	$1,01 \times 10^{-8}$	396
A5D1.19	118	126	$1,01 \times 10^{-8}$	245
A5D1.20	118	127	$1,07 \times 10^{-8}$	282
A5D1.21	118	128	$7,94 \times 10^{-9}$	351
A5D1.22	118	129	$8,97 \times 10^{-9}$	566
A5D1.23	118	130	$2,14 \times 10^{-8}$	336
A5D1.24	118	131	$8,01 \times 10^{-9}$	319
A5D1.25	119	126	DNB	165
A5D1.26	119	127	DNB	286
A5D1.27	119	128	DNB	265
A5D1.28	119	129	DNB	493
A5D1.29	119	130	DNB	275
A5D1.30	119	131	DNB	263
A5D1.31	120	126	$1,05 \times 10^{-7}$	206
A5D1.32	120	127	$1,20 \times 10^{-7}$	318
A5D1.33	120	128	$9,83 \times 10^{-8}$	176
A5D1.34	120	129	$1,06 \times 10^{-7}$	497
A5D1.35	120	130	$6,07 \times 10^{-7}$	211
A5D1.36	120	131	$8,58 \times 10^{-8}$	331
A5D1.37	121	126	$1,01 \times 10^{-7}$	184

A5D1.38	121	127	$1,21 \times 10^{-7}$	315
A5D1.39	121	128	$9,55 \times 10^{-8}$	191
A5D1.40	121	129	$1,22 \times 10^{-7}$	460
A5D1.41	121	130	$5,60 \times 10^{-7}$	409
A5D1.42	121	131	$8,54 \times 10^{-8}$	301
A5D1.43	122	126	$1,78 \times 10^{-8}$	150
A5D1.44	122	127	$1,76 \times 10^{-8}$	226
A5D1.45	122	128	$1,42 \times 10^{-8}$	177
A5D1.46	122	129	$1,51 \times 10^{-8}$	401
A5D1.47	122	130	$1,89 \times 10^{-8}$	364
A5D1.48	122	131	$1,20 \times 10^{-8}$	273
A5D1.49	123	126	$6,32 \times 10^{-9}$	141
A5D1.50	123	127	$5,64 \times 10^{-9}$	212
A5D1.51	123	128	$4,97 \times 10^{-9}$	188
A5D1.52	123	129	$4,07 \times 10^{-9}$	493
A5D1.53	123	130	$6,98 \times 10^{-9}$	561
A5D1.54	123	131	$4,49 \times 10^{-9}$	253
A5D1.55	124	126	$6,48 \times 10^{-9}$	203
A5D1.56	124	127	$8,44 \times 10^{-9}$	144
A5D1.57	124	128	$5,59 \times 10^{-9}$	233
A5D1.58	124	129	$5,37 \times 10^{-9}$	376
A5D1.59	124	130	$1,05 \times 10^{-8}$	313
A5D1.60	124	131	$4,57 \times 10^{-9}$	429

DNB - не связывалось. N/A - Недоступно.

Таблица 18

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Варибельная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Варибельная легкая цепь SEQ ID NO:	K_D (M)	Связывание белка А (RU)
A5E8.0 (химерное)	132	143	$5,50 \times 10^{-9}$	N/A

A5E8.1	133	144	$2,31 \times 10^{-7}$	267
A5E8.2	133	145	$2,37 \times 10^{-7}$	459
A5E8.3	133	146	$3,59 \times 10^{-7}$	281
A5E8.4	133	147	DNB	420
A5E8.5	134	144	$1,75 \times 10^{-7}$	172
A5E8.6	134	145	$1,57 \times 10^{-7}$	611
A5E8.7	134	146	$2,58 \times 10^{-7}$	201
A5E8.8	134	147	$8,09 \times 10^{-7}$	308
A5E8.9	135	144	$1,05 \times 10^{-8}$	153
A5E8.10	135	145	$2,13 \times 10^{-8}$	503
A5E8.11	135	146	$2,69 \times 10^{-8}$	372
A5E8.12	135	147	DNB	212
A5E8.13	136	144	$3,98 \times 10^{-8}$	301
A5E8.14	136	145	$1,26 \times 10^{-7}$	543
A5E8.15	136	146	$1,39 \times 10^{-7}$	504
A5E8.16	136	147	DNB	284
A5E8.17	137	144	$2,76 \times 10^{-8}$	397
A5E8.18	137	145	$8,81 \times 10^{-8}$	430
A5E8.19	137	146	$1,09 \times 10^{-7}$	220
A5E8.20	137	147	DNB	397
A5E8.21	138	144	DNB	277
A5E8.22	138	145	DNB	409
A5E8.23	138	146	DNB	339
A5E8.24	138	147	DNB	266
A5E8.25	139	144	DNB	283
A5E8.26	139	145	DNB	395
A5E8.27	139	146	DNB	277
A5E8.28	139	147	DNB	290
A5E8.29	140	144	$3,91 \times 10^{-8}$	207
A5E8.30	140	145	$5,00 \times 10^{-8}$	255
A5E8.31	140	146	$6,61 \times 10^{-8}$	267
A5E8.32	140	147	DNB	42
A5E8.33	141	144	$1,12 \times 10^{-8}$	134

A5E8.34	141	145	$1,63 \times 10^{-8}$	301
A5E8.35	141	146	$1,85 \times 10^{-8}$	177
A5E8.36	141	147	DNB	10
A5E8.37	142	144	$8,19 \times 10^{-8}$	200
A5E8.38	142	145	$1,55 \times 10^{-8}$	328
A5E8.39	142	146	$1,74 \times 10^{-8}$	232
A5E8.40	142	147	DNB	126

DNB - не связывалось. N/A – Недоступно.

Таблица 19

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	SEQ ID NO: Варибельная тяжелая цепь	SEQ ID NO: Варибельная легкая цепь	K _D (M)	Связывание белка А (RU)
A10A2.0 (химерное)	148	157	$5,9 \times 10^{-10}$	N/A
A10A2.1	149	158	DNB	728
A10A2.2	149	159	DNB	689
A10A2.3	149	160	DNB	850
A10A2.4	149	161	DNB	996
A10A2.5	149	162	DNB	761
A10A2.6	149	163	DNB	890
A10A2.7	149	164	DNB	725
A10A2.8	150	158	$7,18 \times 10^{-7}$	718
A10A2.9	150	159	$6,62 \times 10^{-7}$	627
A10A2.10	150	160	$9,13 \times 10^{-7}$	850
A10A2.11	150	161	$2,37 \times 10^{-7}$	956
A10A2.12	150	162	$1,18 \times 10^{-6}$	864
A10A2.13	150	163	$6,80 \times 10^{-7}$	765
A10A2.14	150	164	DNB	645
A10A2.15	151	158	$1,15 \times 10^{-7}$	488
A10A2.16	151	159	$8,11 \times 10^{-8}$	759
A10A2.17	151	160	$1,84 \times 10^{-7}$	684

A10A2.18	151	161	$3,39 \times 10^{-8}$	907
A10A2.19	151	162	$1,84 \times 10^{-7}$	831
A10A2.20	151	163	$1,23 \times 10^{-7}$	560
A10A2.21	151	164	DNB	337
A10A2.22	152	158	$2,70 \times 10^{-9}$	890
A10A2.23	152	159	$2,17 \times 10^{-9}$	828
A10A2.24	152	160	$3,04 \times 10^{-9}$	803
A10A2.25	152	161	$1,51 \times 10^{-9}$	1054
A10A2.26	152	162	$3,51 \times 10^{-9}$	741
A10A2.27	152	163	$2,42 \times 10^{-9}$	603
A10A2.28	152	164	$3,69 \times 10^{-8}$	384
A10A2.29	153	158	$2,77 \times 10^{-8}$	93
A10A2.30	153	159	$2,15 \times 10^{-8}$	86
A10A2.31	153	160	$5,82 \times 10^{-8}$	33
A10A2.32	153	161	$8,49 \times 10^{-9}$	169
A10A2.33	153	162	$5,66 \times 10^{-8}$	62
A10A2.34	153	163	$3,88 \times 10^{-8}$	56
A10A2.35	153	164	DNB	DNE
A10A2.36	154	158	$8,38 \times 10^{-9}$	221
A10A2.37	154	159	$1,39 \times 10^{-9}$	858
A10A2.38	154	160	$1,08 \times 10^{-8}$	178
A10A2.39	154	161	$3,80 \times 10^{-9}$	357
A10A2.40	154	162	$1,34 \times 10^{-8}$	217
A10A2.41	154	163	$8,73 \times 10^{-9}$	202
A10A2.42	154	164	$2,09 \times 10^{-7}$	175
A10A2.43	154	158	$2,45 \times 10^{-7}$	621
A10A2.44	155	159	$6,23 \times 10^{-9}$	220
A10A2.45	155	160	$2,84 \times 10^{-7}$	881
A10A2.46	155	161	$1,39 \times 10^{-7}$	1000
A10A2.47	155	162	$3,28 \times 10^{-7}$	9
A10A2.48	155	163	$2,52 \times 10^{-7}$	565
A10A2.49	155	164	DNB	499

A10A2.50	156	158	$1,61 \times 10^{-9}$	567
A10A2.51	156	159	$2,00 \times 10^{-7}$	603
A10A2.52	156	160	$1,69 \times 10^{-9}$	723
A10A2.53	156	161	$1,20 \times 10^{-9}$	729
A10A2.54	156	162	$1,92 \times 10^{-9}$	639
A10A2.55	156	163	$1,47 \times 10^{-9}$	692
A10A2.56	156	164	$1,97 \times 10^{-7}$	383

DNB - не связывалось.

DNE - не экспрессировалось.

[0190] Для каждого семейства гуманизированных антител - 5D1. 5E8 и 10A2 -несколько комбинаций гуманизированных тяжелых и легких цепей не могли либо экспрессировать белок, либо связываться с CD38 человека. Значительное количество антител среди всех трех 3 семейств гуманизированных антител экспрессировались и связывались с CD38 человека с равновесными константами диссоциации в наномолярном (нМ) диапазоне. A10A2.53 и A10A2.25, разделяющие общую легкую цепь, выбраны для дальнейшей оптимизации. A10A2.53 переименовано в A10.0, и A10A2.25 переименовано в A10.38.

Пример 8

Улучшенные варианты A10.0

[0191] Антитело A10.0 оптимизировали посредством изменений последовательностей переменных тяжелой и/или легкой цепи с целью получения положительного эффекта на биофизические свойства и иммуногенность *in silico* антитела, в то же время оказывая минимальное влияние на функциональную активность антитела.

Анализ *in silico* иммуногенности тяжелых и легких цепей A10.0

[0192] Анализы *in silico* иммуногенности переменных областей тяжелой и легкой цепи A10.0 проводили с использованием пакета программного обеспечения Epibase. Несколько аминокислотных замен вводили в переменные области тяжелой и легкой цепи A10.0 для удаления потенциальных иммуногенных

эпитопов. Выравнивание аминокислотной последовательности полученных вариантов вариабельной области тяжелой цепи, выровненных с гуманизированной тяжелой цепью (SEQ. ID NO: 156), показано на фигуре 9. Выравнивание аминокислотной последовательности вариантов вариабельной области легкой цепи, выровненных с гуманизированной легкой цепью (SEQ ID NO: 161), показано на фигуре 10. Подробности вариантов тяжелых и легких цепей, совместно экспрессированных в клетках HEK293E для получения белков, обобщены в таблице 20.

Таблица 20

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Аминокислотная замена в VH (относительно A10.0)	Вариабельная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Аминокислотная замена в VK (относительно A10.0)	Вариабельная легкая цепь SEQ ID NO:
A10.1	A40E	165	N/A	161
A10.2	A40G	166	N/A	161
A10.3	A40H	167	N/A	161
A10.4	A40Q	168	N/A	161
A10.5	A40S	169	N/A	161
A10.6	A40V	170	N/A	161
A10.7	N35E	171	N/A	161
A10.8	N35P	172	N/A	161
A10.9	N35Q	173	N/A	161
A10.10	N35S	174	N/A	161
<u>A10.il</u>	R94E	175	N/A	161
A10.12	R94G	176	N/A	161
A10.13	R94P	177	N/A	161
A10.14	R94T	178	N/A	161
A10.15	K96G	179	N/A	161
A10.16	K96T	180	N/A	161
A10.17	N/A	156	K24E	181
A10.18	N/A	156	K24G	182
A10.19	N/A	156	K24P	183

A10.20	N/A	156	K24Q	184
A10.21	N/A	156	R54D	185
A10.22	N/A	156	I48D	186
A10.23	N/A	156	Y49E	187
A10.24	N/A	156	M89A	188
A10.25	N/A	156	M89E	189
A10.26	N/A	156	M89H	190
A10.27	N/A	156	M89K	191
A10.28	N/A	156	M89P	192
A10.29	N/A	156	M89Q	193
A10.30	N/A	156	M89S	194
A10.31	N/A	156	M89V	195
A10.32	N/A	156	Q90D	196

[0193] Каждое антитело, полученное с использованием спариваний тяжелых и легких цепей, описанных в таблице 20, оценивали по уровню экспрессии белка и связыванию с CD38 по SPR. Более того, анализы активности проводили с использованием супернатантов культуры клеток для оценки относительной функциональной активности каждого из этих слитых белков антитело против CD38 - ослабленный IFN, таблица 21.

Таблица 21

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	HPLC белка А (мг/л)	Связывание CD38 по SPR(RU) через 350 с*	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток (IC ₅₀ пМ)
A10.1	16,9	1824	1,66	3,41	4078
A10.2	16,7	1821	1,66	5,19	7622
A10.3	25,0	2166	1,63	5,46	2148
A10.4	23,7	2169	1,63	5,78	4108
A10.5	28,0	2240	1,64	5,80	3046

A10.6	31,0	2097	1,57	5,76	2283
A10.7	26,5	DNB	1,18	1,09	Her IC ₅₀
A10.8	2,4	DNB	N/T	N/T	N/T
A10.9	18,3	176	1,48	2,07	Her IC ₅₀
A10.10	32,2	1072	1,57	4,97	18870
<u>A10.11</u>	28,3	98	1,57	3,64	Her IC ₅₀
A10.12	30,7	DNB	1,22	1,99	Her IC ₅₀
A10.13	30,6	123	1,31	2,67	Her IC ₅₀
A10.14	30,5	247	1,19	5,11	68270
A10.15	41,8	1254	1,52	5,44	5169
A10.16	24,2	1210	1,70	4,57	5224
A10.17	18,2	1686	1,79	6,11	3054
A10.18	32,5	2457	1,89	6,16	2178
A10.19	1,6	DNB	1,73	2,39	Her IC ₅₀
A10.20	12,2	1355	4,65	7,72	564
A10.21	19,9	1837	1,84	5,56	5330
A10.22	5,5	480	N/T	N/T	N/T
A10.23	20,6	255	1,71	3,85	59720
A10.24	34,6	1943	4,14	6,75	399
A10.25	28,3	1778	1,87	6,09	4910
A10.26	5,7	706	N/T	N/T	N/T
A10.27	7,4	136	N/T	N/T	N/T
A10.28	2,2	48	N/T	N/T	N/T
A10.29	10,9	1443	N/T	N/T	Her IC ₅₀
A10.30	25,4	1865	1,98	6,21	1438
A10.31	5,8	469	N/T	N/T	N/T
A10.32	34,5	615	3,80	6,97	3628

Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после фазы диссоциации 350 секунд. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструциями антитела при 20 нМ. DNB – Не связывался; N/T– не

тестировали; Нет IC₅₀ – Активность, недостаточная для значения IC₅₀.

[0194] Анализы аминокислотных последовательностей для последовательностей переменных тяжелой и легкой цепи A10.0 идентифицировали несколько потенциальных участков дезамидирования и один потенциальный участок окисления. Замену N98Q в переменной тяжелой цепи получали для удаления участка дезамидирования из CDR3 тяжелой цепи, SEQ. ID NO: 197. Дополнительный вариант переменной легкой цепи A10.0, содержащий замену N53Q в CDR2 (SEQ ID NO: 198), получали для удаления этого предположительного участка дезамидирования. M89 внутри CDR3 легкой цепи также изменяли посредством аминокислотных замен в этом положении с объединенными целями удаления этого потенциального участка окисления и уменьшения предсказанной иммуногенности этой области легкой цепи. Эти замены, описанные в таблице 22, вместе со спариваниями тяжелых и легких цепей, совместно экспрессировали для получения каждого слитого белка анти-CD38 – ослабленный IFN.

Таблица 22

Слитый белок анти-CD38 -ослабленный IFN	Аминокислотная замена (относительно A10.0)	Переменная тяжелая цепь SEQ ID NO:	Переменная легкая цепь SEQ ID NO:
A10.35	Тяжелая цепь N(98)Q	197	161
A10.36	Легкая цепь N(53)Q	156	198

[0195] Каждое антитело, полученное с использованием спариваний тяжелых и легких цепей, описанных в таблице 22, оценивали по уровню экспрессии белка и связыванию с CD38 по SPR. Кроме того, анализы активности проводили с использованием супернатантов культуры клеток для оценки относительной функциональной активности каждого из этих слитых белков антитело против CD38 – ослабленный IFN, показанных в таблице 23.

Таблица 23

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	HPLC белка А (мг/л)	Связывание CD38 по SPR (RU) через 350 с*	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)
A10.35	34,5	1889	1,83	6,16	6241
A10.36	52,4	1895	3,95	5,90	534,9

Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после фазы диссоциации 350 секунд. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ.

Пример 9

Получение улучшенных вариантов A10.38

[0196] A10.0 и A10.38 разделяют общую легкую цепь. Оптимизированные последовательности легкой цепи A10.0 спаривали с тяжелой цепью антитела A10.38 с целью получения положительного эффекта на биофизические свойства и свойства иммуногенности, в то же время оказывая минимальное влияние на функциональную активность. Обобщение изменений и спариваний тяжелых и легких цепей описаны в таблице 24.

Таблица 24

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	SEQ ID: Вариабельная тяжелая цепь	Аминокислотная замена в VK (относительно A10.38)	SEQ ID: Вариабельная легкая цепь
A10.38	152	N/A	161
A10.39	152	K24E	181
A10.40	152	K24G	182
A10.41	152	K24P	183

A10.42	152	K24Q	184
A10.43	152	R54D	185
A10.44	152	I48D	186
A10.45	152	Y49E	187
A10.46	152	M89A	188
A10.47	152	M89E	189
A10.48	152	M89H	190
A10.49	152	M89K	191
A10.50	152	M89P	192
A10.51	152	M89Q	193
A10.52	152	M89S	194
A10.53	152	M89V	195
A10.54	152	Q90D	196
A10.57	152	N53Q	198

[0197] Каждое из вышеуказанных антител оценивали по уровню экспрессии белка и связыванию с CD38 по SPR. Анализы активности проводили с использованием супернатантов культуры клеток для оценки относительной функциональной активности каждого из этих слитых белков антитело против CD38 - ослабленный IFN, таблица 25.

Таблица 25

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	HPLC белка А (мг/л)	Связывание CD38 по SPR(RU) через 350 с*	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)
A10.38	119,7	1540	3,22	5,17
A10.39	113,4	1444	3,39	4,79
A10.40	117,8	1562	3,28	5,12
A10.41	89,7	1459	3,27	5,12
A10.42	111,7	1443	3,32	5,60
A10.43	94,1	1426	3,21	6,15
A10.44	51,9	969	3,08	5,66

A10.45	111,7	333	2,76	5,01
A10.46	120,0	1547	3,24	4,80
A10.47	107,3	1337	3,45	4,25
A10.48	45,5	865	3,06	5,48
A10.49	55,8	213	3,46	7,63
A10.50	11,3	172	2,96	5,61
A10.51	51,6	1320	2,34	6,16
A10.52	70,0	1512	3,21	5,62
A10.53	40,0	536	3,46	4,68
A10.54	61,3	583	3,10	6,20
A10.57	67,1	1431	3,06	6,04

Связывание CD38 по SPR относится к количеству CD38, которое остается связанным с поверхностью после фазы диссоциации 350 секунд. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. N/T – Не тестировали.

