

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201792451** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2018.05.31

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

(22) Дата подачи заявки
2016.05.06

(54) **АНТИТЕЛА К OX40 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **62/158,515; 62/161,198; 62/262,373;
62/323,458**

(32) **2015.05.07; 2015.05.13; 2015.12.02;
2016.04.15**

(33) **US**

(86) **PCT/US2016/031257**

(87) **WO 2016/179517 2016.11.10**

(71) Заявитель:

**АГЕНУС ИНК. (US); ЛЮДВИГ
ИНСТИТЮТ ФОР КАНСЕР
РЕСЁРЧ ЛТД. (CH); МЕМОРИАЛ
СЛОАН-КЕТТЕРИНГ КАНСЕР
СЕНТЕР (US)**

(72) Изобретатель:

**Ван Дийк Марк (NL), Бреоус-
Нистром Екатерина (CH), Зайберт
Фолькер (DE), Риттер Герд, Шаер
Дэвид, Хирчхорн-Цимерман Дэниэл,
Мергхоуб Таха, Тан Хао, Савитский
Дэвид А., Вейт Джереми, Уилсон
Николас С. (US)**

(74) Представитель:

Строкова О.В. (RU)

(57) В настоящем раскрытии предусмотрены антитела, которые специфически связываются с рецептором OX40 человека (OX40), и композиции, содержащие такие антитела. В конкретном аспекте антитела специфически связываются с OX40 человека и модулируют активность OX40, например, усиливают, запускают или индуцируют активность OX40, или снижают, прекращают или ингибируют активность OX40. В настоящем раскрытии также предусмотрены способы лечения нарушений, таких как рак, с помощью введения антитела, которое специфически связывается с OX40 человека и модулирует активность OX40, например, усиливает, запускает или индуцирует активность OX40. Также предусмотрены способы лечения аутоиммунных или воспалительных заболеваний или нарушений с помощью введения антитела, которое специфически связывается с OX40 человека и модулирует активность OX40, например, снижает, прекращает или ингибирует активность OX40.

A1

201792451

201792451

A1

АНТИТЕЛА К OX40 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0001] НАСТОЯЩАЯ заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и тем самым включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте (указанная копия ASCII, созданная 5 мая 2016 г., называется 3617_003PC04_ST25.txt и имеет размер 120927 байтов).

1. ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Настоящее раскрытие относится к антителам, которые специфически связываются с рецептором OX40 человека ("OX40"), композициям, содержащим такие антитела, и способам получения и применения антител, которые специфически связываются с OX40.

2. ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Роль врожденного и адаптивного иммунного ответа в контроле опухолевого роста у человека хорошо описана (Vesely MD *et al.*, (2011) *Annu Rev Immunol* 29: 235-271). В связи с этим появились стратегии на основе применения антител, которые направлены на усиление Т-клеточных ответов с целью терапии рака, такие как целенаправленное воздействие на экспрессируемые Т-клетками стимулирующие рецепторы агонистическими антителами или на ингибиторные рецепторы функциональными антагонистами (Mellman I *et al.*, (2011) *Nature* 480: 480-489). Подходы на основе опосредованных антителами агонистов и антагонистов продемонстрировали доклиническую и в последнее время клиническую эффективность. Важным стимулирующим рецептором, который модулирует функцию Т-клеток, Т-клеток с активностью естественных киллеров (NKT) и NK-клеток, является рецептор OX40 (также известный как OX40, CD134, TNFRSF4, TXGP1L, ACT35 и ACT-4) (Sugamura K *et al.*, (2004) *Nat Rev Immunol* 4: 420-431). OX40 является членом суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRSF), и передача сигнала посредством OX40 может модулировать важные иммунные функции.

[0004] OX40 может быть активирован антиген-специфичными Т-клетками после стимуляции Т-клеточных рецепторов (TCR) профессиональными антигенпредставляющими клетками (APC), экспонирующими молекулы MHC I или II класса, нагруженные когнатным пептидом (Sugamura K *et al.*, (2004) *Nat Rev Immunol* 4: 420-431). При созревании APC, такие как дендритные клетки (DC), активируют стимулирующие члены семейства B7 (например, CD80 и CD86), а также дополнительные костимулирующие молекулы, в том числе лиганд OX40 (OX40L), которые способствуют

корректировке кинетики и интенсивности Т-клеточного иммунного ответа, а также эффективной дифференцировке клеток памяти. Примечательно, что другие типы клеток также могут экспрессировать конститутивные и/или индуцируемые уровни OX40L, такие как В-клетки, клетки эндотелия сосудов, тучные клетки и в некоторых случаях активированные Т-клетки (Soroosh P *et al.*, (2006) *J Immunol* 176: 5975-5987). Предполагается, что взаимодействие OX40:OX40L обуславливает кластеризацию рецепторных тримеров более высокого порядка и последующую передачу сигнала (Compaan DM *et al.*, (2006) *Structure* 14: 1321-1330).

[0005] Экспрессия OX40 Т-клетками в микроокружении опухоли наблюдалась в опухолевых тканях мыши и человека (Bulliard Y *et al.*, (2014) *Immunol Cell Biol* 92: 475-480 и Piconese S *et al.*, (2014) *Hepatology* 60: 1494-1507). OX40 экспрессируется на высоком уровне внутриопухолевыми популяциями регуляторных Т-клеток (Treg) по сравнению с обычными популяциями Т-клеток, и эта характеристика связана с их пролиферативным статусом (Waight JD *et al.*, (2015) *J Immunol* 194: 878-882 и Bulliard Y *et al.*, (2014) *Immunol Cell Biol* 92: 475-480). Ранние исследования показали, что агонистические антитела к OX40 были способны вызывать отторжение опухоли в мышинных моделях (Weinberg AD *et al.*, (2000) *J Immunol* 164: 2160-2169 и Piconese S *et al.*, (2008) *J Exp Med* 205: 825-839). Также было показано, что антитело мыши, которое выступает в роли агониста в отношении передачи сигнала с участием OX40 человека, усиливает иммунные функции у пациентов с раком (Curti BD *et al.*, (2013) *Cancer Res* 73: 7189-7198).

[0006] Взаимодействия OX40 и OX40L также были связаны с иммунными ответами при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, в том числе мышинных моделях астмы/атопии, энцефаломиелита, ревматоидного артрита, колита/воспалительного заболевания кишечника, реакции "трансплантат против хозяина" (например, отторжение трансплантата), диабете у мышей с инсулинозависимым диабетом и атеросклерозе (Croft M *et al.*, (2009) *Immunol Rev* 229(1): 173-191, и источники литературы, цитируемые в данном документе). Сниженная симптоматика, связанная с этими заболеваниями и нарушениями, была отмечена у мышей с недостаточностью OX40 и OX40L, у мышей, получающих липосомы с антителами к OX40, нагруженные цитостатическим препаратом, и у мышей, у которых взаимодействия OX40 и OX40L были блокированы блокирующим антителом к OX40L или рекомбинантным OX40, слитым с Fc-частью иммуноглобулина человека (Croft M *et al.*; Boot EPJ *et al.*, (2005) *Arthritis Res Ther* 7: R604-615; Weinberg AD *et al.*, (1999) *J Immunol* 162: 1818-1826). Было показано, что лечение блокирующим антителом к OX40L ингибирует опосредованное Th2 воспаление в модели астмы у макака-резуса (Croft M *et al.*; Seshasayee D *et al.*, (2007) *J Clin Invest* 117: 3868-3878). Кроме того, полиморфизмы OX40L

были связаны с волчанкой (Croft M *et al.*).

[0007] Принимая во внимание роль OX40 человека в модулировании иммунных ответов, в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40, и применение этих антител для модулирования активности OX40.

3. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

[0008] В одном аспекте в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека).

[0009] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 варибельной области тяжелой цепи (VH), предусматривающую CDR1 VH в SEQ ID NO: 16, CDR2 VH, предусматривающую CDR2 VH в SEQ ID NO: 16, CDR3 VH, предусматривающую CDR3 VH в SEQ ID NO: 16, CDR1 варибельной области легкой цепи (VL), предусматривающую CDR1 VL в SEQ ID NO: 15, CDR2 VL, предусматривающую CDR2 VL в SEQ ID NO: 15, и CDR3 VL, предусматривающую CDR3 VL в SEQ ID NO: 15, где каждая CDR определяется согласно определению по Kabat, определению по Chothia, комбинации определения по Kabat и определения по Chothia, системе нумерации IMGT, определению по AbM или контактному определению CDR.

[0010] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит (а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую определяющую комплементарность область 1 (CDR1) тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); и CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3).

[0011] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит (а) варибельную область тяжелой цепи, содержащую CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность GFTFSGSA (SEQ ID NO: 47); CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность IRSKANSYAT (SEQ ID NO: 48); и CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность TSGIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 49); и (b) варибельную область легкой цепи, содержащую CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность QSLLSNGYNY (SEQ ID NO: 44); CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность

LGS (SEQ ID NO: 45); и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 46).

[0012] В одном варианте осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую каркасные области человека или человеческого происхождения.

[0013] В одном варианте осуществления антитело содержит переменную каркасную область тяжелой цепи, которая происходит из аминокислотной последовательности, кодируемой геном человека, где указанная аминокислотная последовательность содержит IGHV3-73*01 (SEQ ID NO: 19).

[0014] В одном варианте осуществления антитело содержит последовательность переменной области легкой цепи с каркасными областями человека или человеческого происхождения.

[0015] В одном варианте осуществления антитело содержит переменную каркасную область легкой цепи, которая происходит из аминокислотной последовательности, кодируемой геном человека, где указанная аминокислотная последовательность содержит IGKV2-28*01 (SEQ ID NO: 18).

[0016] В одном варианте осуществления антитело содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

[0017] В одном варианте осуществления антитело содержит последовательность тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 23, 51 и 52. В одном варианте осуществления антитело содержит последовательность тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO 60-63.

[0018] В одном варианте осуществления антитело содержит последовательность переменной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15.

[0019] В одном варианте осуществления антитело содержит последовательность легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0020] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.

[0021] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область легкой цепи содержит аминокислотную

последовательность под SEQ ID NO: 15.

[0022] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16; и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15.

[0023] В одном варианте осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0024] В одном варианте осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 23; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0025] В одном варианте осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51 или 52; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20. В одном варианте осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62 или 63; и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0026] В одном варианте осуществления антитело содержит константные области тяжелой и/или легкой цепей. В одном варианте осуществления константная область тяжелой цепи выбрана из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂ человека. В одном варианте осуществления IgG₁ представляет собой нефукозилированный IgG₁. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность IgG₁ содержит мутацию N297A. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность IgG₁ содержит мутацию N297Q. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность IgG₄ содержит мутацию S228P. В одном варианте осуществления аминокислотная последовательность IgG₂ содержит мутацию C127S. В одном варианте осуществления константная область тяжелой цепи

содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 32-37, 53-54 и 64-71. В одном варианте осуществления константная область легкой цепи выбрана из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgGκ и IgGλ человека.

[0027] В одном варианте осуществления антитело представляет собой антитело человека.

[0028] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело, содержащее CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSHNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3). В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело, содержащее CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GFTFSGSA (SEQ ID NO: 47); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность IRSKANSYAT (SEQ ID NO: 48); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность TSGIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 49); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность QSLLSHNGYNY (SEQ ID NO: 44); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGS (SEQ ID NO: 45); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 46). В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15.

[0029] В одном варианте осуществления антитело является агонистическим. В одном варианте осуществления антитело запускает, усиливает или индуцирует активность OX40 человека. В одном варианте осуществления антитело индуцирует пролиферацию CD4⁺ Т-клеток. В одном варианте осуществления пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антитела. В одном варианте осуществления пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ. В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование IL-2, TNFα, IFNγ, IL-4, IL-10, IL-13 или их комбинации стимулированными антителом к

CD3 T-клетками. В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-4, IL-10, IL-13 или их комбинации стимулированными антителом к CD3 мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC). В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 стимулированными антителом к CD3 PBMC, где продуцирование $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антитела. В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 стимулированными антителом к CD3 PBMC, где продуцирование $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ. В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование IL-2 стимулированными SEA T-клеток и подавляет продукцию IL-10 стимулированными SEA T-клеток. В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование IL-2 стимулированными SEA мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC) и подавляет продукцию IL-2 стимулированными SEA PBMC. В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование IL-2 стимулированными SEA PBMC, где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антитела. В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование IL-2 стимулированными SEA PBMC, где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ.

[0030] В одном варианте осуществления антитело ослабляет подавление эффекторных T-клеток, обусловленной регуляторными T-клетками.

[0031] В одном варианте осуществления антитело индуцирует продуцирование IL-2 при совместном культивировании эффекторных T-клеток и регуляторных T-клеток и подавляет продуцирование IL-10 при совместном культивировании эффекторных T-клеток и регуляторных T-клеток.

[0032] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином A (SEA) (например,

100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLHNSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней,

например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0033] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0034] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов,

например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например РВМС или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например РВМС или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до

50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0035] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую

аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0036] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40, содержит CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4); CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5); CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1); CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2); и CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и

5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0037] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствии или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствии

или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0038] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0039] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование

РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками РВМС, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0040] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками РВМС, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование РВМС (например, 10^5

клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0041] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до

20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0042] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками РВМС, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0043] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками РВМС, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до

20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Производство IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует производство IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где производство IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0044] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует производство IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где

продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0045] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2

10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0046] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0047] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с

помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками РВМС, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0048] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками РВМС, при

стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0049] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует

продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0050] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 в присутствии 4 мкг/мл антитела является более высокой, чем в присутствии 0,032 мкг/мл антитела. Продуцирование IL-2 можно оценивать, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[0051] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на

планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например,

0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0052] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов,

например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например РВМС или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при $37^{\circ}C$ и 5% CO_2 , что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к ОХ40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при $37^{\circ}C$ и 5% CO_2 ; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0053] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например РВМС или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при $37^{\circ}C$ и 5% CO_2 , что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или

0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0054] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13,

например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор

супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0055] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂,

что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0056] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например РВМС или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, $TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$, GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение

продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0057] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например,

электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например,

электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[0058] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента

меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[0059] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 70% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[0060] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:

15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0061] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 75% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0062] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где

пролиферация CD4+ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[0063] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 80% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а)

мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[0064] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового

сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10^5 клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0065] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 85% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10^5 клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0066] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10^5 клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на

планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0067] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 90% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например,

антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[0068] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента

меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[0069] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 95% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[0070] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии. В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:

15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0071] В одном варианте осуществления антитело содержит VL-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15, и VH-домен, на по меньшей мере 98% идентичный аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16, где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[0072] В одном варианте осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₁ человека, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации. В одном варианте осуществления

антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG₁, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.