Ослабленный IFN необходим для сильной активации апоптоза и каспазы в линиях клеток опухолей

[0198] Относительную активность антител против CD38 A10.0 (слитого с ослабленным IFN) и X10.0 (без слияния) сравнивали с использованием анализов аннексина V, каспазы и пролиферации клеток, описанных в примере 5. Относительную активность A10.38 и X10.38 также сравнивали, таблица 26.

Таблица 26

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)	Фигуры
A10.0	2,10	4,23	2081	Фиг. 18
X10.0	1,27	1,70	Нет IC ₅₀	Фиг. 18

A10.38	3,22	5,17	1118	Фиг. 25
X10.38	1,46	2,09	Нет IC50	Фиг. 25

Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ.

[0199] Эти данные показывают, что для сильной апоптотической активности, проявляемой антителами A10.0 и A10.38 относительно X10.0 и X10.38, соответственно, необходимо присутствие слияния с ослабленным IFN. Антипролиферативной активности не наблюдали с антителами без ослабленного IFN.

[0200] Выравнивание консенсусной последовательности переменных областей тяжелой цепи из белков с функциональной активностью показано на фигуре 11. Выравнивание консенсусной последовательности переменных областей легкой цепи из белков с функциональной активностью показано на фигуре 12. Кроме того, можно предусматривать, что можно получать комбинации замен, такие как комбинации, описанные для антител против CD38 X10.60, X10.61, X10.62, X10.63, X10.64, X10.65, X10.66, X10.67, X10.68, X10.69, X10.70, X10.71, X10.72, X10.73, X10.74, X10.75, X10.76, X10.77, X10.78, X10.79, X10.80, X10.81, X10.82, X10.83, X10.84, X10.85, X10.86, X10.87, X10.88, X10.89, X10.90, X10.91, X10.92, X10.93, X10.94, X10.95, X10.96, X10.97, X10.98, X10.99, X10.100, X10.101, X10.102, X10.103, X10.104, X10.105, X10.106, X10.107, X10.108, X10.109, X10.110, X10.111, X10.112, X10.113, X10.114, X10.115, X10.116, X10.117, X10.118, X10.119, X10.120, X10.121, X10.122, X10.123, X10.124, X10.125, X10.126, X10.127, X10.128, X10.129, X10.130, X10.131, X10.132, X10.133, X10.134, X10.135, X10.136, X10.137, X10.138, X10.139, X10.140, X10.141, X10.142, X10.143, X10.144, X10.145, X10.146, X10.147 (фигура 11, фигура 12). Кроме того, вышеуказанные антитела против CD38 можно также конструировать в форме слитых белков анти-CD38 - ослабленный IFN и тестировать по функциональной активности, как описано в настоящем документе.

Модель ксенотрансплантата множественной миеломы H929

[0201] Активность *in vivo* вариантов 10A2 A10.0 и A10A2.0 оценивали в модели *s.c.* множественной миеломы NCI-H929, фигура 27. Показано, что оба обладают сильной противоопухолевой активностью в этой модели. Такую модель можно использовать для тестирования противоопухолевой активности других белковых конструкций, описанных в настоящем документе.

Нецелевая активность вариантов 10A2

[0202] *Нецелевая* активность вариантов 10A2 A10.0, A10.38, A10A2.37 и A10A2.39 по сравнению с исходным химерным антителом A10A2.0, слитым с интерфероном дикого типа и ослабленным интерфероном 145D, оценена или в анализе репортерного гена *iLite* и/или в анализе HEK Blue и показана на фигуре 28 и фигуре 29. Значения EC_{50} представлены на фигуре 28 и фигуре 29. *Нецелевая* активность подтверждает ослабление интерферона и необходимость нацеливания антитела на CD38 для восстановления функции.

Дополнительные данные активности *in-vitro* для A10.0 и родственных конструкций

[0203] Выборку вышеуказанных слитых белков анти-CD38-ослабленный IFN очищали и анализировали по связыванию с положительными по CD38 клетками в анализах на основе клеток. Кроме того, повторяли анализы активности для получения более точного определения относительной активности каждого из этих слитых белков анти-CD38 - ослабленный IFN. Способы этих различных анализов описаны в примере 5. Результаты каждого из этих анализов приведены в таблице 27.

Таблица 27

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Проточное связывание H929 (EC ₅₀ в мкг/мл)	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (пМ)	Фигуры
A10.0	1,49	3,05	1,38	120,8	17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 28, 29
A10.1	1,03	1,34	4,63	63,6	24, 25
A10.2	0,57	1,37	4,37	45,6	24, 25
A10.3	0,55	1,43	5,52	65,8	24, 25
A10.5	0,48	3,27	1,61	53,79	24, 25
A10.6	0,35	3,16	1,66	98,85	24, 25
A10.10	6,84	3,02	1,64	1967,00	24, 25
A10.14	2,26	2,46	1,56	2207	22, 24, 25
A10.15	2,06	3,06	2,55	174,4	22, 24, 25
A10.16	1,17	1,35	5,18	49,5	24, 25
A10.18	1,03	2,95	1,70	124,2	22, 24, 25
A10.20	2,11	2,84	1,26	656	24, 25
A10.21	0,78	3,0	1,39	147,3	22, 24, 25
A10.24	0,81	2,95	7,47	87,99	22, 24, 25
A10.25	1,37	2,75	1,38	27,69	24, 25
A10.30	0,88	3,22	1,60	18,73	24, 25

A10.32	51,69	1,93	1,19	381,4	24, 25
A10.35	1,10	2,97	2,05	93,96	22, 24, 25
A10.36	1,53	3,21	3,61	57,83	22, 24, 25
A10.37	18,57	2,53	1,40	163,5	24, 25
A10.38	1,13	3,27	1,53	36,79	23, 24, 25, 26, 29
A10.40	0,99	1,44	5,16	3,02	24, 25
A10.42	1,61	1,58	1,78	155,3	24, 25
A10.43	1,20	1,64	1,79	120,9	24, 25
A10.44	1,65	1,58	1,91	308,6	24, 25
A10.46	0,73	1,84	5,99	2,63	24, 25
A10.47	0,79	1,70	1,53	5,707	24, 25
A10.48	1,72	1,58	1,60	22,33	24, 25
A10.53	1,32	1,56	1,67	56,01	24, 25
A10.54	5,90	1,52	1,43	2008	24, 25
A10.56	2,43	1,84	1,95	141,7	24, 25
A10.57	1,54	1,49	4,71	126,1	24, 25
A10.59	0,89	2,48	2,38	45,75	21, 24, 25

Проточное связывание определяли в линии клеток H929. Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ.

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN с альтернативной константной областью

[0204] A10.0 содержит слитый белок анти-CD38-ослабленный IFN, в котором константная область белка представляет собой HC-L0-IFN-альфа (A145D) IgG4 (SEQ. ID NO: 9). С использованием

синтеза генов, константную область этого белка заменяли на HC-L0-IFN-альфа (A145D) IgG1 (SEQ ID NO: 10), спаривали с легкой цепью A10.0 (SEQ ID NO: 161) и давали обозначение A10.59. Белок экспрессировали и обнаружили, что он является активным в функциональных анализах (таблица 28). В то время как большинство белков, протестированных в вышеописанных примерах, конструировали с константной областью IgG4 человека, эти данные показывают, что константные области других антител, таких как IgG1 человека, также можно использовать, с получением в результате слитой конструкции антитело - ослабленный IFN, обладающей сильной биологической активностью, эквивалентной конструкциям, в которых используют константную область IgG4 человека.

Таблица 28

Слитый белок анти-CD38 - ослабленный IFN	Проточное связывание H929 (EC ₅₀ в мкг/мл)	Анализ аннексина V (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ каспазы (кратность изменения относительно необработанных клеток)	Анализ пролиферации клеток IC ₅₀ (нМ)*	Фигуры
A10.0	1,50	3,05	1,89	2081	21, 24, 25
A10.59	0,89	2,48	2,38	328,6	21, 24, 25

Анализ аннексина V относится к клеткам, положительно окрашенным посредством аннексина V-FITC через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. Анализ каспазы относится к активации каспазы в клетках через 24 час обработки конструкциями антитела при 20 нМ. N/T - Не тестировали, * Данные получены из анализа пролиферации клеток с оценкой по супернатанту культуры клеток.

[0205] В таблице 29 перечислено спаривание переменной тяжелой цепи, переменной легкой цепи и константной области для каждого антитела, описанного в настоящем документе. В таблице 30 перечислены последовательности, используемые в

описании. АК обозначает аминокислотная (тип последовательности), и ДНК обозначает полинуклеотидная (тип последовательности).

Таблица 29

Наименование антитела	Варибельная тяжелая цепь SEQ ID NO: (аминокислота)	Варибельная легкая цепь SEQ ID NO: (аминокислота)	Константная область Тяжелой цепи SEQ ID NO: (аминокислота)
A02.10	19	14	9
<u>A02.11</u>	20	14	9
A02.112	34	65	10
A02.12	34	65	9
A02.13	35	65	9
A02.16	34	92	9
A02.17	34	93	9
A02.18	34	73	9
A02.19	34	74	9
A02.2	13	65	9
A02.20	34	75	9
A02.21	34	76	9
A02.22	34	77	9
A02.23	34	78	9
A02.24	34	79	9
A02.25	34	80	9
A02.26	34	81	9
A02.27	34	82	9
A02.28	34	83	9
A02.29	34	84	9
A02.3	17	65	9
A02.30	34	85	9
A02.31	34	86	9
A02.32	34	87	9
A02.33	34	88	9

A02.34	34	89	9
A02.35	34	90	9
A02.36	34	91	9
A02.37	34	66	9
A02.38	34	113	9
A02.39	34	112	9
A02.4	18	65	9
A02.40	111	65	9
A02.41	110	65	9
A02.43	110	113	9
A02.44	111	112	9
A02.46	34	67	9
A02.47	34	68	9
A02.48	34	69	9
A02.49	34	70	9
A02.5	19	65	9
A02.50	34	71	9
A02.51	34	72	9
A02.52	34	94	9
A02.53	34	95	9
A02.54	34	96	9
A02.55	34	97	9
A02.56	34	98	9
A02.57	34	99	9
A02.58	34	100	9
A02.59	34	101	9
A02.6	20	65	9
A02.60	34	102	9
A02.61	34	103	9
A02.62	34	104	9
A02.63	34	105	9
A02.64	34	106	9
A02.65	34	107	9
A02.66	34	108	9

A02.67	34	109	9
A02.8	17	14	9
A02.9	18	14	9
A10.1	165	161	9
A10.10	174	161	9
A10.11	175	161	9
A10.12	176	161	9
A10.13	177	161	9
A10.14	178	161	9
A10.15	179	161	9
A10.16	180	161	9
A10.17	156	181	9
A10.18	156	182	9
A10.19	156	183	9
A10.2	166	161	9
A10.20	156	184	9
A10.21	156	185	9
A10.22	156	186	9
A10.23	156	187	9
A10.24	156	188	9
A10.25	156	189	9
A10.26	156	190	9
A10.27	156	191	9
A10.28	156	192	9
A10.29	156	193	9
A10.3	167	161	9
A10.30	156	194	9
A10.31	156	195	9
A10.32	156	196	9
A10.35	197	161	9
A10.36	156	198	9
A10.38	152	161	9
A10.39	152	181	9
A10.4	168	161	9

A10.40	152	182	9
A10.41	152	183	9
A10.42	152	184	9
A10.43	152	185	9
A10.44	152	186	9
A10.45	152	187	9
A10.46	152	188	9
A10.47	152	189	9
A10.48	152	190	9
A10.49	152	191	9
A10.5	169	161	9
A10.50	152	192	9
A10.51	152	193	9
A10.52	152	194	9
A10.53	152	195	9
A10.54	152	196	9
A10.57	152	198	9
A10.59	156	161	10
A10.6	170	161	9
A10.7	171	161	9
A10.8	172	161	9
A10.9	173	161	9
A10A2.0 (химерное)	148	157	9
A10A2.1	149	158	9
A10A2.10	150	160	9
A10A2.11	150	161	9
A10A2.12	150	162	9
A10A2.13	150	163	9
A10A2.14	150	164	9
A10A2.15	151	158	9
A10A2.16	151	159	9
A10A2.17	151	160	9
A10A2.18	151	161	9

A10A2.19	151	162	9
A10A2.2	149	159	9
A10A2.20	151	163	9
A10A2.21	151	164	9
A10A2.22	152	158	9
A10A2.23	152	159	9
A10A2.24	152	160	9
A10A2.25	152	161	9
A10A2.26	152	162	9
A10A2.27	152	163	9
A10A2.28	152	164	9
A10A2.29	153	158	9
A10A2.3	149	160	9
A10A2.30	153	159	9
A10A2.31	153	160	9
A10A2.32	153	161	9
A10A2.33	153	162	9
A10A2.34	153	163	9
A10A2.35	153	164	9
A10A2.36	154	158	9
A10A2.37	154	159	9
A10A2.38	154	160	9
A10A2.39	154	161	9
A10A2.4	149	161	9
A10A2.40	154	162	9
A10A2.41	154	163	9
A10A2.42	154	164	9
A10A2.43	154	158	9
A10A2.44	155	159	9
A10A2.45	155	160	9
A10A2.46	155	161	9
A10A2.47	155	162	9
A10A2.48	155	163	9
A10A2.49	155	164	9

A10A2.5	149	162	9
A10A2.50	156	158	9
A10A2.51	156	159	9
A10A2.52	156	160	9
A10A2.53	156	161	9
A10A2.54	156	162	9
A10A2.55	156	163	9
A10A2.56	156	164	9
A10A2.6	149	163	9
A10A2.7	149	164	9
A10A2.8	150	158	9
A10A2.9	150	159	9
A5D1.0 (химерное)	114	125	9
A5D1.1	115	126	9
A5D1.10	116	129	9
A5D1.11	116	130	9
A5D1.12	116	131	9
A5D1.13	117	126	9
A5D1.14	117	127	9
A5D1.15	117	128	9
A5D1.16	117	129	9
A5D1.17	117	130	9
A5D1.18	117	131	9
A5D1.19	118	126	9
A5D1.2	115	127	9
A5D1.20	118	127	9
A5D1.21	118	128	9
A5D1.22	118	129	9
A5D1.23	118	130	9
A5D1.24	118	131	9
A5D1.25	119	126	9
A5D1.26	119	127	9
A5D1.27	119	128	9
A5D1.28	119	129	9

A5D1.29	119	130	9
A5D1.3	115	128	9
A5D1.30	119	131	9
A5D1.31	120	126	9
A5D1.32	120	127	9
A5D1.33	120	128	9
A5D1.34	120	129	9
A5D1.35	120	130	9
A5D1.36	120	131	9
A5D1.37	121	126	9
A5D1.38	121	127	9
A5D1.39	121	128	9
A5D1.4	115	129	9
A5D1.40	121	129	9
A5D1.41	121	130	9
A5D1.42	121	131	9
A5D1.43	122	126	9
A5D1.44	122	127	9
A5D1.45	122	128	9
A5D1.46	122	129	9
A5D1.47	122	130	9
A5D1.48	122	131	9
A5D1.49	123	126	9
A5D1.5	115	130	9
A5D1.50	123	127	9
A5D1.51	123	128	9
A5D1.52	123	129	9
A5D1.53	123	130	9
A5D1.54	123	131	9
A5D1.55	124	126	9
A5D1.56	124	127	9
A5D1.57	124	128	9
A5D1.58	124	129	9
A5D1.59	124	130	9

A5D1.6	115	131	9
A5D1.60	124	131	9
A5D1.7	116	126	9
A5D1.8	116	127	9
A5D1.9	116	128	9
A5E8.0 (химерное)	132	143	9
A5E8.1	133	144	9
A5E8.10	135	145	9
A5E8.11	135	146	9
A5E8.12	135	147	9
A5E8.13	136	144	9
A5E8.14	136	145	9
A5E8.15	136	146	9
A5E8.16	136	147	9
A5E8.17	137	144	9
A5E8.18	137	145	9
A5E8.19	137	146	9
A5E8.2	133	145	9
A5E8.20	137	147	9
A5E8.21	138	144	9
A5E8.22	138	145	9
A5E8.23	138	146	9
A5E8.24	138	147	9
A5E8.25	139	144	9
A5E8.26	139	145	9
A5E8.27	139	146	9
A5E8.28	139	147	9
A5E8.29	140	144	9
A5E8.3	133	146	9
A5E8.30	140	145	9
A5E8.31	140	146	9
A5E8.32	140	147	9
A5E8.33	141	144	9
A5E8.34	141	145	9

A5E8.35	141	146	9
A5E8.36	141	147	9
A5E8.37	142	144	9
A5E8.38	142	145	9
A5E8.39	142	146	9
A5E8.4	133	147	9
A5E8.40	142	147	9
A5E8.5	134	144	9
A5E8.6	134	145	9
A5E8.7	134	146	9
A5E8.8	134	147	9
A5E8.9	135	144	9
X02.10	19	14	3
X02.100	13	58	3
X02.101	13	59	3
X02.102	13	60	3
X02.103	13	61	3
X02.104	13	62	3
X02.105	13	63	3
X02.106	13	64	3
X02.107	13	65	3
X02.108	32	14	3
X02.11	20	14	3
X02.110	33	14	3
X02.114	13	660	3
X02.115	13	661	3
X02.116	13	662	3
X02.117	13	663	3
X02.118	34	700	3
X02.119	34	701	3
X02.120	728	700	3
X02.121	729	700	3
X02.122	730	700	3
X02.123	731	700	3

X02.124	728	701	3
X02.125	729	701	3
X02.126	730	701	3
X02.127	731	701	3
X02.68	21	14	3
X02.69	22	14	3
X02.70	23	14	3
X02.71	24	14	3
X02.72	25	14	3
X02.73	26	14	3
X02.74	27	14	3
X02.75	28	14	3
X02.76	29	14	3
X02.77	30	14	3
X02.78	31	14	3
X02.8	17	14	3
X02.80	13	38	3
X02.81	13	39	3
X02.82	13	40	3
X02.83	13	41	3
X02.84	13	42	3
X02.85	13	43	3
X02.86	13	44	3
X02.87	13	45	3
X02.88	13	46	3
X02.89	13	47	3
X02.9	18	14	3
X02.90	13	48	3
X02.91	13	49	3
X02.92	13	50	3
X02.93	13	51	3
X02.94	13	52	3
X02.95	13	53	3
X02.96	13	54	3

X02.97	13	55	3
X02.98	13	56	3
X02.99	13	57	3
X10.100	720	706	3
X10.101	721	706	3
X10.102	722	706	3
X10.103	723	706	3
X10.104	739	706	3
X10.105	740	706	3
X10.106	741	706	3
X10.107	742	706	3
X10.108	720	707	3
X10.109	721	707	3
X10.110	722	707	3
X10.111	723	707	3
X10.112	739	707	3
X10.113	740	707	3
X10.114	741	707	3
X10.115	742	707	3
X10.116	720	708	3
X10.117	721	708	3
X10.118	722	708	3
X10.119	723	708	3
X10.120	739	708	3
X10.121	740	708	3
X10.122	741	708	3
X10.123	742	708	3
X10.124	720	709	3
X10.125	721	709	3
X10.126	722	709	3
X10.127	723	709	3
X10.128	739	709	3
X10.129	740	709	3
X10.130	741	709	3