[0073] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, представляет собой антитело, где связывание между антителом и вариантным OX40 значительно ослаблено по сравнению со связыванием между антителом и последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, и где вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации.

[0074] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, представляет собой антитело, где связывание между антителом и вариантным OX40 значительно ослаблено по сравнению со связыванием между антителом и последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, и где вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением аминокислотной мутации W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A.

[0075] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, представляет собой антитело, которое характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO: 55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним.

[0076] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, представляет собой выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO: 55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A, или не связывается с ним.

[0077] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, представляет собой антитело, которое специфически связывается с эпитопом последовательности OX40 человека, содержащей остаток SEQ ID NO: 55, выбранный из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации.

[0078] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, представляет собой антитело, которое специфически связывается с

эпитопом последовательности OX40 человека, содержащей остатки 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO 55.

[0079] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, представляет собой антитело, которое специфически связывается по меньшей мере с одним остатком SEQ ID NO: 55, выбранным из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации.

[0080] В одном варианте осуществления антитело содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи и последовательность вариабельной области легкой цепи антитела, предусмотренного в данном документе, и выбрано из группы, состоящей из Fab, Fab', F(ab')₂ и scFv-фрагмента.

[0081] В одном варианте осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₁ человека, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации. В одном варианте осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG₁, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.

[0082] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, содержит (a) первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека; и (b) второй антигенсвязывающий домен, который специфически не связывается с антигеном, экспрессируемым иммунной клеткой человека.

[0083] В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит (a) первый вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) 1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO:4); VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO:5); и VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO:6); и (b) первый вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLHNGYNYLD (SEQ ID NO:1); VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO:2); и VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO:3). В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, специфически связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело, содержащее VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16, и VL, содержащий аминокислотную

последовательность под SEQ ID NO:15. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO:55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15.

[0084] В одном варианте осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается антигеном, не являющимся человеческим. В одном варианте осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с вирусным антигеном. В одном варианте осуществления вирусный антиген представляет собой антиген HIV. В одном варианте осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с альбумином курицы или лизоцимом куриного яйца.

[0085] В одном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, содержит (a) первый переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) 1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO:4); VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO:5); и VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO:6); и (b) первый переменный домен легкой цепи (VL), содержащий VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLHNSNGYNYLD (SEQ ID NO:1); VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO:2); и VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO:3). В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, специфически связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело, содержащее VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16, и VL, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, пониженной способностью к

связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO:55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15.

[0086] В одном варианте осуществления вторая тяжелая цепь представляет собой Fc-фрагмент.

[0087] В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:16. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевой линии человека IGHV3-73.

[0088] В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:15. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:3. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:20. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:50. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека,

содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевой линии человека IGKV2-28.

[0089] В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит последовательности VH и VL, изложенные в SEQ ID NO: 16 и 15 соответственно. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60.

[0090] В одном варианте осуществления первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации. В одном варианте осуществления первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, и вторая тяжелая цепь или ее фрагмент содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации. В одном варианте осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, и вторая тяжелая цепь или ее фрагмент содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.

[0091] В одном варианте осуществления антитело является антагонистическим по отношению к OX40 человека. В одном варианте осуществления антитело прекращает, снижает или ингибирует активность OX40 человека. В одном варианте осуществления антитело ингибирует или ослабляет связывание OX40 человека с лигандом OX40 человека. В одном варианте осуществления антитело ингибирует или ослабляет передачу сигнала с участием OX40. В одном варианте осуществления антитело ингибирует или ослабляет передачу сигнала с участием OX40 человека, индуцированную лигандом OX40 человека.

[0092] В одном варианте осуществления антитело содержит выявляемую метку.

[0093] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу по настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного препарата.

[0094] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу по настоящему изобретению для применения в качестве диагностического средства.

[0095] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к

применению антитела по настоящему изобретению для *in vitro* выявления ОХ40 в образце. В одном варианте осуществления ОХ40 представляет собой ОХ40 человека.

[0096] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению антитела по настоящему изобретению для активации, усиления или индукции активности ОХ40 человека *in vitro*. В одном варианте осуществления антитело индуцирует пролиферацию CD4+ Т-клеток *in vitro*.

[0097] В одном аспекте в данном документе предусмотрены выделенные молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие антитела, которые специфически связываются с ОХ40 (например, ОХ40 человека). В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область тяжелой цепи или тяжелую цепь антитела к ОХ40, предусмотренного в данном документе. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область легкой цепи или легкую цепь антитела к ОХ40, предусмотренного в данном документе. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область тяжелой цепи или тяжелую цепь антитела к ОХ40, предусмотренного в данном документе, и переменную область легкой цепи или легкую цепь антитела. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16. В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15. Выделенные антитела, кодируемые такими молекулами нуклеиновых кислот, также предусмотрены в данном документе.

[0098] В одном аспекте в данном документе предусмотрены векторы, содержащие такие молекулы нуклеиновых кислот.

[0099] В одном аспекте в данном документе предусмотрены клетки-хозяева, содержащие такие молекулы нуклеиновых кислот или такие векторы. В одном варианте осуществления клетка-хозяин выбрана из группы, состоящей из клетки *E. coli*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, дрожжевой клетки, CHO, YB/20, NS0, PER-C6, HEK-293T, NIH-3T3, HeLa, BHK, Hep G2, SP2/0, R1.1, B-W, L-M, COS 1, COS 7, BSC1, BSC40, BMT10, клетки растения, клетки насекомого и клетки человека в культуре тканей.

[00100] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы получения антител, которые специфически связываются с ОХ40 (например, ОХ40 человека), включающие культивирование таких клеток-хозяев таким образом, что обеспечивается экспрессия молекулы нуклеиновой кислоты и выработка антитела.

[00101] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу

по настоящему изобретению, молекуле нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, вектору по настоящему изобретению и/или клетке-хозяину по настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного препарата.

[00102] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу по настоящему изобретению, молекуле нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, вектору по настоящему изобретению и/или клетке-хозяину по настоящему изобретению для применения в качестве диагностического средства.

[00103] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению антитела по настоящему изобретению, молекулы нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, вектора по настоящему изобретению и/или клетки-хозяина по настоящему изобретению для выявления *in vitro* OX40 в образце. В одном варианте осуществления OX40 представляет собой OX40 человека.

[00104] В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению антитела по настоящему изобретению для активации, усиления или индукции активности OX40 человека *in vitro*. В одном варианте осуществления антитело индуцирует пролиферацию CD4+ Т-клеток *in vitro*.

[00105] В одном аспекте в данном документе предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие антитело, которое специфически связывается с OX40, предусмотренным в данном документе, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), вектор, содержащий такую молекулу нуклеиновой кислоты или клетку-хозяина, содержащую такую молекулу нуклеиновой кислоты или вектор.

[00106] В одном аспекте в данном документе предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие антитело, которое специфически связывается с OX40, предусмотренным в данном документе, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело, которое специфически связывается с OX40, например, OX40 человека, вектор, содержащий такую молекулу нуклеиновой кислоты или клетку-хозяина, содержащую такую молекулу нуклеиновой кислоты или вектор, для применения в качестве лекарственного препарата.

[00107] В одном аспекте в данном документе предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие антитело, которое специфически связывается с OX40, предусмотренным в данном документе, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело, которое специфически связывается с OX40, например, OX40 человека, вектор, содержащий такую молекулу нуклеиновой кислоты или клетку-хозяина, содержащую такую молекулу нуклеиновой кислоты или вектор, для применения в качестве

диагностического средства.

[00108] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы модулирования иммунного ответа у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе. В одном варианте осуществления способ направлен на усиление или индукцию иммунного ответа субъекта. В одном варианте осуществления модулирование иммунного ответа предусматривает усиление или индукцию иммунного субъекта.

[00109] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе модулирования иммунного ответа.

[00110] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе усиления или индукции иммунного ответа. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00111] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе модулирования иммунного ответа у субъекта.

[00112] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе усиления или индукции иммунного ответа у субъекта. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00113] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе модулирования иммунного ответа у субъекта, включающем введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции по настоящему изобретению.

[00114] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе усиления или индукции иммунного ответа у субъекта, включающем введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00115] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы усиления

размножения Т-клеток и эффекторной функции Т-клеток у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе.

[00116] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе усиления размножения Т-клеток и эффекторной функции Т-клеток. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00117] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе усиления размножения Т-клеток и эффекторной функции Т-клеток у субъекта. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00118] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе усиления размножения Т-клеток и эффекторной функции Т-клеток у субъекта, включающем введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00119] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы лечения рака у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из группы, состоящей из меланомы, рака почки и рака предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из группы, состоящей из меланомы, рака почки, рака предстательной железы, рака толстой кишки и рака легкого. В некоторых вариантах осуществления рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC). В одном примере способ дополнительно включает введение субъекту средства, целенаправленно воздействующего на контрольные точки. В одном примере средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, выбрано из группы, состоящей из антагонистического антитела к PD-1, антагонистического антитела к PD-L1, антагонистического антитела к PD-L2, антагонистического антитела к CTLA-4, антагонистического антитела к TIM-3, антагонистического антитела к LAG-3, антагонистического антитела к CEACAM1, агонистического антитела к GITR, агонистического антитела к CD137 и агонистического антитела к OX40.

[00120] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения рака. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00121] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения рака у субъекта. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00122] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения рака у субъекта, включающем введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00123] В одном аспекте настоящее изобретение относится к (a) антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) средству, целенаправленно воздействующему на контрольные точки, для применения в качестве лекарственного препарата. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00124] В одном аспекте настоящее изобретение относится к (a) антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) средству, целенаправленно воздействующему на контрольные точки, для применения в способе лечения рака. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00125] В одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, набору или составному набору, содержащему (a) антитело, нуклеиновую кислоту, вектор, клетку-хозяин и/или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению и (b) средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки.

[00126] Антитело, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с ингибитором IDO для лечения рака. В одном варианте осуществления способ дополнительно включает введение субъекту ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO). Описанный в данном документе ингибитор IDO для применения при лечении рака находится в твердой лекарственной форме фармацевтической композиции, такой как таблетка, пилюля или капсула, где фармацевтическая композиция содержит ингибитор IDO и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. В связи с этим, антитело,

описанное в данном документе, и ингибитор IDO, описанный в данном документе, могут быть введены отдельно, последовательно или одновременно в виде отдельных лекарственных форм. В одном варианте осуществления антитело вводят парентерально, а ингибитор IDO вводят перорально. В конкретных вариантах осуществления ингибитор выбран из группы, состоящей из эпикадостата (Incyte Corporation), F001287 (Flexus Biosciences), индоксимода (NewLink Genetics) и NLG919 (NewLink Genetics). Эпикадостат был описан в публикации согласно РСТ № WO 2010/005958, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей. В одном варианте осуществления ингибитором является эпикадостат. В другом варианте осуществления ингибитором является F001287. В другом варианте осуществления ингибитором является индоксимод. В другом варианте осуществления ингибитором является NLG919.

[00127] В одном аспекте настоящее изобретение относится к (а) антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) ингибитору IDO для применения в качестве лекарственного препарата.

[00128] В одном аспекте настоящее изобретение относится к (а) антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) ингибитору IDO для применения в способе лечения рака. В одном аспекте настоящее изобретение относится к композиции, набору или составному набору, содержащему (а) антитело, нуклеиновую кислоту, вектор, клетку-хозяин и/или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению и (b) ингибитор IDO.

[00129] Антитело, описанное в данном документе, может быть использовано в комбинации с вакциной. В конкретном варианте осуществления вакцина содержит комплекс белка теплового шока с пептидами (HSPPC), при этом HSPPC содержит белок теплового шока (например, белок gp96, белок hsp70 или белок hsc70), образующий комплекс с одним или несколькими антигенными пептидами (например, опухоль-ассоциированными антигенными пептидами). В одном варианте осуществления белок теплового шока представляет собой белок gp96 и он образует комплекс с опухоль-ассоциированным антигенным пептидом. В одном варианте осуществления белок теплового шока представляет собой белок hsp70 или hsc70 и он образует комплекс с опухоль-ассоциированным антигенным пептидом. В одном варианте осуществления белок теплового шока представляет собой белок gp96 и он образует комплекс с опухоль-ассоциированным антигенным пептидом, при этом HSPPC происходит из опухоли, полученной от субъекта. В одном варианте осуществления белок теплового шока представляет собой белок hsp70 или hsc70 и он образует комплекс с опухоль-ассоциированным антигенным пептидом, при этом HSPPC происходит из опухоли,

полученной от субъекта.

[00130] В одном аспекте настоящее изобретение относится к (а) антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) вакцине для применения в качестве лекарственного препарата. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00131] В одном аспекте настоящее изобретение относится к (а) антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) вакцине для применения в способе лечения рака. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00132] В одном аспекте настоящее изобретение относится к композиции, набору или составному набору, содержащему (а) антитело, нуклеиновую кислоту, вектор, клетку-хозяин и/или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению и (b) вакцину. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим.

[00133] В некоторых вариантах осуществления в настоящем раскрытии предусмотрено применение антитела, описанного в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака. В определенных вариантах осуществления в настоящем раскрытии предусмотрено антитело, описанное в данном документе, для применения в лечении рака. В определенных вариантах осуществления в настоящем раскрытии предусмотрено применение фармацевтической композиции, описанной в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для лечения рака. В определенных вариантах осуществления в настоящем раскрытии предусмотрена фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, для применения в лечении рака.

[00134] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение выбрано из группы, состоящей из отторжения трансплантата, васкулита, астмы, ревматоидного артрита, дерматита, воспалительного заболевания кишечника, увеита и волчанки.

[00135] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения. В одном варианте осуществления антитело является антагонистическим.

[00136] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой

кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения у субъекта. В одном варианте осуществления антитело является антагонистическим.

[00137] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения у субъекта, включающем введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления антитело является антагонистическим.

[00138] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы лечения инфекционного заболевания у субъекта, включающие введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе.

[00139] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения инфекционного заболевания. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим. В одном варианте осуществления антитело является антагонистическим.

[00140] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения инфекционного заболевания у субъекта. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим. В одном варианте осуществления антитело является антагонистическим.