X10.131	742	709	3
X10.132	720	710	3
X10.133	721	710	3
X10.134	722	710	3
X10.135	723	710	3
X10.136	739	710	3
X10.137	740	710	3
X10.138	741	710	3
X10.139	742	710	3
X10.140	720	711	3
X10.141	721	711	3
X10.142	722	711	3
X10.143	723	711	3
X10.144	739	711	3
X10.145	740	711	3
X10.146	741	711	3
X10.147	742	711	3
X10.60	156	704	3
X10.61	156	705	3
X10.62	156	706	3
X10.63	156	707	3
X10.64	156	708	3
X10.65	156	709	3
X10.66	156	710	3
X10.67	156	711	3
X10.68	720	161	3
X10.69	721	161	3
X10.70	722	161	3
X10.71	723	161	3
X10.72	739	161	3
X10.73	740	161	3
X10.74	741	161	3
X10.75	742	161	3
X10.76	152	704	3

X10.77	152	705	3
X10.78	152	706	3
X10.79	152	707	3
X10.80	152	708	3
X10.81	152	709	3
X10.82	152	710	3
X10.83	152	711	3
X10.84	720	704	3
X10.85	721	704	3
X10.86	722	704	3
X10.87	723	704	3
X10.88	739	704	3
X10.89	740	704	3
X10.90	741	704	3
X10.91	742	704	3
X10.92	720	705	3
X10.93	721	705	3
X10.94	722	705	3
X10.95	723	705	3
X10.96	739	705	3
X10.97	740	705	3
X10.98	741	705	3
X10.99	742	705	3
X910/12-НС-L0- IFN-альфа (A145D) IgG4	110	112	9
X913/15-НС-L0- IFN-альфа (A145D) IgG4	111	113	9

Таблица 30

SEQ ID NO:	Тип	Описание
1	АК	CD38 человека
2	АК	CD38 яванского макака

3	AK	Константная тяжелая цепь IgG4 человека
4	AK	Константная тяжелая цепь IgG1 человека
5	AK	Константная область каппа человека
6	AK	Константная область лямбда человека
7	AK	IFN-альфа2b
8	AK	Интрон А
9	AK	НС-LO-IFN-альфа (A145D) IgG4
10	AK	НС-LO-IFN-альфа (A145D) IgG1
11	AK	Тяжелая цепь A02.1
12	AK	Легкая цепь A02.1
13	AK	Варибельная тяжелая цепь A02.1
14	AK	Варибельная легкая цепь A02.1
15	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.1VH
16	AK	Зародышевая последовательность IGHV4-61*01
17	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.8VH
18	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.9VH
19	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.10VH
20	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.11VH
21	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.68VH
22	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.69VH
23	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.70VH
24	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.71VH
25	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.72VH
26	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.73VH
27	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.74VH
28	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.75VH
29	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.76VH
30	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.77VH
31	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.78VH
32	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.108VH
33	AK	Варибельная тяжелая цепь X02.110VH
34	AK	Варибельная тяжелая цепь A02.12VH
35	AK	Варибельная тяжелая цепь A02.13VH
36	AK	Варибельная легкая цепь A02.1VL

37	AK	Зародышевая последовательность IGLV5-37*01
38	AK	Вариабельная легкая цепь X02.80VL
39	AK	Вариабельная легкая цепь X02.81VL
40	AK	Вариабельная легкая цепь X02.82VL
41	AK	Вариабельная легкая цепь X02.83VL
42	AK	Вариабельная легкая цепь X02.84VL
43	AK	Вариабельная легкая цепь X02.85VL
44	AK	Вариабельная легкая цепь X02.86VL
45	AK	Вариабельная легкая цепь X02.87VL
46	AK	Вариабельная легкая цепь X02.88VL
47	AK	Вариабельная легкая цепь X02.89VL
48	AK	Вариабельная легкая цепь X02.90VL
49	AK	Вариабельная легкая цепь X02.91VL
50	AK	Вариабельная легкая цепь X02.92VL
51	AK	Вариабельная легкая цепь X02.93VL
52	AK	Вариабельная легкая цепь X02.94VL
53	AK	Вариабельная легкая цепь X02.95VL
54	AK	Вариабельная легкая цепь X02.96VL
55	AK	Вариабельная легкая цепь X02.97VL
56	AK	Вариабельная легкая цепь X02.98VL
57	AK	Вариабельная легкая цепь X02.99VL
58	AK	Вариабельная легкая цепь X02.100VL
59	AK	Вариабельная легкая цепь X02.101VL
60	AK	Вариабельная легкая цепь X02.102VL
61	AK	Вариабельная легкая цепь X02.103VL
62	AK	Вариабельная легкая цепь X02.104VL
63	AK	Вариабельная легкая цепь X02.105VL
64	AK	Вариабельная легкая цепь X02.106VL
65	AK	Вариабельная легкая цепь X02.107VL
66	AK	Вариабельная легкая цепь A02.37VL
67	AK	Вариабельная легкая цепь A02.46VL
68	AK	Вариабельная легкая цепь A02.47VL
69	AK	Вариабельная легкая цепь A02.48VL
70	AK	Вариабельная легкая цепь A02.49VL

71	AK	Вариабельная легкая цепь A02.50VL
72	AK	Вариабельная легкая цепь A02.51VL
73	AK	Вариабельная легкая цепь A02.18VL
74	AK	Вариабельная легкая цепь A02.19VL
75	AK	Вариабельная легкая цепь A02.20VL
76	AK	Вариабельная легкая цепь A02.21VL
77	AK	Вариабельная легкая цепь A02.22VL
78	AK	Вариабельная легкая цепь A02.23VL
79	AK	Вариабельная легкая цепь A02.24VL
80	AK	Вариабельная легкая цепь A02.25VL
81	AK	Вариабельная легкая цепь A02.26VL
82	AK	Вариабельная легкая цепь A02.27VL
83	AK	Вариабельная легкая цепь A02.28VL
84	AK	Вариабельная легкая цепь A02.29VL
85	AK	Вариабельная легкая цепь A02.30VL
86	AK	Вариабельная легкая цепь A02.31VL
87	AK	Вариабельная легкая цепь A02.32VL
88	AK	Вариабельная легкая цепь A02.33VL
89	AK	Вариабельная легкая цепь A02.34VL
90	AK	Вариабельная легкая цепь A02.35VL
91	AK	Вариабельная легкая цепь A02.36VL
92	AK	Вариабельная легкая цепь X02.16VL
93	AK	Вариабельная легкая цепь X02.17VL
94	AK	Вариабельная легкая цепь A02.52VL
95	AK	Вариабельная легкая цепь A02.53VL
96	AK	Вариабельная легкая цепь A02.54VL
97	AK	Вариабельная легкая цепь A02.55VL
98	AK	Вариабельная легкая цепь A02.56VL
99	AK	Вариабельная легкая цепь A02.57VL
100	AK	Вариабельная легкая цепь A02.58VL
101	AK	Вариабельная легкая цепь A02.59VL
102	AK	Вариабельная легкая цепь A02.60VL
103	AK	Вариабельная легкая цепь A02.61VL
104	AK	Вариабельная легкая цепь A02.62VL

105	АК	Вариабельная легкая цепь А02.63VL
106	АК	Вариабельная легкая цепь А02.64VL
107	АК	Вариабельная легкая цепь А02.65VL
108	АК	Вариабельная легкая цепь А02.66VL
109	АК	Вариабельная легкая цепь А02.67VL
110	АК	Вариабельная тяжелая цепь 910VH
111	АК	Вариабельная тяжелая цепь 915 VH
112	АК	Вариабельная легкая цепь 912VL
113	АК	Вариабельная легкая цепь 913VL
114	АК	Химерное 5D1-E2-VH
115	АК	5d1_1-f*01VH
116	АК	5d1_1-f*01VH94R
117	АК	5d1_1-18*01VH
118	АК	5d1_1-18*01VH71A
119	АК	5d1_1-24*01VH
120	АК	5d1_1-24*01VH71A
121	АК	5d1_1-24*01VH29F
122	АК	5d1_1-24*01VH94R
123	АК	5d1_1-45*01VH
124	АК	5d1_1-45*01VH71A
125	АК	Химерное 5D1VK
126	АК	5d1_1-5*01VK
127	АК	5d1_1-9*01VK
128	АК	5d1_1-12*01VK
129	АК	5d1_1D-13*01VK
130	АК	5d1_1D-16*01VK
131	АК	5d1_3-15*01VK
132	АК	Химерное 5E8
133	АК	5E8-1-P01VH
134	АК	5E8-1-P01VH30I
135	АК	5E8-1-P01VH94R
136	АК	5E8-1-18*01VH
137	АК	5E8-1-18*01VH71A
138	АК	5E8-1-24*01VH

139	AK	5E8-1-24*01VH71A
140	AK	5E8-1-24*01VH94R
141	AK	5E8-1-45*01VH
142	AK	5E8-1-45*01VH71A
143	AK	Химерное 5E8VK
144	AK	5E8-2-24*01VK
145	AK	5E8-2D-28*01VK
146	AK	5E8-2D-29*01VK
147	AK	5E8-2-30*01VK
148	AK	10A2 химерное VH
149	AK	10A2_1-24*01VH
150	AK	10A2_1-24*01VH71A
151	AK	10A2_1-24*01VH94R
152	AK	10A2_1-24*0171A94R
153	AK	10A2_1-45*01VH
154	AK	10A2_1-45*01VH71A
155	AK	10A2_1-f*01VH
156	AK	10A2_1-f*01VH94R
157	AK	10A2 химерное VK
158	AK	10A2_1-9*01Vk
159	AK	10A2_1-12*01Vk
160	AK	10A2_1D-13*01Vk
161	AK	10A2_1-33*01Vk
162	AK	10A2_3-11*02Vk
163	AK	10A2_3-15*01Vk
164	AK	10A2_6-21*01Vk
165	AK	10A2VH + A40E
166	AK	10A2VH + A40G
167	AK	10A2VH + A40H
168	AK	10A2VH + A40Q
169	AK	10A2VH + A40S
170	AK	10A2VH + A40V
171	AK	10A2VH + N35E
172	AK	10A2VH + N35P

173	AK	10A2VH + N35Q
174	AK	10A2VH + N35S
175	AK	10A2VH + R94E
176	AK	10A2VH + R94G
177	AK	10A2VH + R94P
178	AK	10A2VH + R94T
179	AK	10A2VH + K96G
180	AK	10A2VH + K96T
181	AK	10A2VK + K24E
182	AK	10A2VK + K24G
183	AK	10A2VK + K24P
184	AK	10A2VK + K24Q
185	AK	10A2VK + R54D
186	AK	10A2VK + I48D
187	AK	10A2VK + Y49E
188	AK	10A2VK + M89A
189	AK	10A2VK + M89E
190	AK	10A2VK + M89H
191	AK	10A2VK + M89K
192	AK	10A2VK + M89P
193	AK	10A2VK + M89Q.
194	AK	10A2VK + M89S
195	AK	10A2VK + M89V
196	AK	10A2VK + Q90D
197	AK	10A2VH (AQ) + N98Q
198	AK	10A2VK (AV) + N53Q
199	AK	X02.1VH FWR1
200	AK	X02.1VH CDR1
201	AK	X02.1VH FWR2
202	AK	X02.1VH CDR2
203	AK	X02.1VH FWR3
204	AK	X02.1VH CDR3
205	AK	X02.1VH FWR4
206	AK	IGHV4-61*01 FWR1

207	AK	IGHV4-61*01 CDR1
208	AK	IGHV4-61*01 FWR2
209	AK	IGHV4-61*01 FWR3
210	AK	X02.8VH FWR3
211	AK	X02.9VH FWR2
212	AK	X02.10VH FWR3
213	AK	X02.11VH FWR3
214	AK	X02.68VH FWR1
215	AK	X02.69VH FWR1
216	AK	X02.70VH FWR3
217	AK	X02.71VH FWR1
218	AK	X02.72VH FWR3
219	AK	X02.73VH FWR1
220	AK	X02.74VH CDR3
221	AK	X02.75VH FWR3
222	AK	X02.76VH CDR3
223	AK	X02.77VH CDR3
224	AK	X02.78VH CDR1
225	AK	X02.108 FWR3
226	AK	X02.110VH FWR3
227	AK	A02.12VH FWR3
228	AK	A02.12VH CDR3
229	AK	A02.13VH FWR2
230	AK	A02.13VH FWR3
231	AK	A02.13VH CDR3
232	AK	A02.1VL FWR1
233	AK	A02.1VL CDR1
234	AK	A02.1VL FWR2
235	AK	A02.1VL CDR2
236	AK	A02.1VL FWR3
237	AK	A02.1VL CDR3
238	AK	A02.1VL FWR4
239	AK	IGLV5-37*01 FWR1
240	AK	IGLV5-37*01 CDR1

241	AK	IGLV5-37*01 CDR2
242	AK	IGLV5-37*01 FWR3
243	AK	IGLV5-37*01 CDR3
244	AK	X02.80VLCDR3
245	AK	X02.81VL FWR3
246	AK	X02.82VL FWR2
247	AK	X02.83VL FWR1
248	AK	X02.84VL FWR2
249	AK	X02.84VLCDR2
250	AK	X02.86VLCDR1
251	AK	X02.87VLCDR3
252	AK	X02.88VLCDR1
253	AK	X02.89VLCDR2
254	AK	X02.90VLCDR3
255	AK	X02.91VLCDR1
256	AK	X02.92VLCDR3
257	AK	X02.93VLCDR3
258	AK	X02.94VLCDR3
259	AK	X02.95VL FWR1
260	AK	X02.96VL FWR1
261	AK	X02.97VL FWR1
262	AK	X02.98VLCDR1
263	AK	X02.99VLCDR1
264	AK	X02.100VL CDR2
265	AK	X02.101VL FWR3
266	AK	X02.102VL FWR3
267	AK	X02.103VL FWR3
268	AK	X02.104VL CDR3
269	AK	X02.105VL CDR3
270	AK	X02.106VL CDR3
271	AK	X02.107VL FWR3
272	AK	A02.37VL FWR3
273	AK	A02.37VLCDR3
274	AK	A02.46VL FWR3

275	AK	A02.46VLCDR3
276	AK	A02.47VL FWR3
277	AK	A02.48VL FWR3
278	AK	A02.49VL FWR3
279	AK	A02.50VL FWR3
280	AK	A02.51VL FWR3
281	AK	A02.18VL FWR2
282	AK	A02.18VL FWR3
283	AK	A02.19VL FWR2
284	AK	A02.19VL FWR3
285	AK	A02.20VL FWR2
286	AK	A02.20VL FWR3
287	AK	A02.21VL FWR2
288	AK	A02.21VL FWR3
289	AK	A02.22VL FWR2
290	AK	A02.22VL FWR3
291	AK	A02.23VL FWR2
292	AK	A02.23VL FWR3
293	AK	A02.24VL FWR2
294	AK	A02.24VL FWR3
295	AK	A02.25VL FWR2
296	AK	A02.25VL FWR3
297	AK	A02.26VL FWR2
298	AK	A02.26VL FWR3
299	AK	A02.27VLCDR2
300	AK	A02.27VL FWR3
301	AK	A02.28VLCDR2
302	AK	A02.28VL FWR3
303	AK	A02.29VLCDR2
304	AK	A02.29VL FWR3
305	AK	A02.30VLCDR2
306	AK	A02.30VL FWR3
307	AK	A02.31VLCDR2
308	AK	A02.31VL FWR3

309	AK	A02.32VLCDR2
310	AK	A02.32VL FWR3
311	AK	A02.33VLCDR2
312	AK	A02.33VL FWR3
313	AK	A02.34VLCDR2
314	AK	A02.34VL FWR3
315	AK	A02.35VLCDR2
316	AK	A02.35VL FWR3
317	AK	A02.36VLCDR2
318	AK	A02.36VL FWR3
319	AK	X02.16VLCDR1
320	AK	X02.16VL FWR3
321	AK	X02.16VLCDR3
322	AK	X02.17VLCDR1
323	AK	X02.17VL FWR3
324	AK	X02.17VLCDR3
325	AK	A02.52VLCDR1
326	AK	A02.52VLCDR2
327	AK	A02.52VL FWR3
328	AK	A02.52VLCDR3
329	AK	A02.53VLCDR1
330	AK	A02.53VLCDR2
331	AK	A02.53VL FWR3
332	AK	A02.53VLCDR3
333	AK	A02.54VLCDR1
334	AK	A02.54VLCDR2
335	AK	A02.54VL FWR3
336	AK	A02.54VLCDR3
337	AK	A02.55VLCDR1
338	AK	A02.55VLCDR2
339	AK	A02.55VL FWR3
340	AK	A02.55VLCDR3
341	AK	A02.56VLCDR1
342	AK	A02.56VLCDR2

343	AK	A02.56VL FWR3
344	AK	A02.56VLCDR3
345	AK	A02.57VLCDR1
346	AK	A02.57VLCDR2
347	AK	A02.57VL FWR3
348	AK	A02.57VLCDR3
349	AK	A02.58VLCDR1
350	AK	A02.58VLCDR2
351	AK	A02.58VL FWR3
352	AK	A02.58VLCDR3
353	AK	A02.59VLCDR1
354	AK	A02.59VLCDR2
355	AK	A02.59VL FWR3
356	AK	A02.59VLCDR3
357	AK	A02.60VLCDR1
358	AK	A02.60VLCDR2
359	AK	A02.60VL FWR3
360	AK	A02.60VLCDR3
361	AK	A02.61VLCDR1
362	AK	A02.61VLCDR2
363	AK	A02.61VL FWR3
364	AK	A02.61VLCDR3
365	AK	A02.62VLCDR1
366	AK	A02.62VLCDR2
367	AK	A02.62VL FWR3
368	AK	A02.62VLCDR3
369	AK	A02.63VLCDR1
370	AK	A02.63VLCDR2
371	AK	A02.63VL FWR3
372	AK	A02.63VLCDR3
373	AK	A02.64VLCDR1
374	AK	A02.64VLCDR2
375	AK	A02.64VL FWR3
376	AK	A02.64VLCDR3

377	AK	A02.65VLCDR1
378	AK	A02.65VLCDR2
379	AK	A02.65VL FWR3
380	AK	A02.65VLCDR3
381	AK	A02.66VLCDR1
382	AK	A02.66VLCDR2
383	AK	A02.66VL FWR3
384	AK	A02.66VLCDR3
385	AK	A02.67VLCDR1
386	AK	A02.67VLCDR2
387	AK	A02.67VL FWR3
388	AK	A02.67VLCDR3
389	AK	5D1.1VH FWR1
390	AK	5D1.1VH CDR1
391	AK	5D1.1VH FWR2
392	AK	5D1.1VH CDR2
393	AK	5D1.1VH FWR3
394	AK	5D1.1VH CDR3
395	AK	5D1.1VH FWR4
396	AK	5D1.2VH FWR1
397	AK	5D1.2VH FWR2
398	AK	5D1.2VH CDR2
399	AK	5D1.2VH FWR3
400	AK	5D1.3VH FWR1
401	AK	5D1.3VH FWR2
402	AK	5D1.3VH CDR2
403	AK	5D1.3VH FWR3
404	AK	5D1.4VH FWR1
405	AK	5D1.4VH FWR2
406	AK	5D1.4VH CDR2
407	AK	5D1.4VH FWR3
408	AK	5D1.5VH FWR1
409	AK	5D1.5VH FWR2
410	AK	5D1.5VH CDR2

411	AK	5D1.5VH FWR3
412	AK	5D1.6VH FWR1
413	AK	5D1.6VH FWR2
414	AK	5D1.6VH CDR2
415	AK	5D1.6VH FWR3
416	AK	5D1.7VH FWR1
417	AK	5D1.7VH FWR2
418	AK	5D1.7VH CDR2
419	AK	5D1.7VH FWR3
420	AK	5D1.8VH FWR1
421	AK	5D1.8VH FWR2
422	AK	5D1.8VH CDR2
423	AK	5D1.8VH FWR3
424	AK	5D1.9VH FWR1
425	AK	5D1.9VH FWR2
426	AK	5D1.9VH CDR2
427	AK	5D1.9VH FWR3
428	AK	5D1.10VH FWR1
429	AK	5D1.10VH FWR2
430	AK	5D1.10VH CDR2
431	AK	5D1.10VH FWR3
432	AK	5D1.11VH FWR1
433	AK	5D1.11VH FWR2
434	AK	5D1.11VH CDR2
435	AK	5D1.11VH FWR3
436	AK	5D1.1VL FWR1
437	AK	5D1.1VL CDR1
438	AK	5D1.1VL FWR2
439	AK	5D1.1VL CDR2
440	AK	5D1.1VL FWR3
441	AK	5D1.1VL CDR3
442	AK	5D1.1VL FWR4
443	AK	5D1.2VL FWR1
444	AK	5D1.2VL FWR2