[00141] В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу, нуклеиновой кислоте, вектору, клетке-хозяину и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения инфекционного заболевания у субъекта, включающем введение субъекту эффективного количества антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина и/или фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления антитело является агонистическим. В одном варианте осуществления антитело является антагонистическим.

[00142] В одном варианте осуществления способов, предусмотренных в данном документе, субъект представляет собой человека.

[00143] В одном аспекте предусмотрены способы выявления OX40 в образце,

включающие приведение указанного образца в контакт с антителом, предусмотренным в данном документе.

[00144] В одном аспекте предусмотрены способы *in vitro* выявления ОХ40 в образце, включающие приведение указанного образца в контакт с антителом, предусмотренным в данном документе. В одном варианте осуществления ОХ40 представляет собой ОХ40 человека.

[00145] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы *in vitro* выявления ОХ40 в образце, включающие приведение указанного образца в контакт с антителом, нуклеиновой кислотой, вектором, клеткой-хозяином и фармацевтической композицией, предусмотренными в данном документе. В одном варианте осуществления ОХ40 представляет собой ОХ40 человека.

[00146] В одном аспекте в данном документе предусмотрено применение антитела, нуклеиновой кислоты, вектора, клетки-хозяина и/или фармацевтической композиции, предусмотренных в данном документе, предпочтительно антитела, предусмотренного в данном документе, для *in vitro* выявления ОХ40 в образце.

[00147] В одном аспекте в данном документе предусмотрено антитело, нуклеиновая кислота, вектор, клетка-хозяин и/или фармацевтическая композиция, предусмотренные в данном документе, предпочтительно антитело, предусмотренное в данном документе, для применения при выявлении ОХ40 у субъекта. В одном варианте осуществления субъектом является человек.

[00148] В одном аспекте в данном документе предусмотрены наборы, содержащие антитело, которое специфически связывается с ОХ40, предусмотренным в данном документе, молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело, которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), вектор, содержащий такую молекулу нуклеиновой кислоты, клетку-хозяина, содержащую такую молекулу нуклеиновой кислоты или вектор, или фармацевтическую композицию, содержащую такое антитело, молекулу нуклеиновой кислоты, вектор или клетку-хозяина, и а) реагент для выявления, б) антиген ОХ40, с) уведомление, в котором отражено разрешение на применение или продажу для введения человеку, или d) их комбинацию.

4. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[00149] **Фигуры 1А, 1В, 1С, 1D и 1Е:** на фигуре 1А представлены две гистограммы, демонстрирующие связывание антитела к ОХ40 rab1949 и изотипического контроля с активированными CD4⁺ Т-клетками и CD8⁺ Т-клетками человека. На фигуре 1В представлены две гистограммы, демонстрирующие связывание rab1949-1 и изотипического контроля с нестимулированными и стимулированными (с помощью

антитела к CD3) CD4+ Т-клетками. На фигуре 1С представлен график, демонстрирующий связывание rab1949-1 или изотипического контроля с титрованием дозы с активированными CD4+ Т-клетками человека. На фигуре 1D представлен набор гистограмм, на которых показано измерение связывания rab1949-1 и изотипического контроля с популяциями нестимулированных иммунных клеток человека, полученных из крови. На фигуре 1E представлена гистограмма, демонстрирующая связывание rab1949 и изотипического контроля с активированными CD4+ Т-клетками макака-крабоеда (*Macaca fascicularis*).

[00150] На **фигурах 2А, 2В и 2С** представлены графики результатов анализов субоптимальной стимуляции CD3 для оценки эффектов стимуляции антителами к OX40 rab1949 (фигуры 2А и 2С) и rab2044 (фигура 2В) в отношении пролиферации подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток. Антитело rab1949 представляет собой антитело IgG₁ человека. Антитело rab2044 имеет такую же переменную область тяжелой цепи и такую же легкую цепь, что и rab1949, однако содержит константную область IgG₄ человека. Клеточная пролиферация (CFSE; ось x) показана для каждого исследуемого антитела: изотипического контроля IgG₁, rab1949 и антитела к CD28 в качестве положительного контроля на фигуре 2А; и изотипического контроля IgG₄, rab2044 и антитела к CD28 на фигуре 2В. На фигуре 2С представлен линейный график, демонстрирующий титрование антитела к OX40 rab1949 (0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл) и эффект антитела в отношении пролиферации подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток при субоптимальной стимуляции антителом к CD3.

[00151] На **фигурах 3А, 3В, 3С, 3D, 3Е и 3F** представлены репрезентативные результаты анализов продукции цитокинов IFN γ и TNF α , индуцированной антителом к OX40 rab1949 или rab1949-1 в комбинации с различными субоптимальными концентрациями антитела к CD3 и IL-2. На фигурах 3А-3С показаны результаты тестирования РВМС от четырех различных доноров: донора КМ, донора ТМ, донора GS и донора SB. На фигурах 3А и 3В представлены графики, на которых показано внутриклеточное окрашивание цитокинов (IFN γ и TNF α) CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток от донора SB (фигура 3А) и донора GS (фигура 3В). Процентные доли IFN γ + TNF α + полифункциональных CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток или TNF α + монофункциональных CD4+ Т-клеток и CD8+ Т-клеток представлены на графике для антитела к OX40 rab1949 или изотипического контроля (фигура 3С). Процентные доли, показанные на фигуре 3С, отображают наибольший эффект, полученный при стимуляции тремя различными концентрациями антитела к CD3. Планки погрешностей представляют собой стандартное отклонение (n=2). На фигурах 3D, 3Е и 3F представлен набор графиков, демонстрирующих процентные доли TNF α + CD4+ Т-клеток (фигура 3D),

IFN γ ⁺ TNF α ⁺ полифункциональных CD8⁺ Т-клеток (фигура 3E) и IFN γ ⁺ CD8⁺ Т-клеток (фигура 3F), индуцированных антителом к OX40 rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ с титрованием дозы в клетках, происходящих из PBMC донора GS, в аналогичном анализе со стимуляцией субоптимальными концентрациями антитела к CD3.

[00152] На **фигурах 4A, 4B и 4C** представлен набор графиков, демонстрирующих результаты анализа со стимуляцией субоптимальными концентрациями антитела к CD3 с использованием клеток, происходящих из PBMC от доноров 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9 и 10. Процентная доля IFN γ ⁺, TNF α ⁺ или IFN γ ⁺ TNF α ⁺ полифункциональных CD4⁺ или CD8⁺ Т-клеток представлена на графике в зависимости от диапазона концентраций антитела rab1949-1 или антитела изотипического контроля IgG₁.

[00153] На **фигуре 5A** представлен набор столбиковых диаграмм, демонстрирующих эффект антитела к OX40 rab1949 или изотипического контроля в отношении секреции панели цитокинов (IL-2, TNF α , IL-10, IL-4 и IL-13) в анализе со стимуляцией субоптимальными концентрациями антитела к CD3 с использованием PBMC от донора SB и донора GS. PBMC от здоровых доноров активировали с помощью различных субоптимальных концентраций антитела к CD3 (клон SP34), IL2 (20 ЕД/мл) и 5 мкг/мл антитела к OX40 или изотипического контроля IgG₁, и цитокины измеряли через каждые 4 дня (SB#1A) или 3 дня (SB#1B, SB#2 и GS) после стимуляции. Столбики на **фигуре 5A** демонстрируют самую высокую секрецию цитокинов, индуцированную исследуемыми концентрациями антитела к CD3 при концентрации антитела к OX40, составляющей 5 мкг/мл. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение (n=2). На **фигурах 5B, 5C и 5D** представлен набор графиков, демонстрирующих количество секретируемых цитокинов (TNF α , IL-10 или IL-13), индуцированных различными концентрациями rab1949-1 или антитела изотипического контроля IgG₁ в клетках, происходящих из PBMC донора GS в присутствии субоптимальных концентраций антитела к CD3.

[00154] На **фигурах 6A, 6B и 6C** представлен набор графиков, демонстрирующих количество секретируемого GM-CSF, индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического контроля с титрованием дозы в клетках, происходящих из PBMC доноров 1-10, в анализе со стимуляцией субоптимальными концентрациями антитела к CD3. ECL относится к электрохемилюминесценции.

[00155] **Фигуры 7A, 7B и 7C** аналогичны фигурам 6A, 6B и 6C, где показано количество секретируемого IL-2, индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁, с титрованием дозы. ECL относится к электрохемилюминесценции.

[00156] **Фигуры 8A, 8B и 8C** аналогичны фигурам 6A, 6B и 6C, где показано количество секретируемого TNF β , индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического

контроля IgG₁, с титрованием дозы.

[00157] На **фигурах 9А и 9В** представлены столбиковые диаграммы, демонстрирующие продукцию IL-2 (фигура 9А) и IL-10 (фигура 9В), индуцированную либо растворимым или перекрестно сшитым (с помощью F(ab')₂, связывающегося с Fc) rab1949-1, либо антителом изотипического контроля IgG₁, регуляторными Т-клетками (Treg) и эффекторными Т-клетками (Teff), культивируемыми совместно в соотношении 1:3 (Treg: Teff).

[00158] На **фигурах 10А, 10В, 10С, 10D, 10Е, 10F и 10G** представлены графики, изображающие функциональную активность антител к OX40 по отношению к первичных РВМС человека при стимуляции стафилококковым энтеротоксином А (SEA). РВМС человека стимулировали SEA в отсутствии или в присутствии фиксированной концентрации (10 мкг/мл) или различных концентраций антитела к OX40 или его изотипического контроля и оценивали в отношении секреции цитокинов IL-2 или IL-10. Исследуемые антитела к OX40 включают rab1949, rab1949-1, rab2193-1, rab1949-1-N297А и эталонные антитела rab1784 и rab2045. Кратность изменения IL-2 (фигура 10А) и IL-10 (фигура 10В) при концентрации антитела к OX40, составляющей 10 мкг/мл, представлена на графике для исследуемых антител. На фигурах 10С, 10D и 10Е представлены кривые доза-ответ, демонстрирующие кратность изменения продукции IL-2 при различных концентрациях rab1949, rab1949-1 или эталонных антител rab1784 и rab2045. Статистическую значимость определяли с помощью критерия Стьюдента по сравнению с образцами изотипического контроля, указанными звездочкой. Планки погрешностей представляют собой стандартное отклонение для трехкратных повторов. * на фигуре 10А представлено значение $p < 0,001$. * на фигуре 10В представлено значение $p < 0,01$. На фигуре 10F представлен график, демонстрирующий продукцию IL-2, индуцированную rab1949-1, rab2193-1, антителом изотипического контроля IgG₁ или антителом изотипического контроля IgG₂ с титрованием дозы. На фигуре 10G представлен график, демонстрирующий продукцию IL-2 в ответ на rab1949-1, rab1949-1-N297А с титрованием дозы или антитело изотипического контроля IgG₁.

[00159] На **фигурах 11А и 11В** представлены результаты анализа, в котором растворимое (в растворимом состоянии, фигура 11А) или перекрестносшитое (в связанном в комплекс состоянии, фигура 11В) rab1949-1 или антитело изотипического контроля IgG₁ исследовали с использованием клеточной линии с репортерной системой NF-κB-люцифераза, экспрессирующей OX40. Относительные световые единицы (RLU) представлены на графике в зависимости от различных исследуемых концентраций антител.

[00160] На **фигурах 12А и 12В** представлены результаты анализов с использованием репортерных генов, в которых антитела к OX40 исследовали на предмет их способности

активировать клетки с репортерной системой, экспрессирующие FcγRIIIА (фигура 12А) или вариант FcγRIIIА^{H131} (фигура 12В), при связывании антител с ОХ40-экспрессирующими целевыми клетками. На фигуре 12А значения Δ RLU представлены на графике в зависимости от различных концентраций rab1949-1 и rab2044-1. Δ RLU представляет разницу RLU антитела к ОХ40 и изотипического контроля. На фигуре 12В, значения RLU представлены на графике в зависимости от возрастающих концентраций rab1949-1, rab1949-1-S267E/L328F, rab2193-1, антитела изотипического контроля IgG₁ или антитела изотипического контроля IgG₂.

[00161] На **фигуре 13А** представлена столбиковая диаграмма, на которой показаны значения Δ MFI ОХ40 человека на nTreg, CD4+ Т-клетках или CD8+ Т-клетках от здоровых доноров, активированных с использованием гранул с антителами к CD3/CD28, как измерено с помощью проточной цитометрии. Δ MFI представляет разницу MFI антитела к ОХ40 и MFI изотипического контроля. Используемым антителом к ОХ40 было РЕ-конъюгированное антитело мыши к ОХ40 человека (Biolegend: АСТ35; каталог: 350004; партия: В181090). На **фигуре 13В** представлена столбиковая диаграмма, на которой показаны значения Δ MFI ОХ40 человека на активированных nTreg и эффекторных Т-клетках от двух здоровых доноров. Клетки окрашивали коммерческим антителом к ОХ40 (клон ВЕР-АСТ35) или антителом изотипического контроля и анализировали с помощью проточной цитометрии. На **фигуре 13С** представлен график результатов исследования антитела к ОХ40 rab1949 с использованием репортерной клеточной линии, экспрессирующей Fc-гамма рецептор IIIА (FcγRIIIА). Клетки Jurkat с репортерной системой NFAT-люцифераза, сверхэкспрессирующие FcγRIIIА (полиморфизм 158 V/V) совместно культивировали с активированными первичными nTreg и эффекторными Т-клетками в течение 20 часов при температуре 37°C в присутствии rab1949 или изотипического контроля. Через 20 часов фиксировали относительные световые единицы (RLU), отображающие связывание FcγRIIIА. Δ RLU представляет разницу RLU антитела к ОХ40 и изотипического контроля. Планки погрешностей представляют стандартное отклонение (n=2). Представленные данные характерны для экспериментов, в которых использовались клетки от трех доноров. **Фигура 13D** аналогична фигуре 13С, где показаны результаты исследования, в котором изучают rab1949-1 с использованием модифицированного протокола.