445	AK	5D1.2VL FWR3
446	AK	5D1.2VL FWR4
447	AK	5D1.3VL FWR1
448	AK	5D1.3VL FWR2
449	AK	5D1.3VL FWR3
450	AK	5D1.3VL FWR4
451	AK	5D1.4VL FWR1
452	AK	5D1.4VL FWR2
453	AK	5D1.4VL FWR3
454	AK	5D1.4VL FWR4
455	AK	5D1.5VL FWR1
456	AK	5D1.5VL FWR2
457	AK	5D1.5VL FWR3
458	AK	5D1.5VL FWR4
459	AK	5D1.6VL FWR1
460	AK	5D1.6VL FWR2
461	AK	5D1.6VL FWR3
462	AK	5D1.6VL FWR4
463	AK	5D1.7VL FWR1
464	AK	5D1.7VL FWR2
465	AK	5D1.7VL FWR3
466	AK	5E8.1VH FWR1
467	AK	5E8.1VH CDR2
468	AK	5E8.1VH FWR3
469	AK	5E8.1VH CDR3
470	AK	5E8.2VH FWR1
471	AK	5E8.2VH CDR2
472	AK	5E8.3VH FWR1
473	AK	5E8.3VH CDR2
474	AK	5E8.4VH FWR1
475	AK	5E8.4VH CDR2
476	AK	5E8.5VH FWR1
477	AK	5E8.5VH CDR2
478	AK	5E8.6VH FWR1

479	AK	5E8.6VH CDR2
480	AK	5E8.7VH FWR1
481	AK	5E8.7VH CDR2
482	AK	5E8.8VH FWR1
483	AK	5E8.8VH CDR2
484	AK	5E8.9VH FWR1
485	AK	5E8.9VH CDR2
486	AK	5E8.10VH FWR1
487	AK	5E8.10VH CDR2
488	AK	5E8.11VH FWR1
489	AK	5E8.11VH CDR2
490	AK	5E8.1VL FWR1
491	AK	5E8.1VL CDR1
492	AK	5E8.1VL FWR2
493	AK	5E8.1VL CDR2
494	AK	5E8.1VL FWR3
495	AK	5E8.1VL CDR3
496	AK	5E8.1VL FWR4
497	AK	5E8.2VL FWR1
498	AK	5E8.2VL FWR2
499	AK	5E8.2VL FWR3
500	AK	5E8.2VL FWR4
501	AK	5E8.3VL FWR1
502	AK	5E8.3VL FWR2
503	AK	5E8.3VL FWR3
504	AK	5E8.3VL FWR4
505	AK	5E8.4VL FWR1
506	AK	5E8.4VL FWR2
507	AK	5E8.4VL FWR3
508	AK	5E8.4VL FWR4
509	AK	5E8.5VL FWR1
510	AK	5E8.5VL FWR2
511	AK	5E8.5VL FWR3
512	AK	5E8.5VL FWR4

513	AK	10A2.1VH FWR1
514	AK	10A2.1VH CDR1
515	AK	10A2.1VH FWR2
516	AK	10A2.1VH CDR2
517	AK	10A2.1VH FWR3
518	AK	10A2.1VH CDR3
519	AK	10A2.1VH FWR4
520	AK	10A2.2VH FWR2
521	AK	10A2.3VH FWR2
522	AK	10A2.4VH FWR2
523	AK	10A2.5VH FWR2
524	AK	10A2.6VH FWR2
525	AK	10A2.7VH FWR2
526	AK	10A2.8VH CDR1
527	AK	10A2.9VH CDR1
528	AK	10A2.10VH CDR1
529	AK	10A2.11VH CDR1
530	AK	10A2.12VH FWR3
531	AK	10A2.13VH FWR3
532	AK	10A2.14VH FWR3
533	AK	10A2.15VH FWR3
534	AK	10A2.16VH CDR3
535	AK	10A2.17VH CDR3
536	AK	10A2.18VH CDR3
537	AK	10A2.19VH FWR1
538	AK	10A2.19VH FWR2
539	AK	10A2.19VH CDR2
540	AK	10A2.19VH FWR3
541	AK	10A2.19VH FWR4
542	AK	10A2.20VH FWR1
543	AK	10A2.20VH FWR2
544	AK	10A2.20VH CDR2
545	AK	10A2.20VH FWR3
546	AK	10A2.20VH FWR4

547	AK	10A2.21VH FWR1
548	AK	10A2.21VH FWR2
549	AK	10A2.21VH CDR2
550	AK	10A2.21VH FWR3
551	AK	10A2.21VH FWR4
552	AK	10A2.22VH FWR1
553	AK	10A2.22VH FWR2
554	AK	10A2.22VH CDR2
555	AK	10A2.22VH FWR3
556	AK	10A2.22VH FWR4
557	AK	10A2.23VH FWR1
558	AK	10A2.23VH FWR2
559	AK	10A2.23VH CDR2
560	AK	10A2.23VH FWR3
561	AK	10A2.23VH FWR4
562	AK	10A2.24VH FWR1
563	AK	10A2.24VH FWR2
564	AK	10A2.24VH CDR2
565	AK	10A2.24VH FWR3
566	AK	10A2.24VH FWR4
567	AK	10A2.25VH FWR1
568	AK	10A2.25VH FWR2
569	AK	10A2.25VH CDR2
570	AK	10A2.25VH FWR3
571	AK	10A2.25VH FWR4
572	AK	10A2.26VH FWR1
573	AK	10A2.26VH FWR2
574	AK	10A2.26VH CDR2
575	AK	10A2.26VH FWR3
576	AK	10A2.26VH FWR4
577	AK	10A2.27VH FWR1
578	AK	10A2.27VH FWR2
579	AK	10A2.27VH CDR2
580	AK	10A2.27VH FWR3

581	AK	10A2.27VH FWR4
582	AK	10A2.1VL FWR1
583	AK	10A2.1VLCDR1
584	AK	10A2.1VL FWR2
585	AK	10A2.1VLCDR2
586	AK	10A2.1VL FWR3
587	AK	10A2.1VLCDR3
588	AK	10A2.1VL FWR4
589	AK	10A2.2VL CDR1
590	AK	10A2.3VLCDR1
591	AK	10A2.4VLCDR2
592	AK	10A2.5VL FWR2
593	AK	10A2.6VL FWR2
594	AK	10A2.7VLCDR3
595	AK	10A2.8VLCDR3
596	AK	10A2.9VLCDR3
597	AK	10A2.10VL CDR3
598	AK	10A2.11VL CDR3
599	AK	10A2.12VL CDR3
600	AK	10A2.13VL CDR3
601	AK	10A2.14VL CDR3
602	AK	10A2.15VL CDR3
603	AK	10A2.16VLCDR3
604	AK	10A2.17VL CDR3
605	AK	10A2.18VL CDR2
606	AK	10A2.19VL CDR3
607	AK	10A2.20VL FWR1
608	AK	10A2.20VL CDR1
609	AK	10A2.20VL FWR2
610	AK	10A2.20VL CDR2
611	AK	10A2.20VL FWR3
612	AK	10A2.20VL CDR3
613	AK	10A2.20VL FWR4
614	AK	10A2.21VL FWR1

615	AK	10A2.21VL FWR2
616	AK	10A2.21VL FWR3
617	AK	10A2.21VL FWR4
618	AK	10A2.22VL FWR1
619	AK	10A2.22VL FWR2
620	AK	10A2.22VL FWR3
621	AK	10A2.22VL FWR4
622	AK	10A2.23VL FWR1
623	AK	10A2.23VL FWR2
624	AK	10A2.23VL FWR3
625	AK	10A2.23VL FWR4
626	AK	10A2.24VL FWR1
627	AK	10A2.24VL FWR2
628	AK	10A2.24VL FWR3
629	AK	10A2.24VL FWR4
630	AK	10A2.25VL FWR1
631	AK	10A2.25VL FWR2
632	AK	10A2.25VL FWR3
633	AK	10A2.25VL FWR4
634	AK	10A2.26VL FWR1
635	AK	10A2.26VL FWR2
636	AK	10A2.26VL FWR3
637	AK	10A2.26VL FWR4
638	AK	10A2.27VL FWR1
639	AK	10A2.27 VLFWR2
640	AK	10A2.27VL FWR3
641	AK	10A2.27VL FWR4
642	AK	Gly4Ser1
643	AK	Gly4Ser1 × 2
644	AK	Gly4Ser1 × 3
645	AK	Gly4Ser1 × 4
646	AK	Gly4Ser1 × 5
647	AK	IFN-альфа2b A145D
648	AK	Укороченный IFN-альфа2b

649	АК	Укороченный IFN-альфа2b A145D
650	АК	IFN-альфа2b A145G
651	АК	Укороченный IFN-альфа2b A145G
652	АК	IgG4 IFN-альфа2b A145D
653	АК	IgG4 IFN-альфа2b A145G
654	АК	IgG4 S228P IFN-альфа2b A145G
655	АК	IgG1 IFN-альфа2b A145G
656	АК	IgG1 YTE IFN-альфа2b A145D
657	АК	IgG1 YTE IFN-альфа2b A145G
658	АК	IgG4 YTE IFN-альфа2b A145D
659	АК	Консенсусная переменная область тяжелой цепи A02
660	АК	X02.114VL
661	АК	X02.115VL
662	АК	X02.116VL
663	АК	X02.117VL
664	АК	Консенсусная переменная область легкой цепи A02
665	АК	Консенсусная переменная область тяжелой цепи A10
666	АК	Консенсусная переменная область легкой цепи A10
667	ДНК	A02.12VH
668	ДНК	X02.9VH
669	ДНК	X02.107VL
670	ДНК	A02.47VL
671	ДНК	A02.31VL
672	ДНК	A02.33VL
673	ДНК	X02.16VL
674	ДНК	X02.17VL
675	ДНК	X02.114VL
676	ДНК	X02.115VL
677	ДНК	X02.116VL
678	ДНК	X02.117VL
679	ДНК	10A2VH + A40E
680	ДНК	10A2VH + A40G
681	ДНК	10A2VH + A40H
682	ДНК	10A2VH + A40Q.

683	ДНК	10A2VH + K96G
684	ДНК	10A2VH + K96T
685	ДНК	10A2_1-f*01VH94R
686	ДНК	10A2VH (AQ) + N98Q
687	ДНК	10A2-1-24*0171A94R
688	ДНК	10A2_1-33*01Vk
689	ДНК	10A2VK + K24G
690	ДНК	10A2VK + K24Q
691	ДНК	10A2VK + R54D
692	ДНК	10A2VK + M89A
693	ДНК	10A2VK (AV) + N53Q.
694	АК	IgG4 YTE IFN-альфа2b A145G
695	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь 910VH
696	АК	10A2VK + K24G CDR1
697	АК	910VH CDR1
698	АК	910VH CDR2
699	АК	910VH CDR3
700	АК	Вариабельная легкая цепь X02.118
701	АК	Вариабельная легкая цепь X02.119
702	ДНК	Вариабельная легкая цепь X02.118
703	ДНК	Вариабельная легкая цепь X02.119
704	АК	Вариабельная легкая цепь X10.60
705	АК	Вариабельная легкая цепь X10.61
706	АК	Вариабельная легкая цепь X10.62
707	АК	Вариабельная легкая цепь X10.63
708	АК	Вариабельная легкая цепь X10.64
709	АК	Вариабельная легкая цепь X10.65
710	АК	Вариабельная легкая цепь X10.66
711	АК	Вариабельная легкая цепь X10.67
712	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.60
713	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.61
714	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.62
715	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.63
716	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.64

717	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.65
718	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.66
719	ДНК	Вариабельная легкая цепь X10.67
720	АК	Вариабельная тяжелая цепь X10.68
721	АК	Вариабельная тяжелая цепь X10.69
722	АК	Вариабельная тяжелая цепь X10.70
723	АА	Вариабельная тяжелая цепь X10.71
724	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.68
725	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.69
726	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.70
111	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.71
728	АА	Вариабельная тяжелая цепь X02.120
729	АА	Вариабельная тяжелая цепь X02.121
730	АА	Вариабельная тяжелая цепь X02.122
731	АА	Вариабельная тяжелая цепь X02.123
732	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X02.120
733	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X02.121
734	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X02.122
735	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X02.123
736	АА	Консенсусная вариабельная область тяжелой цепи 910
737	АА	X02.122VH CDR2
738	АА	X02.123VH CDR2
739	АА	Вариабельная тяжелая цепь X10.72
740	АА	Вариабельная тяжелая цепь X10.73
741	АА	Вариабельная тяжелая цепь X10.74
742	АА	Вариабельная тяжелая цепь X10.75
743	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.72
744	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.73
745	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.74
746	ДНК	Вариабельная тяжелая цепь X10.75
747	АА	X10.64VLCDR2
748	АА	910 VH FRW1
749	АА	910 VH FRW2
750	АА	X10.120VH FRW2

751	AA	910 VH FRW3
752	AA	X10.121VH FRW3
753	AA	910VH FRW4

[0206] Описание не является ограниченным вариантами осуществления, описанными и проиллюстрированными выше, но позволяет варианты и модификацию в объеме прилагаемой формулы изобретения.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Анти-CD38 антитело для ингибирования пролиферации клеток, которые экспрессируют CD38, где антитело содержит:

CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 514, CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 516, CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 518, CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 608, CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 591, и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 612.

2. Анти-CD38 антитело по п.1, содержащее переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 156, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 185, где любые аминокислотные изменения в переменной области тяжелой цепи или переменной области легкой цепи находятся за пределами CDR.

3. Анти-CD38 антитело по п.1 или 2, содержащее переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185.

4. Анти-CD38 антитело по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что анти-CD38 антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека.

5. Анти-CD38 антитело по п.1, отличающееся тем, что анти-CD38 антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека.

6. Анти-CD38 антитело по п. 5, где константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит пролин в положении 228 в соответствии с системой нумерации EU.

7. Анти-CD38 антитело по любому из пп. 5 или 6, где константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит тирозин в положении 252, треонин в положении 254 и глутаминовую кислоту в

положении 256 константной области в соответствии с системой нумерации EU.

8. Анти-CD38 антитело по любому из пп. 1 или 4-7, отличающееся тем, что анти-CD38 антитело является гуманизированным антителом.

9. Анти-CD38 антитело по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что анти-CD38 антитело слито с ослабленным интерфероном альфа-2b.

10. Анти-CD38 антитело по п. 9, где ослабленный интерферон альфа-2b содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 647, SEQ ID NO: 649, SEQ ID NO: 650 или SEQ ID NO: 651.

11. Анти-CD38 антитело по п. 10, где ослабленный интерферон альфа-2b содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 649.

12. Анти-CD38 антитело по любому из предшествующих пунктов, где клетка представляет собой клетку опухоли.

13. Анти-CD38 антитело по п. 12, где клетка опухоли представляет собой клетку В-клеточной лимфомы, клетку множественной миеломы, клетку неходжскинской лимфомы, клетку хронического миелогенного лейкоза, клетку хронического лимфоцитарного лейкоза или клетку острого миелогенного лейкоза.

14. Применение анти-CD38 антитела для ингибирования пролиферации клеток, которые экспрессируют CD38, где антитело содержит:

CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 514, CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 516, CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 518, CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 608, CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 591, и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 612.

15. Применение по п. 14, где анти-CD38 антитело содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 156, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность,

которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 185, где любые аминокислотные изменения в вариабельной области тяжелой цепи или вариабельной области легкой цепи находятся за пределами CDR.

16. Применение по п. 14 или 15, где анти-CD38 антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185.

17. Применение по любому из пп. 14-16, где анти-CD38 антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека.

18. Применение по любому из пп. 14-16, где анти-CD38 антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека.

19. Применение по п. 18, где константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит пролин в положении 228 в соответствии с системой нумерации EU.

20. Применение по любому из пп. 18 или 19, где константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит тирозин в положении 252, треонин в положении 254 и глутаминовую кислоту в положении 256 константной области в соответствии с системой нумерации EU.

21. Применение по любому из пп. 14 или 17-20, где анти-CD38 антитело является гуманизированным антителом.

22. Применение по любому из пп. 14-21, где анти-CD38 антитело слито с ослабленным интерфероном альфа-2b.

23. Применение по п. 22, где ослабленный интерферон альфа-2b содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 647, SEQ ID NO: 649, SEQ ID NO: 650 или SEQ ID NO: 651.

24. Применение по п. 23, где ослабленный интерферон альфа-2b содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 649.

25. Применение по любому из пп. 14-24, где клетка представляет собой клетку опухоли.

26. Применение по п. 25, где клетка опухоли представляет собой клетку В-клеточной лимфомы, клетку множественной миеломы, клетку неходжскинской лимфомы, клетку хронического миелогенного лейкоза, клетку хронического лимфоцитарного лейкоза или клетку острого миелогенного лейкоза.

27. Способ ингибирования пролиферации клеток, которые экспрессируют CD38, включающий:

приведение клетки в контакт с анти-CD38 антителом, содержащим CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 514, CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 516, CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 518, CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 608, CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 591, и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 612.

28. Способ по п. 27, где анти-CD38 антитело содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 156, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 185, где любые аминокислотные изменения в переменной области тяжелой цепи или переменной области легкой цепи находятся за пределами CDR.

29. Способ по п. 27 или 28, где анти-CD38 антитело содержит переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 185.

30. Способ по любому из пп. 27-29, где анти-CD38 антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 человека.

31. Способ по любому из пп. 27-29, где анти-CD38 антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4 человека.

32. Способ по п. 31, где константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит пролин в положении 228 в соответствии с системой нумерации EU.

33. Способ по любому из пп. 31 или 32, где константная область тяжелой цепи IgG4 человека содержит тирозин в положении 252, треонин в положении 254 и глутаминовую кислоту в положении 256 константной области в соответствии с системой нумерации EU.

34. Способ по любому из пп. 27 или 30-33, где анти-CD38 антитело является гуманизированным антителом.

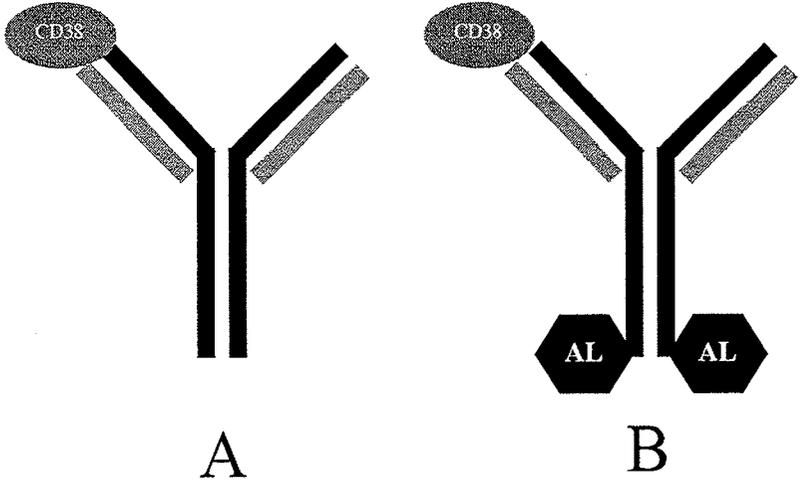
35. Способ по любому из пп. 27-34, где анти-CD38 антитело слито с ослабленным интерфероном альфа-2b.