[00162] На **фигуре 14А** представлен набор гистограмм, показывающий поверхностную экспрессию ОХ40, измеренную с помощью проточной цитометрии. Образцы собирали из крови здоровых доноров-людей (а-с, n=3) или из опухолевых тканей пациентов с немелкоклеточным раком легких (NSCLC) (d-f, n=3). Популяции клеток определяли как

Tconv (CD3+, CD4+, CD8a-, CD25low и FOXP3-) или Treg (CD3+, CD4+, CD8a-, CD25high и FOXP3+). На **фигуре 14B** представлены две гистограммы из исследования, аналогичного представленному на **фигуре 14A**, в котором измеряется поверхностная экспрессия OX40 на CD8+ или CD4+ Т-клетках или клетках Treg из образцов рака эндометрия. На **фигуре 14C** представлена столбиковая диаграмма, демонстрирующая экспрессию OX40 на клетках Treg и клетках Teff различных типов опухолей. На **фигуре 14D** представлена таблица, обобщающая результаты по экспрессии OX40 на опухоль-ассоциированных CD4+ клетках Teff и клетках Treg. «-» представляет отрицательный результат по экспрессии/отсутствию экспрессии, «+» представляет слабую экспрессию, «++» представляет среднюю экспрессию и «+++» представляет высокую экспрессию.

[00163] На **фигурах 15A и 15B** представлен набор графиков, демонстрирующих количество секретируемого GM-CSF, индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ с титрованием дозы в клетках, происходящих из РВМС макака-крабоеда. Следует отметить, что Суно 2 и Суно 9 относятся к РВМС от одного и того же макака-крабоеда, исследованных в независимых экспериментах. Все остальные образцы РВМС собирали от других доноров-макаков-крабоедов.

[00164] **Фигуры 16A и 16B** аналогичны фигурам 15A и 15B, где показано количество секретируемого IL-17, индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ с титрованием дозы.

[00165] **Фигуры 17A и 17B** аналогичны фигурам 15A и 15B, где показано количество секретируемого TNF β , индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ с титрованием дозы.

[00166] **Фигуры 18A и 18B** аналогичны фигурам 15A и 15B, где показано количество секретируемого IL-5, индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ с титрованием дозы.

[00167] **Фигуры 19A и 19B** аналогичны фигурам 15A и 15B, где показано количество секретируемого IL-10, индуцированного rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ с титрованием дозы.

[00168] На **фигуре 20A и 20B** представлены два графика, демонстрирующие результаты анализа, где исследуют функциональную активность антитела к OX40 rab1949-1 в отношении первичных РВМС макака-крабоеда при стимуляции стафилококковым энтеротоксином А (SEA). Количество IL-2, секретируемого РВМС от двух доноров-макаков-крабоедов, представлено на графике в зависимости от титрования дозы rab1949-1 или антитела изотипического контроля IgG₁.

[00169] На **фигуре 21** представлена таблица, обобщающая результаты по связыванию

моноклональных антител к ОХ40 rab1949-1 и rab1928 с клетками 1624-5, экспрессирующими мутантные по аланину варианты ОХ40 человека.

5. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[00170] В данном документе предусмотрены антитела (например, моноклональные антитела), которые специфически связываются с ОХ40 (например, ОХ40 человека) и модулируют активность ОХ40. Например, в одном аспекте в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с ОХ40 и усиливают, индуцируют или повышают одну или несколько видов активности ОХ40. Например, в другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с ОХ40 (например, ОХ40 человека) и устраняют, снижают или ингибируют одну или несколько видов активности ОХ40. В конкретном варианте осуществления антитела являются выделенными.

[00171] В данном документе также предусмотрены выделенные нуклеиновые кислоты (полинуклеотиды), такие как комплементарная ДНК (кДНК), кодирующие такие антитела. Дополнительно предусмотрены векторы (например, векторы экспрессии) и клетки (например, клетки-хозяева), содержащие нуклеиновые кислоты (полинуклеотиды), кодирующие такие антитела. Также предусмотрены способы получения таких антител. В других аспектах в данном документе предусмотрены способы и применения индукции, повышения или усиления активности ОХ40 и лечения определенных состояний, таких как рак. Дополнительно предусмотрены способы и применения устранения, снижения или ингибирования активности ОХ40 (например, ОХ40 человека) и лечения определенных состояний, таких как воспалительные или аутоиммунные заболевания и нарушения. Также предусмотрены соответствующие композиции (например, фармацевтические композиции), наборы и способы выявления.

5.1 Терминология

[00172] Используемые в данном документе термины "приблизительно" и "примерно" при использовании с целью модификации числового значения или числового диапазона указывают на то, что отклонения от 5% до 10% выше и от 5% до 10% ниже значения или диапазона остаются в пределах подразумеваемого значения упомянутого значения или диапазона.

[00173] Как используется в данном документе, В представляет собой "возрастающую в значительной степени функцию" от А в пределах определенной области значений А, если В существенно возрастает по мере того, как возрастает А в пределах определенной области, например, в определенном эксперименте, или при использовании средних значений из нескольких экспериментов. Это определение предусматривает, что значение В,

соответствующее определенному значению А, должно быть до 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15% или 20% включительно ниже по отношению к значению В, соответствующему любому более низкому значению А.

[00174] Используемые в данном документе термины "антитело" и "антитела" представляют собой термины из уровня техники и могут быть использованы взаимозаменяемо в данном документе, и они относятся к молекуле с антигенсвязывающим сайтом, который специфически связывает антиген.

[00175] Антитела могут включать, например, моноклональные антитела, полученные рекомбинантным путем антитела, антитела человека, гуманизированные антитела, антитела с измененной поверхностью, химерные антитела, иммуноглобулины, синтетические антитела, тетрамерные антитела, содержащие молекулы из двух тяжелых цепей и двух легких цепей, мономер легкой цепи антитела, мономер тяжелой цепи антитела, димер легкой цепи антитела, димер тяжелой цепи антитела, пару легкая цепь антитела-тяжелая цепь антитела, интратела, гетероконъюгаты антител, однодоменные антитела, моновалентные антитела, одноцепочечные антитела или одноцепочечные Fv (scFv), камелизированные антитела, аффитела, Fab-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, связанные дисульфидными связями Fv (sdFv), антиидиотипические (анти-Id) антитела (в том числе, например, антитела к анти-Id), биспецифические антитела и мультиспецифические антитела. В определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, относятся к популяциям поликлональных антител. Антитела могут принадлежать к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY), любому классу (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ или IgA₂) или любому подклассу (например, IgG_{2a} или IgG_{2b}) молекул иммуноглобулинов. В определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, представляют собой IgG-антитела или их класс (например, IgG₁, IgG₂ или IgG₄ человека) или подкласс. В конкретном варианте осуществления антитело представляет собой гуманизированное моноклональное антитело. В другом конкретном варианте осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело человека, например, это иммуноглобулин. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, представляет собой IgG₁-, IgG₂- или IgG₄-антитело.

[00176] Используемые в данном документе термины "антигенсвязывающий домен", "антигенсвязывающая область", "антигенсвязывающий сайт" и аналогичные термины относятся к части молекул антител, которая содержит аминокислотные остатки, которые придают молекуле антитела его специфичность к антигену (например, определяющие комплементарность области (CDR)). Антигенсвязывающая область может быть получена

от различных видов животных, таких как грызуны (например, мышь, крыса или хомяк) и люди.