36. Способ по п. 35, где ослабленный интерферон альфа-2b содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 647, SEQ ID NO: 649, SEQ ID NO: 650 или SEQ ID NO: 651.

37. Способ по п. 36, где ослабленный интерферон альфа-2b содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 649.

38. Способ по любому из пп. 27-37, где клетка представляет собой клетку опухоли.

39. Способ по п. 38, где клетка опухоли представляет собой клетку В-клеточной лимфомы, клетку множественной миеломы, клетку неходжскинской лимфомы, клетку хронического миелогенного лейкоза, клетку хронического лимфоцитарного лейкоза или клетку острого миелогенного лейкоза.



ФИГ. 1

ФИГ. 2А

SEQ ID NO: 13	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS <u>SSSSYYWSWIRQH</u> PGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKS
SEQ ID NO: 16	.V.....V..G.....P.....
SEQ ID NO: 17
SEQ ID NO: 18P.....
SEQ ID NO: 19
SEQ ID NO: 20
SEQ ID NO: 21K.....
SEQ ID NO: 22	.V.....
SEQ ID NO: 23
SEQ ID NO: 24V.....
SEQ ID NO: 25
SEQ ID NO: 26K.....
SEQ ID NO: 27
SEQ ID NO: 28
SEQ ID NO: 29
SEQ ID NO: 30
SEQ ID NO: 31G.....
SEQ ID NO: 32
SEQ ID NO: 33
SEQ ID NO: 34
SEQ ID NO: 35P.....

ФИГ. 2В

SEQ ID NO: 13	RVTISVDTLKNQISLRLTSVTAADTAVYYCAR <u>VGGAGGW</u> PMDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 16S...F..K.S.....
SEQ ID NO: 17S.....
SEQ ID NO: 18
SEQ ID NO: 19S.....
SEQ ID NO: 20S...F..K.S.....
SEQ ID NO: 21
SEQ ID NO: 22
SEQ ID NO: 23R.....
SEQ ID NO: 24
SEQ ID NO: 25R.....
SEQ ID NO: 26
SEQ ID NO: 27LE.....
SEQ ID NO: 28K.....
SEQ ID NO: 29L.....
SEQ ID NO: 30E.....
SEQ ID NO: 31
SEQ ID NO: 32F.....
SEQ ID NO: 33K.....
SEQ ID NO: 34S...F..K.S.....L.....
SEQ ID NO: 35S...F..K.S.....L.....

ФИГ. 3А

SEQ ID NO: 14 QAVLTQPASLSASPGESARLTCTLPSDINVRYYNIYWYQQKPGSPPRYLLYYSDSHKGQGS
SEQ ID NO: 37 .P.....P.S.....GS.....D.....
SEQ ID NO: 38
SEQ ID NO: 39
SEQ ID NO: 40R.....
SEQ ID NO: 41A.....
SEQ ID NO: 42R.R.....
SEQ ID NO: 43
SEQ ID NO: 44G.....
SEQ ID NO: 45
SEQ ID NO: 46R.....
SEQ ID NO: 47R.....
SEQ ID NO: 48
SEQ ID NO: 49R.....
SEQ ID NO: 50
SEQ ID NO: 51
SEQ ID NO: 52
SEQ ID NO: 53 .P.....
SEQ ID NO: 54P.....
SEQ ID NO: 55S.....
SEQ ID NO: 56G.....
SEQ ID NO: 57S.....
SEQ ID NO: 58D.....
SEQ ID NO: 59
SEQ ID NO: 60
SEQ ID NO: 61
SEQ ID NO: 62
SEQ ID NO: 63
SEQ ID NO: 64
SEQ ID NO: 65

ФИГ. 3В

SEQ ID NO: 14	GVPSRFSGSKDVSTNSGILLISGLQSEDEADYYCMTWSSNGSGVFGGGTQLTVLG
SEQ ID NO: 37A.A.T.....I.P.A.....
SEQ ID NO: 38Q.....
SEQ ID NO: 39A.....
SEQ ID NO: 40
SEQ ID NO: 41
SEQ ID NO: 42
SEQ ID NO: 43--.....
SEQ ID NO: 44
SEQ ID NO: 45A.....
SEQ ID NO: 46
SEQ ID NO: 47
SEQ ID NO: 48T.....
SEQ ID NO: 49
SEQ ID NO: 50P.....
SEQ ID NO: 51I.....
SEQ ID NO: 52L.....
SEQ ID NO: 53
SEQ ID NO: 54
SEQ ID NO: 55
SEQ ID NO: 56
SEQ ID NO: 57
SEQ ID NO: 58
SEQ ID NO: 59A.....
SEQ ID NO: 60A.....
SEQ ID NO: 61T.....
SEQ ID NO: 62I.....
SEQ ID NO: 63P.....
SEQ ID NO: 64A.....
SEQ ID NO: 65I.T.....

ФИГ. 4А

SEQ ID NO: 14	QAVLTQPASLSASPGESARLTCTLP <u>SDINVRYYNIYWYQQKPGSPPRYLLYYYSDSHKGQGS</u>
SEQ ID NO: 66
SEQ ID NO: 67
SEQ ID NO: 68
SEQ ID NO: 69
SEQ ID NO: 70
SEQ ID NO: 71
SEQ ID NO: 72
SEQ ID NO: 73E.....
SEQ ID NO: 74G.....
SEQ ID NO: 75N.....
SEQ ID NO: 76P.....
SEQ ID NO: 77S.....
SEQ ID NO: 78E.....
SEQ ID NO: 79P.....
SEQ ID NO: 80E.....
SEQ ID NO: 81Q.....
SEQ ID NO: 82P.....
SEQ ID NO: 83N.....
SEQ ID NO: 84T.....
SEQ ID NO: 85D.....
SEQ ID NO: 86E.....
SEQ ID NO: 87H.....
SEQ ID NO: 88Q.....
SEQ ID NO: 89N.....
SEQ ID NO: 90P.....
SEQ ID NO: 91D.....
SEQ ID NO: 92GS.....
SEQ ID NO: 93GS.....
SEQ ID NO: 94GS.....Q.....
SEQ ID NO: 95S.....Q.....

ФИГ. 4В

SEQ ID NO: 96GS.....	Q.....
SEQ ID NO: 97S.....	Q.....
SEQ ID NO: 98GS.....	E.....
SEQ ID NO: 99S.....	E.....
SEQ ID NO: 100GS.....	E.....
SEQ ID NO: 101S.....	E.....
SEQ ID NO: 102GS.....	Q.....
SEQ ID NO: 103S.....	Q.....
SEQ ID NO: 104GS.....	Q.....
SEQ ID NO: 105S.....	Q.....
SEQ ID NO: 106GS.....	E.....
SEQ ID NO: 107S.....	E.....
SEQ ID NO: 108GS.....	E.....
SEQ ID NO: 109S.....	E.....

ФИГ. 4С

SEQ ID NO: 14	GVPSRFSGSKDVSTNSGILLISGLQSEDEADYYCMTWSSNGSGVFGGGTQLTVLG
SEQ ID NO: 66I.T...L.....
SEQ ID NO: 67Q.....I.T.....
SEQ ID NO: 68T.....I.T.....
SEQ ID NO: 69G.....I.T.....
SEQ ID NO: 70H.....I.T.....
SEQ ID NO: 71K.....I.T.....
SEQ ID NO: 72P.....I.T.....
SEQ ID NO: 73I.T.....
SEQ ID NO: 74I.T.....
SEQ ID NO: 75I.T.....
SEQ ID NO: 76I.T.....
SEQ ID NO: 77I.T.....
SEQ ID NO: 78I.T.....
SEQ ID NO: 79I.T.....
SEQ ID NO: 80I.T.....
SEQ ID NO: 81I.T.....
SEQ ID NO: 82I.T.....
SEQ ID NO: 83I.T.....
SEQ ID NO: 84I.T.....
SEQ ID NO: 85I.T.....
SEQ ID NO: 86I.T.....
SEQ ID NO: 87I.T.....
SEQ ID NO: 88I.T.....
SEQ ID NO: 89I.T.....
SEQ ID NO: 90I.T.....
SEQ ID NO: 91I.T.....
SEQ ID NO: 92I.T...L...Q.....
SEQ ID NO: 93I.T...L...E.....
SEQ ID NO: 94I.T...L...E.....
SEQ ID NO: 95I.T...L...E.....

ФИГ. 4D

SEQ ID NO: 96I.T...L....Q.....
SEQ ID NO: 97I.T...L....Q.....
SEQ ID NO: 98I.T...L....E.....
SEQ ID NO: 99I.T...L....E.....
SEQ ID NO: 100I.T...L....Q.....
SEQ ID NO: 101I.T...L....Q.....
SEQ ID NO: 102Q.....I.T...L....E.....
SEQ ID NO: 103Q.....I.T...L....E.....
SEQ ID NO: 104Q.....I.T...L....Q.....
SEQ ID NO: 105Q.....I.T...L....Q.....
SEQ ID NO: 106Q.....I.T...L....E.....
SEQ ID NO: 107Q.....I.T...L....E.....
SEQ ID NO: 108Q.....I.T...L....Q.....
SEQ ID NO: 109Q.....I.T...L....Q.....

		CDR1		CDR2
SEQ ID NO: 34	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVS	<u>GGSISSSSYYWS</u>	WIRQHHPGKGLEWIG	<u>YIYYSGSTNYNPSLKS</u>
SEQ ID NO: 18P.....
SEQ ID NO: 659	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVS	GGSISSSSYYWS	WIRQHHPGKGLEWIG	YIYYSGSTNYNPSLKS

P

		CDR3	
SEQ ID NO: 34	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	<u>VGGAGGWPLDV</u>	WGQGT TTVTVSS
SEQ ID NO: 18L...I..R.T.....M..
SEQ ID NO: 659	RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR	VGGAGGWPLDV	WGQGT TTVTVSS

L I R T

M

ФИГ. 5

		CDR1		CDR2
SEQ ID NO: 65	QAVLTQPASLSASPGESARLTC	<u>TLPSDINVRYYNIY</u>	WYQQKPGSPPRYLLY	<u>YYSDSHKGQGS</u>
SEQ ID NO: 68
SEQ ID NO: 86E.....
SEQ ID NO: 88Q.....
SEQ ID NO: 92GS.....
SEQ ID NO: 93GS.....
SEQ ID NO: 660GS.....E.....
SEQ ID NO: 661GS.....E.....
SEQ ID NO: 662GS.....Q.....
SEQ ID NO: 663GS.....Q.....
SEQ ID NO: 700GS.....
SEQ ID NO: 701GS.....
SEQ ID NO: 664	QAVLTQPASLSASPGESARLTC	TLPSDINVRYYNIY GS	WYQQKPGSPPRYLLY	YYSDSHKGQGS Q E

		CDR3	
SEQ ID NO: 65	GVPSRFGSKDVTNSGILLISGLQSEDIATYYC	<u>MTWSSNGSGV</u>	FGGGTQLTVLG
SEQ ID NO: 68T.....
SEQ ID NO: 86
SEQ ID NO: 88
SEQ ID NO: 92	L...Q...
SEQ ID NO: 93	L...E...
SEQ ID NO: 660T.....	L...Q...
SEQ ID NO: 661T.....	L...E...
SEQ ID NO: 662T.....	L...Q...
SEQ ID NO: 663T.....	L...E...
SEQ ID NO: 700T.....	L...Q...
SEQ ID NO: 701T.....	L...E...
SEQ ID NO: 664	GVPSRFGSKDVTNSGILLISGLQSEDIATYYC T	MTWSSNGSGV L Q E	FGGGTQLTVLG

ФИГ. 6

ФИГ. 7А

SEQ ID NO: 114 EVQLQQSGPEVGRPGSSVKISCKASGYTFTDYIMHWVKQSPGQGLEWIGWIDPEYGRTDYAEKFKK
SEQ ID NO: 115V...A..KK..AT.....V.....Q.A..K...M.....QG
SEQ ID NO: 116V...A..KK..AT.....V.....Q.A..K...M.....QG
SEQ ID NO: 117 Q...V...A..KK..A...V.....R.A.....M.....Q.LQG
SEQ ID NO: 118 Q...V...A..KK..A...V.....R.A.....M.....Q.LQG
SEQ ID NO: 119 Q...V...A..KK..A...V...V...L.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 120 Q...V...A..KK..A...V...V...L.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 121 Q...V...A..KK..A...V...V.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 122 Q...V...A..KK..A...V...V...L.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 123 QM..V...A..KKT.....V.....R.A...A...M.....Q..QD
SEQ ID NO: 124 QM..V...A..KKT.....V.....R.A...A...M.....Q..QD

SEQ ID NO: 114 KATLTADTSSSTAYIQLSSLASEDTATYFCARSAHTTGFGFAYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 115 RV.I.....TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 116 RV.I.....TD...ME...R.....V.Y.....
SEQ ID NO: 117 RV.M.T...T...ME.R..R.D...V.Y.....
SEQ ID NO: 118 RV.M.....T...ME.R..R.D...V.Y.....
SEQ ID NO: 119 RV.M.E...TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 120 RV.M.....TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 121 RV.M.E...TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 122 RV.M.E...TD...ME...R.....V.Y.....
SEQ ID NO: 123 RV.I.R.R.M...ME...R.....M.Y.....
SEQ ID NO: 124 RV.I...R.M...ME...R.....M.Y.....

ФИГ. 7В

SEQ ID NO: 132	EVQLQQSGPEVGRPGSSVKISCKASGYIFTDYIMHWVKQSPGQGLEWIGWIDPEYGSTDYAEKFKK
SEQ ID NO: 133V...A..KK..AT.....V...T.....Q.A..K...M.....QG
SEQ ID NO: 134V...A..KK..AT.....V.....Q.A..K...M.....QG
SEQ ID NO: 135V...A..KK..AT.....V...T.....Q.A..K...M.....QG
SEQ ID NO: 136	Q...V...A..KK..A...V.....T.....R.A.....M.....Q.LQG
SEQ ID NO: 137	Q...V...A..KK..A...V.....T.....R.A.....M.....Q.LQG
SEQ ID NO: 138	Q...V...A..KK..A...V..V..TL.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 139	Q...V...A..KK..A...V..V..TL.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 140	Q...V...A..KK..A...V..V..TL.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 141	QM..V...A..KKT.....V.....T.....R.A...A...M.....Q..QD
SEQ ID NO: 142	QM..V...A..KKT.....V.....T.....R.A...A...M.....Q..QD

SEQ ID NO: 132	KATLTADTSSSTAYIQLSSLTSEDATATYFCARVAIITTVASGGFAYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 133	RV.I.....TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 134	RV.I.....TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 135	RV.I.....TD...ME...R.....V.Y.....
SEQ ID NO: 136	RV.M.T...T...ME.R..R.D...V.Y.....
SEQ ID NO: 137	RV.M.....T...ME.R..R.D...V.Y.....
SEQ ID NO: 138	RV.M.E...TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 139	RV.M.....TD...ME...R.....V.Y..T.....
SEQ ID NO: 140	RV.M.E...TD...ME...R.....V.Y.....
SEQ ID NO: 141	RV.I.R.R.M...ME...R.....M.Y.....
SEQ ID NO: 142	RV.I...R.M...ME...R.....M.Y.....

ФИГ. 7С

SEQ ID NO: 148 EVQLQQSGPEVGRPGSSVKISCKASGYTFTDSVMNWVKQSPGQGLEWIGWIDPEYGRTDVAEKFKK
SEQ ID NO: 149 Q...V...A..KK..A...V...V....L.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 150 Q...V...A..KK..A...V...V....L.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 151 Q...V...A..KK..A...V...V....L.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 152 Q...V...A..KK..A...V...V....L.....R.A..K...M.....Q..QG
SEQ ID NO: 153 QM..V...A..KKT.....V.....R.A..A...M.....Q..QD
SEQ ID NO: 154 QM..V...A..KKT.....V.....R.A..A...M.....Q..QD
SEQ ID NO: 155 ...V...A..KK..AT.....V.....Q.A..K...M.....QG
SEQ ID NO: 156 ...V...A..KK..AT.....V.....Q.A..K...M.....QG

SEQ ID NO: 148 KATLTADSSSSTAYIYLSGLTSEDATYFCARTKYNSGYGFPYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 149 RV.M.E.T.TD...ME..S.R.....V.Y..T.....TT.....
SEQ ID NO: 150 RV.M...T.TD...ME..S.R.....V.Y..T.....TT.....
SEQ ID NO: 151 RV.M.E.T.TD...ME..S.R.....V.Y.....TT.....
SEQ ID NO: 152 RV.M...T.TD...ME..S.R.....V.Y.....TT.....
SEQ ID NO: 153 RV.I.R.R.M....ME..S.R.....M.Y.....TT.....
SEQ ID NO: 154 RV.I...R.M....ME..S.R.....M.Y.....TT.....
SEQ ID NO: 155 RV.I...T.TD...ME..S.R.....V.Y..T.....TT.....
SEQ ID NO: 156 RV.I...T.TD...ME..S.R.....V.Y.....TT.....

ФИГ. 8А

SEQ ID NO: 125 DIQMTQSPASLSASLGETVTIECRASEDIYSNLAWYQQKPGNSPQLLIYDANSLAD
SEQ ID NO: 126 ST....V.DR...T.....KA.K.....
SEQ ID NO: 127 ...L....SF....V.DR...T.....KA.K.....
SEQ ID NO: 128 S.V...V.DR...T.....KA.K.....
SEQ ID NO: 129 A..L....S....V.DR...T.....KA.K.....
SEQ ID NO: 130 S....V.DR...T.....EKA.KS.....
SEQ ID NO: 131 E.V.....T..V.P..RA.LS.....QA.R.....

SEQ ID NO: 125 GVPSRFSASGSGTQFSLKINSLRSEDVASYFCQQYNNYPYTFGAGTKLELKR
SEQ ID NO: 126 G.....E.T.T.S..QPD.F.T.Y.....Q.....I..
SEQ ID NO: 127 G.....E.T.T.S..QP..F.T.Y.....Q.....I..
SEQ ID NO: 128 G.....D.T.T.S..QP..F.T.Y.....Q.....I..
SEQ ID NO: 129 G.....D.T.T.S..QP..F.T.Y.....Q.....I..
SEQ ID NO: 130 G.....D.T.T.S..QP..F.T.Y.....Q.....I..
SEQ ID NO: 131 .I.A...G.....E.T.T.S..Q...F.V.Y.....Q.....I..

ФИГ. 8В

SEQ ID NO: 143	DIVMTQGALPNPVPSGESASITCQSESLLHSNGKTYLNWYLQRPQSPQLLIYWMSTRAA
SEQ ID NO: 144TP.SS..TL.QP...S.....LQ.....P.R.....
SEQ ID NO: 145SP.SL..TP..P...S.....K.....
SEQ ID NO: 146TP.SLS.TP.QP...S.....K...P.....
SEQ ID NO: 147	.V.....SP.SL..TL.QP...S.....FQ.....RR.....
SEQ ID NO: 143	GVSDRFGSGSGTDFTLTISGVEAEDVGVYYCQQFLEYPPTFGSGTKLEIKR
SEQ ID NO: 144	..P.....A.....K..R.....Q.....
SEQ ID NO: 145	..P.....K..R.....Q.....
SEQ ID NO: 146	..P.....K..R.....Q.....
SEQ ID NO: 147	..P.....K..R.....Q.....

ФИГ. 8С

SEQ ID NO: 157	DIVMTQSP ^T SI ^S ISVGERVTM ^N CKASQ ^N V ^D SDVDWYQ ^Q KTGQSPKLLIYKAS ^N RYT
SEQ ID NO: 158	..QL....SFL.A...D...IT.....P.KA.....
SEQ ID NO: 159	..Q.....S.V.A...D...IT.....P.KA.....
SEQ ID NO: 160	A.QL....S.L.A...D...IT.....P.KA.....
SEQ ID NO: 161	..Q.....S.L.A...D...IT.....P.KA.....
SEQ ID NO: 162	E..L...ATL.L.P...A.LS.....P..A.R.....
SEQ ID NO: 163	E.....ATL.V.P...A.LS.....P..A.R.....
SEQ ID NO: 164	E..L...DFQ.VTPK.K..IT.....PD.....K.....
SEQ ID NO: 157	GVPDRFTGSGSGTDF ^T FTISNMQAEDLAVYYCMQSN ^T HPRTFGGGTKLELKR
SEQ ID NO: 158	...S..S.....E..L...SL.P..F.T.....V.I..
SEQ ID NO: 159	...S..S.....L...SL.P..F.T.....V.I..
SEQ ID NO: 160	...S..S.....L...SL.P..F.T.....V.I..
SEQ ID NO: 161	...S..S.....SL.P..I.T.....V.I..
SEQ ID NO: 162	.I.A..S.....R...L...SLEP..F.....V.I..
SEQ ID NO: 163	.I.A..S.....E..L...SL.S..F.....V.I..
SEQ ID NO: 164	...S..S.....L..NSLE...A.T.....V.I..

ФИГ. 9А

SEQ ID NO: 156	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTF <u>FTDSVMN</u> WVQQAPGKGLEWMGW <u>IDPEYGR</u> TDVAEK <u>FQG</u>
SEQ ID NO: 165E.....
SEQ ID NO: 166G.....
SEQ ID NO: 167H.....
SEQ ID NO: 168Q.....
SEQ ID NO: 169S.....
SEQ ID NO: 170V.....
SEQ ID NO: 171E.....
SEQ ID NO: 172P.....
SEQ ID NO: 173Q.....
SEQ ID NO: 174S.....
SEQ ID NO: 175
SEQ ID NO: 176
SEQ ID NO: 177
SEQ ID NO: 178
SEQ ID NO: 179
SEQ ID NO: 180
SEQ ID NO: 197

ФИГ. 9В

SEQ ID NO: 156	RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCART <u>KYNSGYGFPYWGQGTTVTVSS</u>
SEQ ID NO: 165
SEQ ID NO: 166
SEQ ID NO: 167
SEQ ID NO: 168
SEQ ID NO: 169
SEQ ID NO: 170
SEQ ID NO: 171
SEQ ID NO: 172
SEQ ID NO: 173
SEQ ID NO: 174
SEQ ID NO: 175E.....
SEQ ID NO: 176G.....
SEQ ID NO: 177P.....
SEQ ID NO: 178T.....
SEQ ID NO: 179G.....
SEQ ID NO: 180T.....
SEQ ID NO: 197Q.....

ФИГ. 10А

SEQ ID NO: 161	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDSVDWYQQKPGKAPKLLIYKASNRYT
SEQ ID NO: 183P.....
SEQ ID NO: 184Q.....
SEQ ID NO: 181E.....
SEQ ID NO: 182G.....
SEQ ID NO: 185D..
SEQ ID NO: 186D.....
SEQ ID NO: 187E.....
SEQ ID NO: 188
SEQ ID NO: 189
SEQ ID NO: 190
SEQ ID NO: 191
SEQ ID NO: 192
SEQ ID NO: 193
SEQ ID NO: 194
SEQ ID NO: 195
SEQ ID NO: 196
SEQ ID NO: 198Q.....

ФИГ. 10В

SEQ ID NO: 161	GVPSRFSGSGSGTDFTFITISLQPEDIA <u>YYCMQSNTHPRT</u> FGGGTKVEIKR
SEQ ID NO: 183
SEQ ID NO: 184
SEQ ID NO: 181
SEQ ID NO: 182
SEQ ID NO: 185
SEQ ID NO: 186
SEQ ID NO: 187
SEQ ID NO: 188A.....
SEQ ID NO: 189E.....
SEQ ID NO: 190H.....
SEQ ID NO: 191K.....
SEQ ID NO: 192P.....
SEQ ID NO: 193Q.....
SEQ ID NO: 194S.....
SEQ ID NO: 195V.....
SEQ ID NO: 196D.....
SEQ ID NO: 198

		CDR1		CDR2
SEQ ID NO: 165	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS	<u>GYTFTDSVMN</u>	WVQQEPGKGLEWMG	<u>WIDPEYGRTDVAEKFOG</u>
SEQ ID NO: 166G.....
SEQ ID NO: 167H.....
SEQ ID NO: 179A.....
SEQ ID NO: 180A.....
SEQ ID NO: 156A.....
SEQ ID NO: 197A.....
SEQ ID NO: 152	Q.....S.V.....	..L.....	..R.A.....Q.....
SEQ ID NO: 720	Q.....S.V.....	..L.....	..R.G.....Q.....
SEQ ID NO: 721	Q.....S.V.....	..L.....	..R.H.....Q.....
SEQ ID NO: 722	Q.....S.V.....	..L.....	..R.G.....Q.....
SEQ ID NO: 723	Q.....S.V.....	..L.....	..R.H.....Q.....
SEQ ID NO: 739G.....
SEQ ID NO: 740H.....
SEQ ID NO: 741G.....
SEQ ID NO: 742H.....
SEQ ID NO: 665	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS	GYTFTDSVMN	WVQQEPGKGLEWMG	WIDPEYGRTDVAEKFOG
	Q S V	L	R G	Q
			H	
			A	

ФИГ. 11a

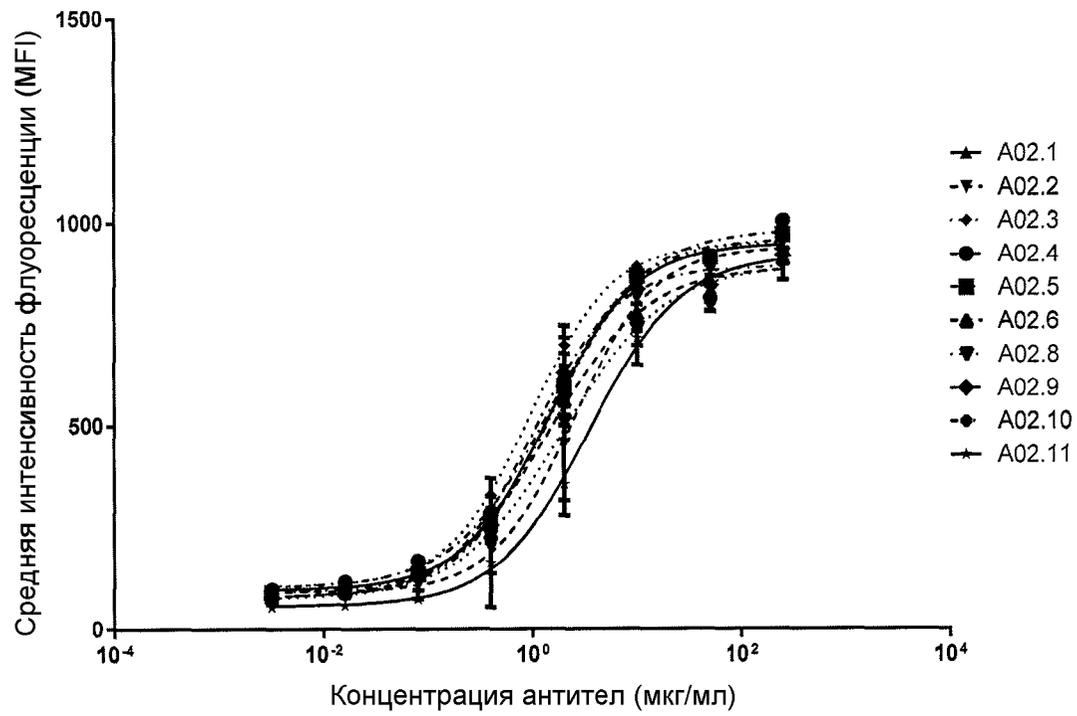
		CDR3	
SEQ ID NO: 165	RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR	TKYNSGYGFPY	WGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 166
SEQ ID NO: 167
SEQ ID NO: 179G.....
SEQ ID NO: 180T.....
SEQ ID NO: 156
SEQ ID NO: 197Q.....
SEQ ID NO: 152	..M.....
SEQ ID NO: 720	..M.....	.G.....
SEQ ID NO: 721	..M.....	.G.....
SEQ ID NO: 722	..M.....	.G.Q.....
SEQ ID NO: 723	..M.....	.G.Q.....
SEQ ID NO: 739G.....
SEQ ID NO: 740G.....
SEQ ID NO: 741G.Q.....
SEQ ID NO: 742G.Q.....
SEQ ID NO: 665	RVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR	TKYNSGYGFPY	WGQGTITVTVSS
	M	G Q	
		T	

ФИГ. 11b

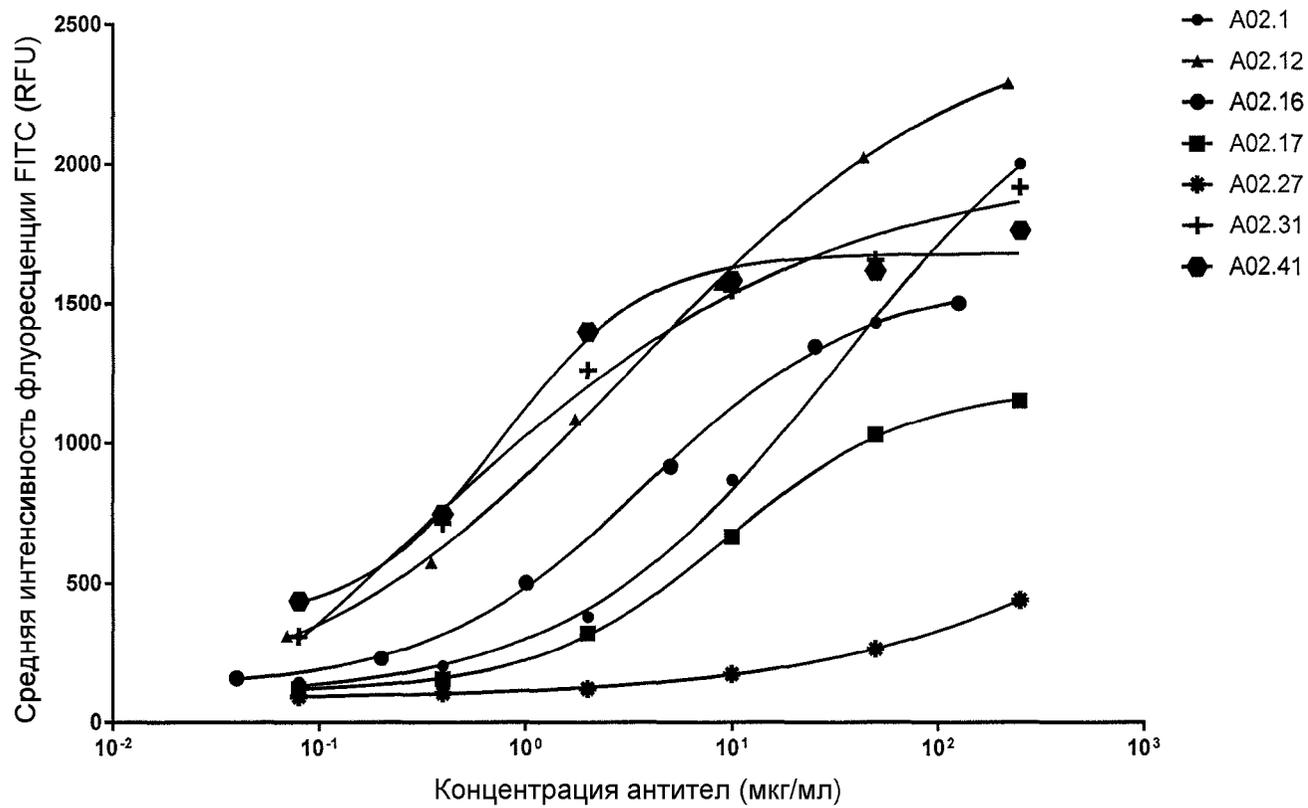
		CDR1		CDR2
SEQ ID NO: 161	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC	<u>KASQNVDSVD</u>	WYQQKPGKAPKLLIY	<u>KASNRYT</u>
SEQ ID NO: 182	G.....
SEQ ID NO: 184	Q.....
SEQ ID NO: 185D..
SEQ ID NO: 188
SEQ ID NO: 198Q...
SEQ ID NO: 704	G.....D..
SEQ ID NO: 705	G.....
SEQ ID NO: 706	Q.....D..
SEQ ID NO: 707	Q.....
SEQ ID NO: 708	G.....QD..
SEQ ID NO: 709	G.....Q...
SEQ ID NO: 710	Q.....QD..
SEQ ID NO: 711	Q.....Q...
SEQ ID NO: 666	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIC	KASQNVDSVD	WYQQKPGKAPKLLIY	KASNRYT
		G		QD
		Q		

		CDR3	
SEQ ID NO: 161	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDIAITYYC	<u>MQSNTHPRT</u>	FGGGTKVEIKR
SEQ ID NO: 182
SEQ ID NO: 184
SEQ ID NO: 185
SEQ ID NO: 188	A.....
SEQ ID NO: 198
SEQ ID NO: 704	A.....
SEQ ID NO: 705	A.....
SEQ ID NO: 706	A.....
SEQ ID NO: 707	A.....
SEQ ID NO: 708	A.....
SEQ ID NO: 709	A.....
SEQ ID NO: 710	A.....
SEQ ID NO: 711	A.....
SEQ ID NO: 666	GVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDIAITYYC	MQSNTHPRT	FGGGTKVEIKR
		A	

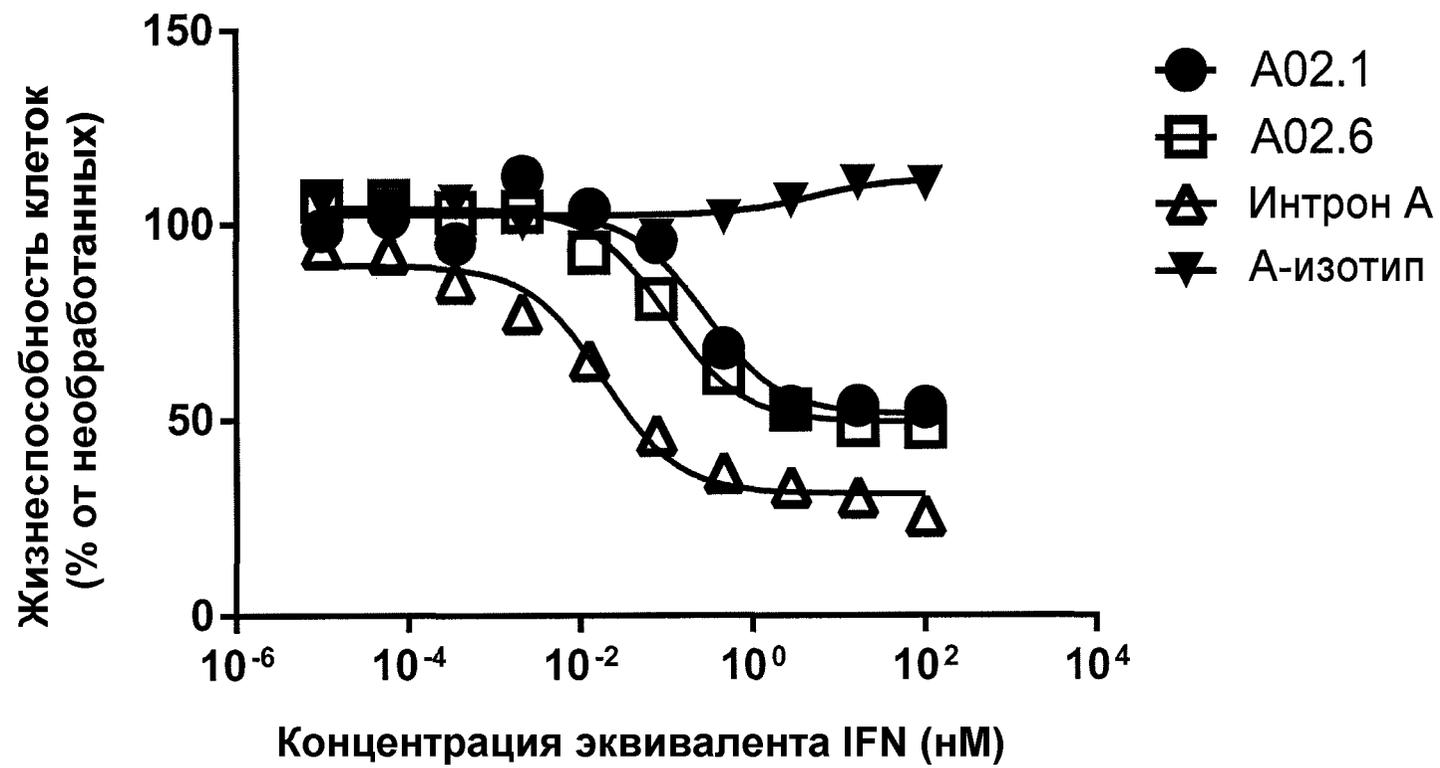
ФИГ. 12



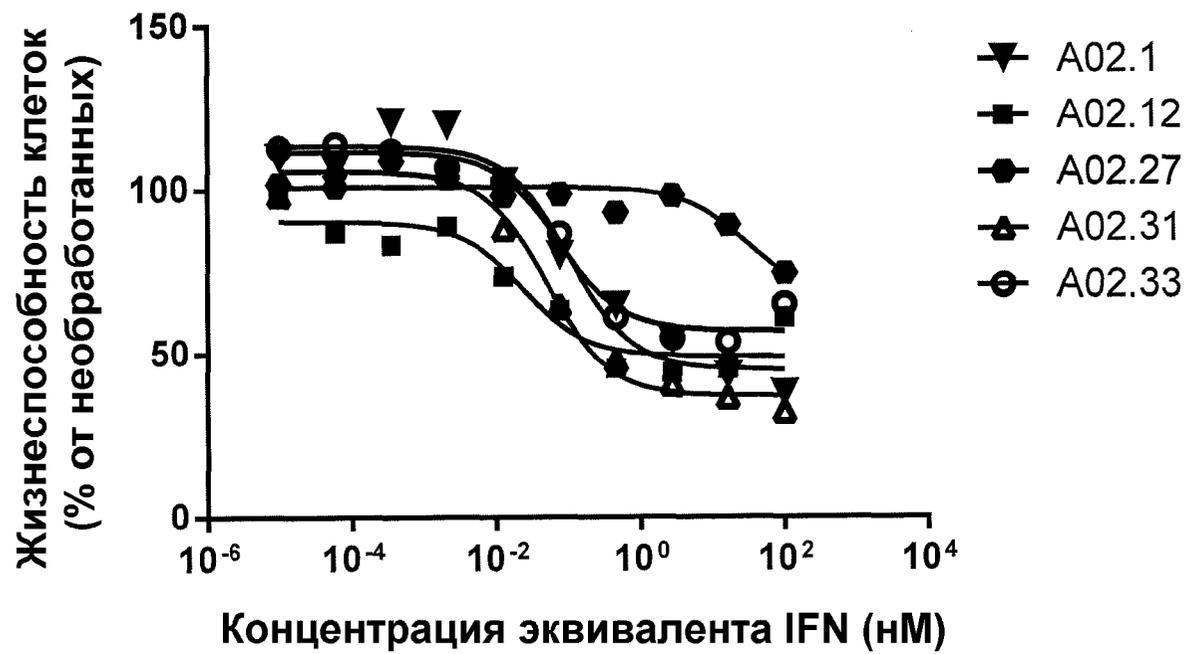
ФИГ. 13



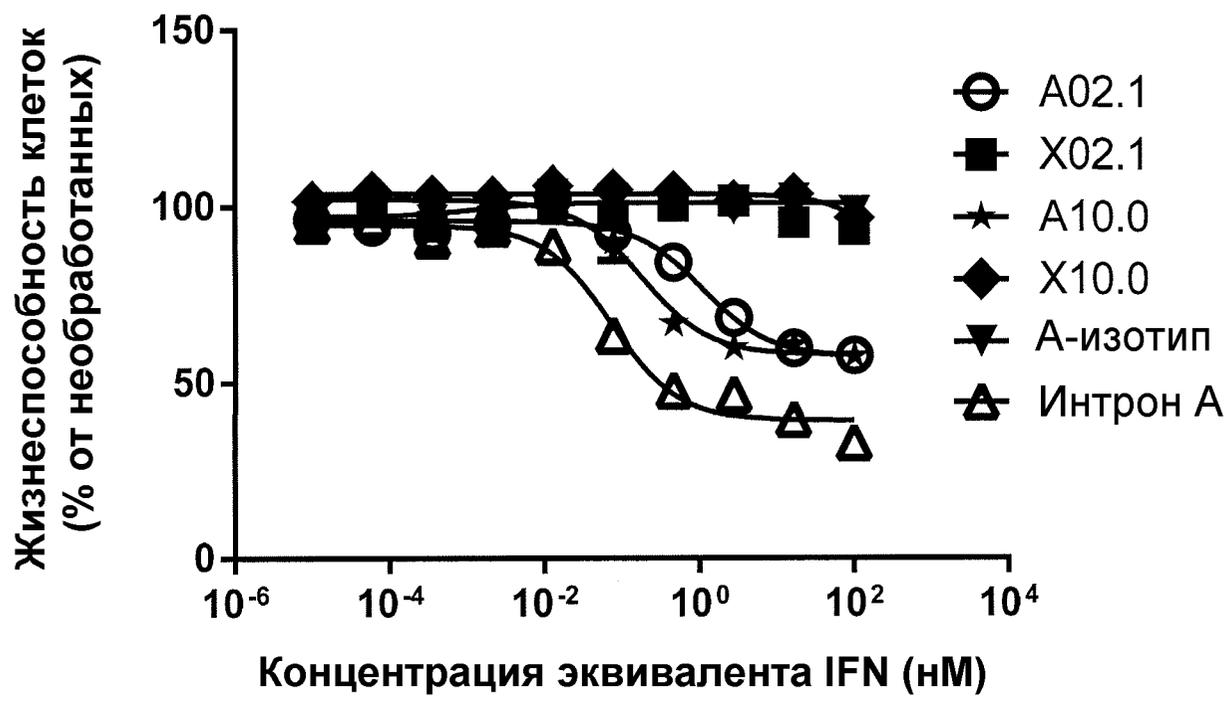
ФИГ.14



ФИГ. 15

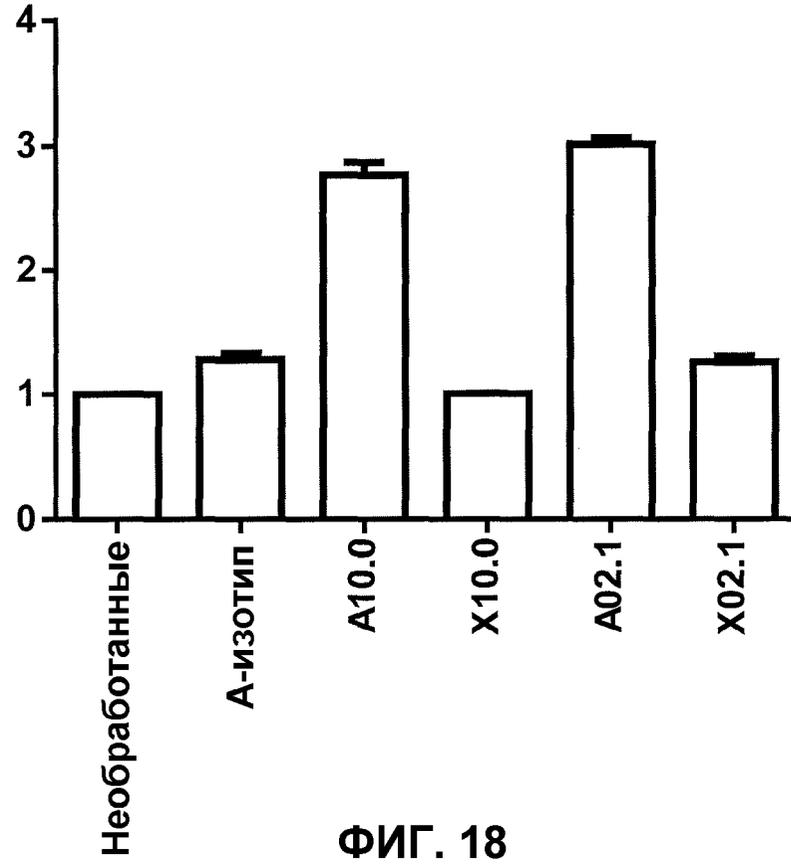


ФИГ. 16



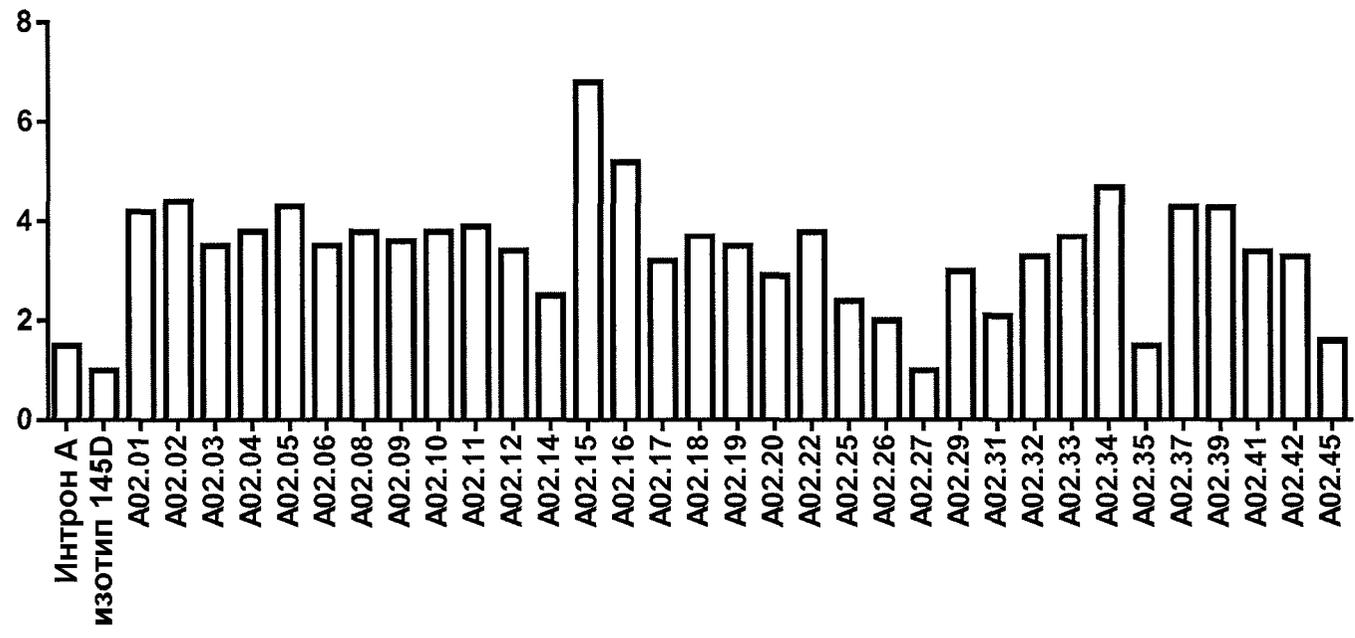
ФИГ. 17

**Положительные по аннексину V клетки
(Кратность изменения по сравнению
с необработанными)**

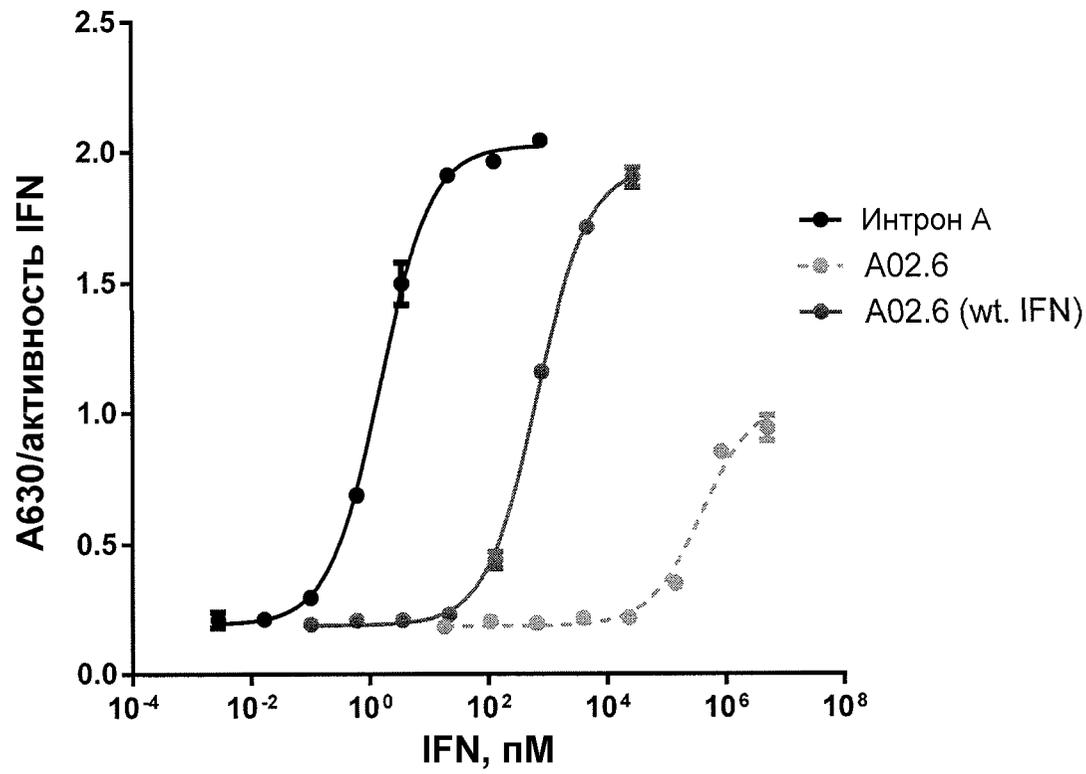


ФИГ. 18

Активированная каспаза
(Кратность изменения по сравнению
с необработанными)



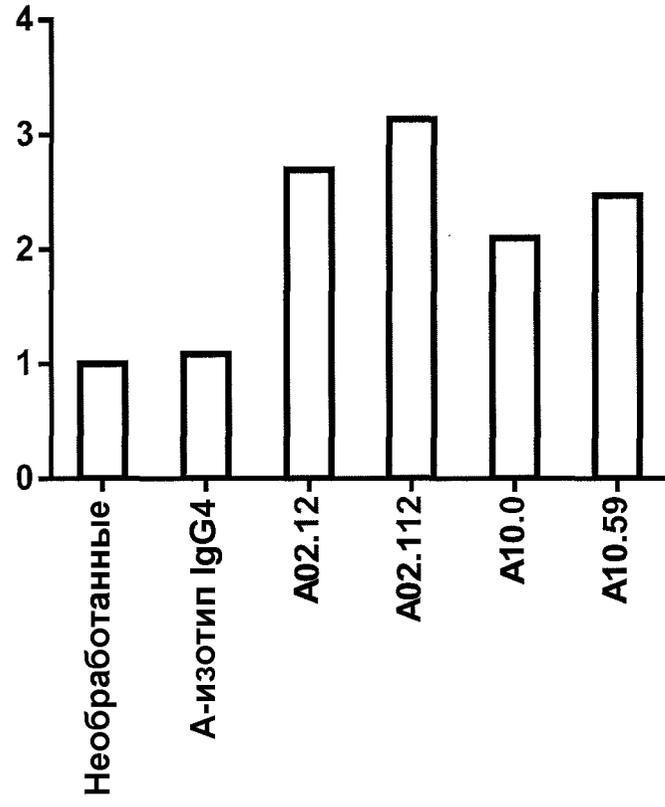
ФИГ. 19



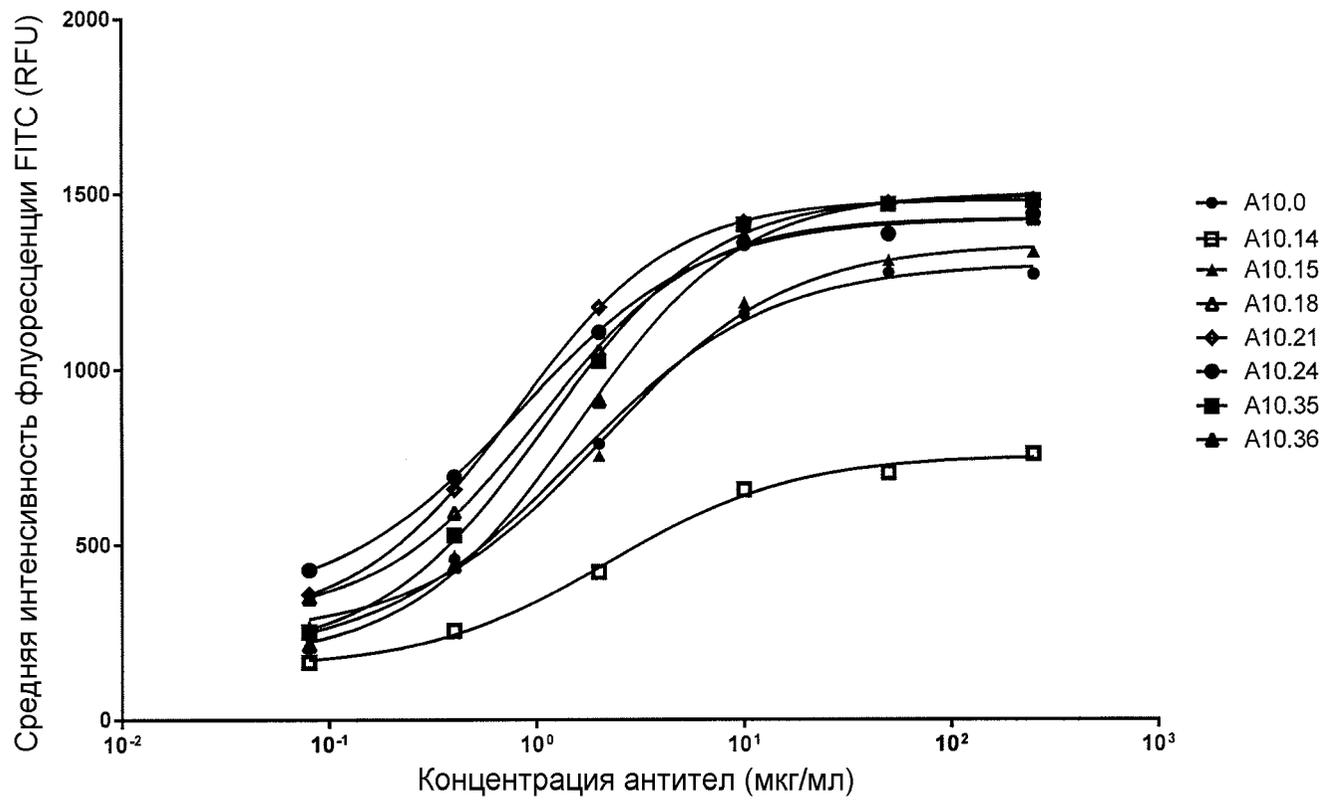
	IFNa2b	A02.6	A02.6 (wt. IFN)
EC50	1.520	371688	666.8

ФИГ. 20

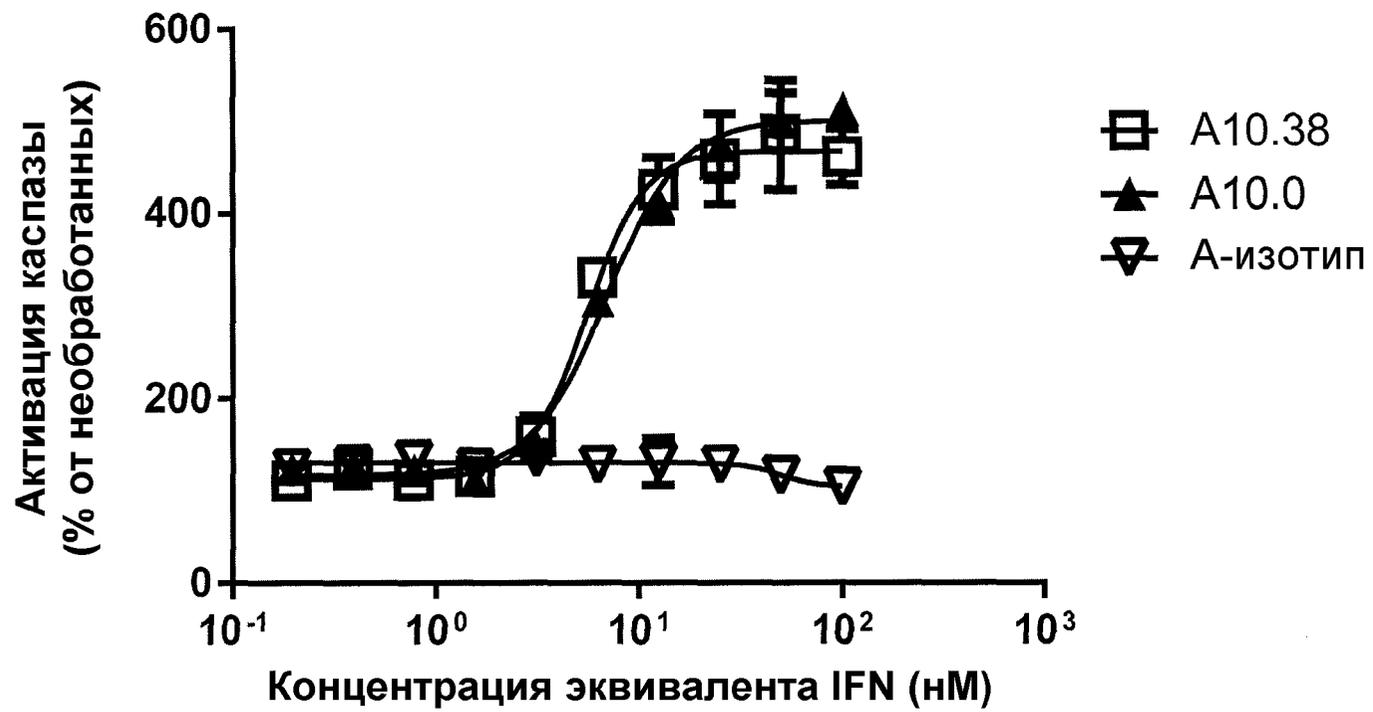
Положительные по аннексину V клетки
(Кратность изменения по сравнению
с необработанными)



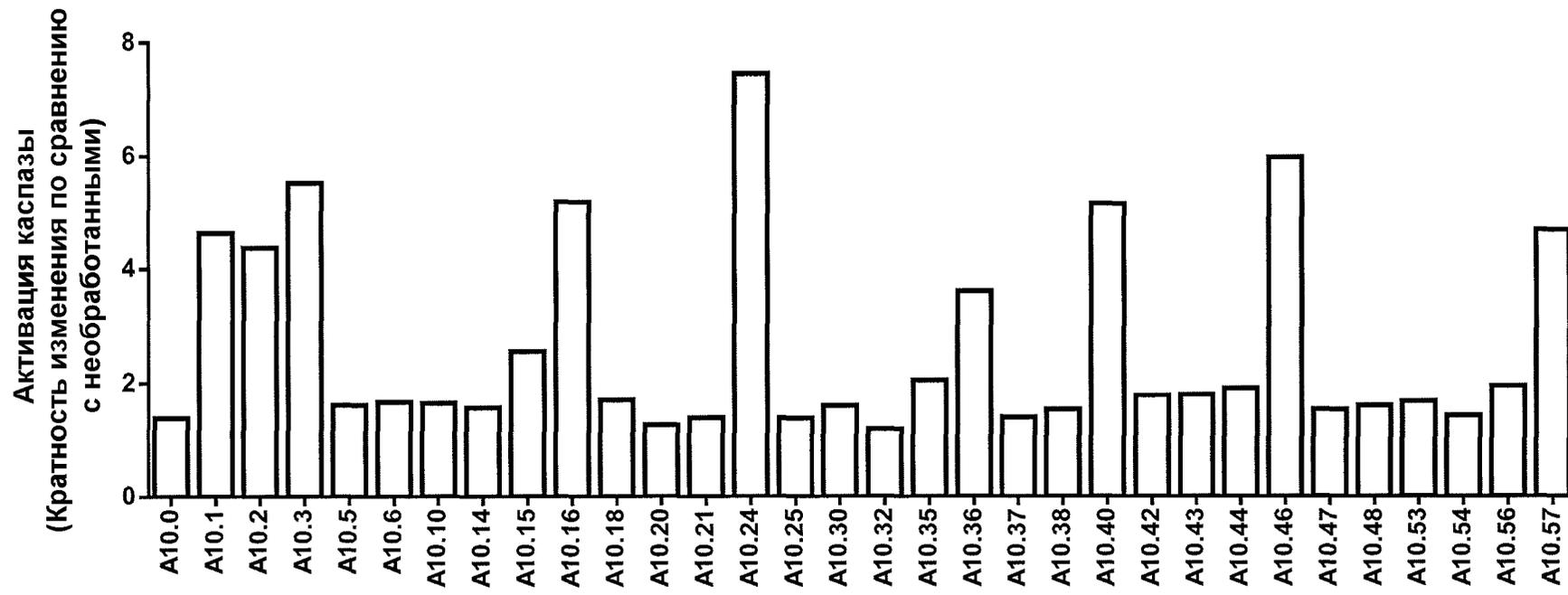
ФИГ. 21



ФИГ. 22

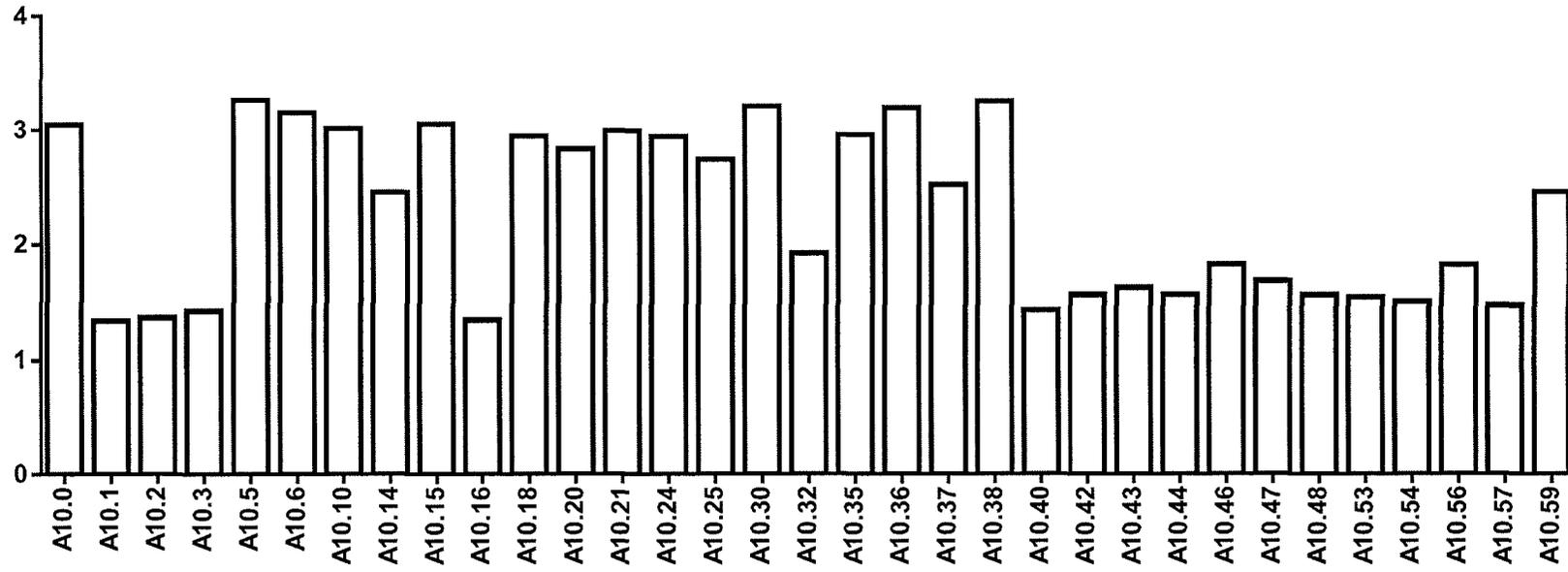


ФИГ. 23

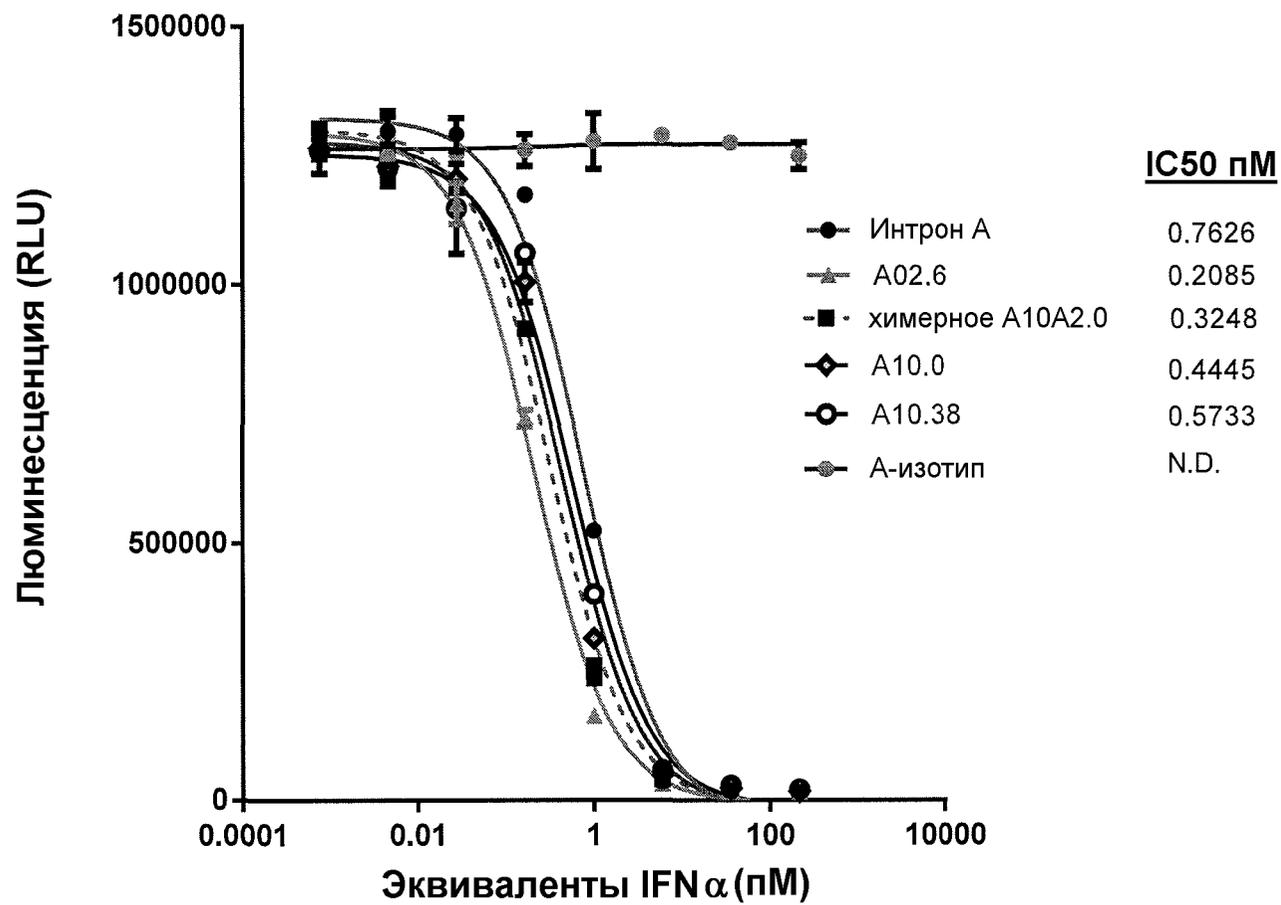


ФИГ. 24

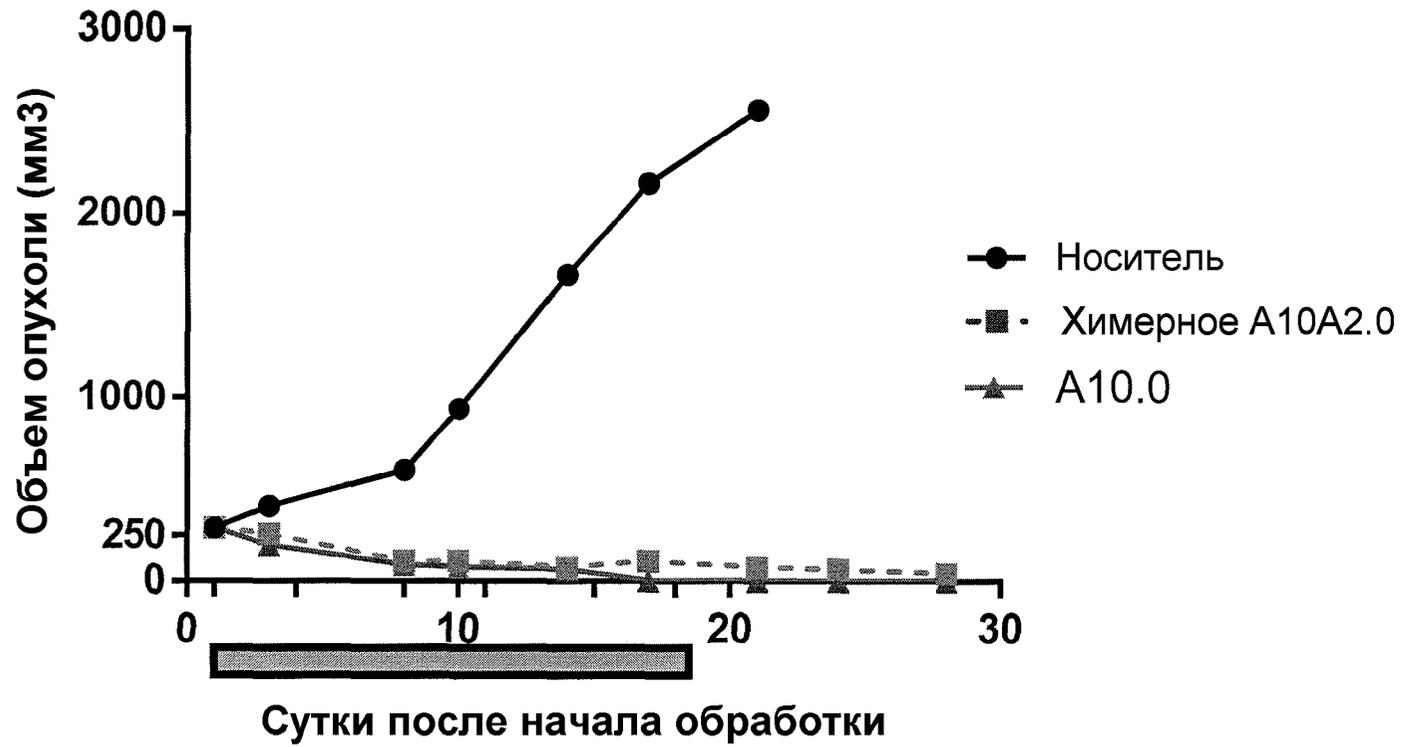
Положительные по аннексину V клетки
(Кратность изменения по сравнению
с необработанными)



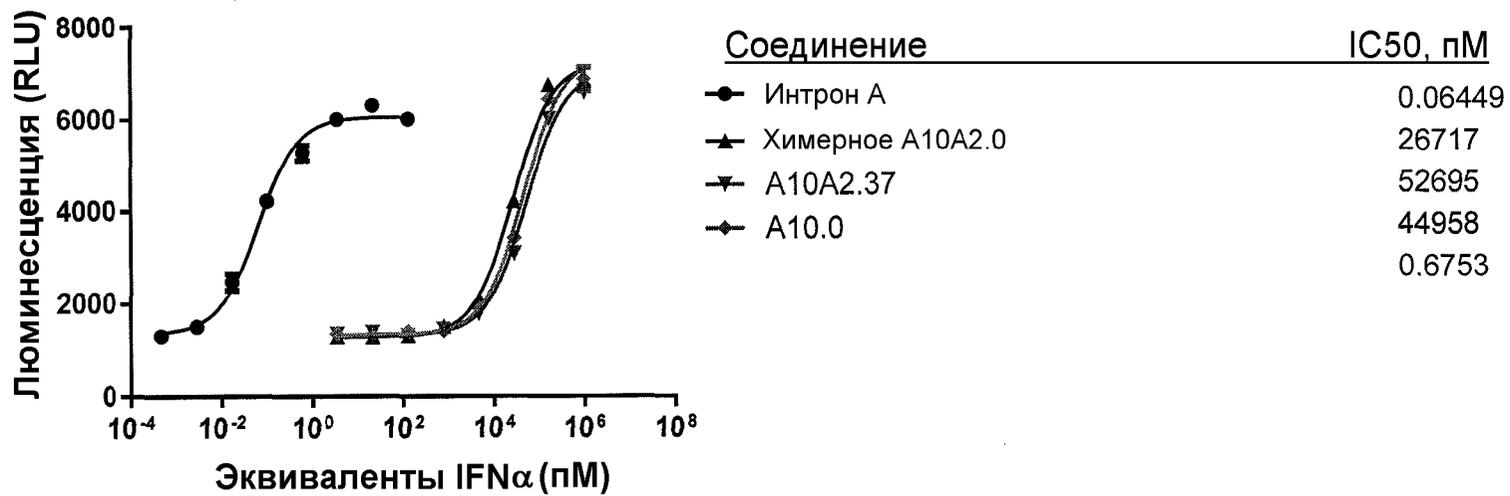
ФИГ. 25



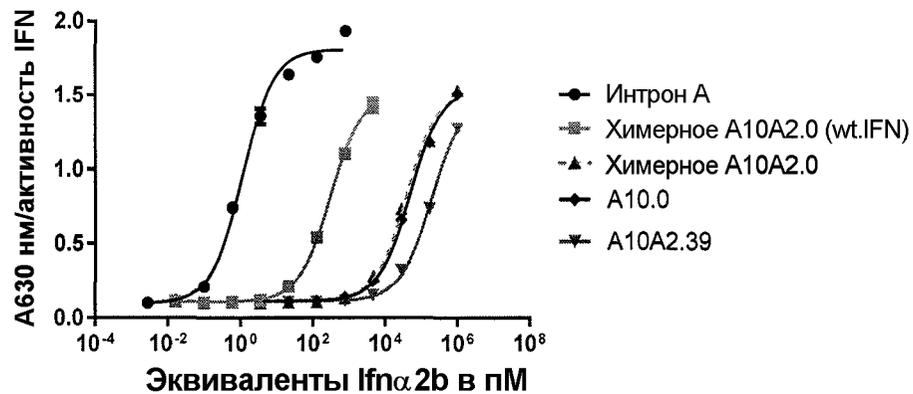
ФИГ. 26



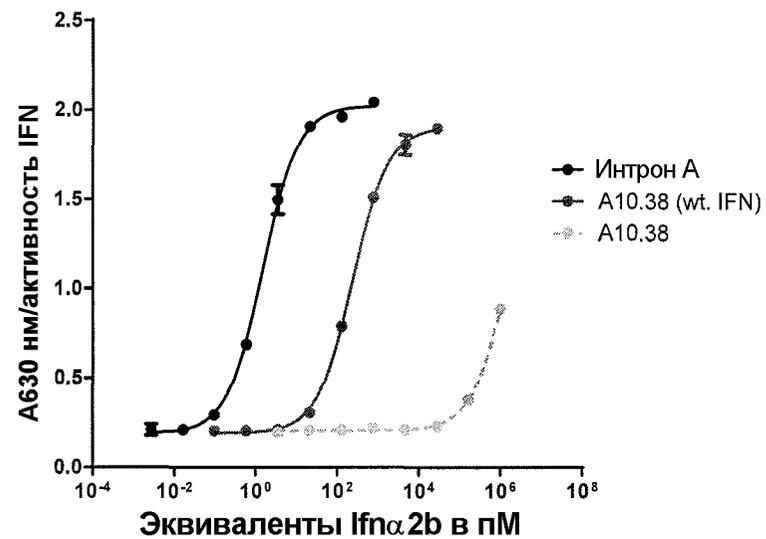
ФИГ. 27



ФИГ. 28



	Intron A	A10A2.0 chimeric	A10A2.39	A10.0	Химерное A10A2.0 (wt.IFN)
EC50	1.134	39843	191631	48556	295.8



	Интрон А	A10.38	A10.38 (wt. IFN)
EC50	1.520	1.431e+006	244.0

ФИГ. 29

		CDR1		CDR2
SEQ ID NO: 110	EVQLVQSGAEVKKSGASVKVSCKAS	<u>GYTFDYIYH</u>	WVRQAPGQGLEWMG	<u>WINPNNGGVTFAQKFG</u>
SEQ ID NO: 728P.....
SEQ ID NO: 729P.....
SEQ ID NO: 730P.....T.....
SEQ ID NO: 731P.....
SEQ ID NO: 736	EVQLVQSGAEVKKSGASVKVSCKAS	<u>GYTFDYIYH</u>	WVRQAPGQGLEWMG P	<u>WINPNNGGVTFAQKFG</u> T
SEQ ID NO: 110	RVTMTRDTSISTAYMDLSSLRSDDTAVYFCAR		<u>DIRMSGWLAPFDY</u>	WGQGTLLVTVSS
SEQ ID NO: 728
SEQ ID NO: 729Y.....
SEQ ID NO: 730
SEQ ID NO: 731L.....
SEQ ID NO: 736	RVTMTRDTSISTAYMDLSSLRSDDTAVYFCAR Y		<u>DIRMSGWLAPFDY</u> L	WGQGTLLVTVSS

ФИГ. 30

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202390266**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**
C07K 16/28 (2023.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)
C07K 16/28, A61P35/00, A61P35/02Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, используемые поисковые термины)
Espacenet, EAPATIS, PubMed, PatentScope, NCBI, Google**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	WO 2005/103083 A2 (MORPHOSYS AG) 2005-11-03, описание стр.16, 20-23, 32-33, формула п. 1, 69, 74	1-39
A	US 2002/0164788 A1 (THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED) 2002-11-07 Описание стр. 1, 5, реферат, формула п. 10, 14-17	1-39
A	STEVENSON F.K. et al "Preliminary studies for an immunotherapeutic approach to the treatment of human myeloma using chimeric anti-CD38 antibody", BLOOD. 1991 MAR 1; 77(5):1071-9 77(5):1071-9	1-39
A	STEVENSON G.T. "CD38 as a therapeutic target" MOL. MED. 2006 Nov-Dec; 12(11-12): 345-6. doi: 10.2119/2006-00082 12(11-12): 345-6	1-39

 последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

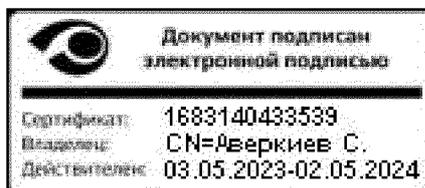
«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 28 сентября 2023 (28.09.2023)

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы

С.Е. Аверкиев