[00177] Используемые в данном документе термины "вариабельная область" или "вариабельный домен" используются взаимозаменяемо и являются общепринятыми в данной области техники. Вариабельная область обычно относится к части антитела, как правило, части легкой или тяжелой цепи, обычно приблизительно аминоконцевым 110-120 аминокислотам или 110-125 аминокислотам в зрелой тяжелой цепи и приблизительно 90-115 аминокислотам в зрелой легкой цепи, которые значительно отличаются по последовательности среди антител и отвечают за связывание и специфичность определенного антитела к своему определенному антигену. Вариабельность последовательности сконцентрирована в таких областях, которые называются определяющими комплементарность областями (CDR), тогда как более высококонсервативные области в вариабельном домене называются каркасными областями (FR). Без привязки к какому-либо конкретному механизму или теории, считается, что CDR легкой и тяжелой цепей преимущественно отвечают за взаимодействие антитела с антигеном и его специфичность. В определенных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой вариабельную область человека. В определенных вариантах осуществления вариабельная область содержит CDR грызуна или мыши и каркасные области (FR) человека. В конкретных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой вариабельную область примата (например, примата, отличного от человека). В определенных вариантах осуществления вариабельная область содержит CDR грызуна или мыши и каркасные области (FR) примата (например, примата, отличного от человека).

[00178] Термины "VL-" и "VL-домен" используются взаимозаменяемо для обозначения вариабельной области легкой цепи антитела.

[00179] Термины "VH-" и "VH-домен" используются взаимозаменяемо для обозначения вариабельной области тяжелой цепи антитела.

[00180] Термин "нумерация по Kabat" и подобные термины являются общепризнанными в данной области техники и относятся к системе нумерации аминокислотных остатков в вариабельных областях тяжелой и легкой цепей антитела или его антигенсвязывающей части. В определенных аспектах CDR антитела могут быть определены согласно системе нумерации по Kabat (см., например, Kabat EA & Wu TT (1971) *Ann NY Acad Sci* 190: 382-391 и Kabat EA *et al.*, (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). При использовании системы нумерации по Kabat CDR в молекуле тяжелой цепи антитела обычно присутствуют

в пределах аминокислотных положений 31-35, которые необязательно могут включать одну или две дополнительные аминокислоты, расположенные после 35 (обозначаемые в схеме нумерации по Kabat как 35A и 35B) (CDR1), в пределах аминокислотных положений 50-65 (CDR2) и в пределах аминокислотных положений 95-102 (CDR3). При использовании системы нумерации по Kabat CDR в молекуле легкой цепи антитела обычно присутствуют в пределах аминокислотных положений 24-34 (CDR1), в пределах аминокислотных положений 50-56 (CDR2) и в пределах аминокислотных положений 89-97 (CDR3). В конкретном варианте осуществления CDR антител, описанных в данном документе, были определены согласно системе нумерации по Kabat.

[00181] Используемый в данном документе термин "константная область" или "константный домен" являются взаимозаменяемыми и имеют их значение, общепринятое в данной области техники. Константная область представляет собой часть антитела, например, карбокси-концевую часть легкой и/или тяжелой цепи, которая непосредственно не участвует в связывании антитела с антигеном, но которая может характеризоваться различными эффекторными функциями, такими как взаимодействие с Fc-рецептором. Константная область молекулы иммуноглобулина, как правило, имеет более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с переменным доменом иммуноглобулина.

[00182] Используемый в данном документе термин "тяжелая цепь" при использовании по отношению к антителу может относиться к любому отдельному типу, например, альфа (α), дельта (δ), эпсилон (ϵ), гамма (γ) и мю (μ), на основании аминокислотной последовательности константного домена, которые определяют классы IgA, IgD, IgE, IgG и IgM антител соответственно, в том числе подклассы IgG, например, IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄.

[00183] Используемый в данном документе термин "легкая цепь" при использовании по отношению к антителу, может относиться к любому отдельному типу, например, каппа (κ) или лямбда (λ), на основании аминокислотной последовательности константных доменов. Аминокислотные последовательности легкой цепи хорошо известны в данной области техники. В конкретных вариантах осуществления легкая цепь представляет собой легкую цепь человека.

[00184] "Аффинность связывания", как правило, относится к силе суммы всех нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антитела) и его партнером по связыванию (например, антигеном). Если не указано иное, как используется в данном документе, "аффинность связывания" относится к присущей связывающей способности, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами связывающейся пары (например, антителом и антигеном). В основном аффинность

молекулы X к ее партнеру Y можно представить константой диссоциации (K_D). Аффинность может быть измерена и/или выражена рядом способов, известных в данной области техники, в том числе без ограничения с помощью равновесной константы диссоциации (K_D) и равновесной константы ассоциации (K_A). K_D рассчитывают исходя из отношения k_{off}/k_{on} , тогда как K_A рассчитывают исходя из отношения k_{on}/k_{off} . k_{on} относится к константе скорости ассоциации, например, антитела и антигена, и k_{off} относится к диссоциации, например, антитела и антигена. k_{on} и k_{off} могут быть определены с помощью методик, известных специалисту в данной области техники, таких как BIAcore® или KinExA.

[00185] Как используется в данном документе, "консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, при которой аминокислотный остаток замещен аминокислотным остатком с аналогичной боковой цепью. В данной области техники были описаны семейства аминокислотных остатков, имеющих боковые цепи. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). В определенных вариантах осуществления один или несколько аминокислотных остатков в CDR или в каркасной(каркасных) области(областях) антитела могут быть замещены аминокислотным остатком с аналогичной боковой цепью.

[00186] Как используется в данном документе, "эпитоп" представляет собой термин из уровня техники и относится к ограниченной области антигена, с которым антитело может специфически связываться. Эпитоп могут образовывать, например, смежные аминокислоты полипептида (линейный или смежный эпитоп) или эпитоп может образовываться одновременно из двух или более несмежных областей полипептида или полипептидов (конформационный, нелинейный, прерывистый или несмежный эпитоп). В определенных вариантах осуществления эпитоп, с которым связывается антитело, может быть определен, например, с помощью ЯМР-спектроскопии, рентгенокристаллографических исследований, ELISA-анализов, водород-дейтериевого обмена в сочетании с масс-спектрометрией (например, жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением), сканирующих анализов олигопептидов на основе массивов и/или картирования с помощью мутагенеза (например, картирования с

помощью сайт-направленного мутагенеза). В случае рентгеновской кристаллографии кристаллизация может быть выполнена с помощью любого из известных способов в данной области техники (например, Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303). Кристаллы антитело-антиген могут быть изучены с помощью хорошо известных методик рентгенодифракции и могут быть уточнены с помощью компьютерной программы, такой как X-PLOR (Yale University, 1992, продаваемой Molecular Simulations, Inc.; см., например, *Meth Enzymol* (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*; патентная заявка США № 2004/0014194), и BUSTER (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323). Исследования с картированием с применением мутагенеза можно проводить с помощью любого способа, известного специалисту в данной области техники. См., например, Champe M *et al.*, (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394 и Cunningham BC & Wells JA (1989) *Science* 244: 1081-1085 касательно описания методик мутагенеза, в том числе методик аланин-сканирующего мутагенеза. В определенном варианте осуществления эпитоп для антитела определяют с помощью исследований с аланин-сканирующим мутагенезом.

[00187] Используемые в данном документе термины "иммуноспецифично связывается", "иммуноспецифично распознает", "специфически связывается" и "специфически распознает" являются аналогичными терминами в контексте антител и относятся к молекулам, которые связываются с антигеном (*например*, эпитопу или иммунному комплексу), в том смысле, в котором связывание понимается специалистом в данной области техники. Например, молекула, которая специфически связывается с антигеном, может связываться с другими пептидами или полипептидами, как правило, с более низкой аффинностью, что определяют, например, с помощью иммунологических анализов, BIAcore[®], прибора KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Бойсе, Айдахо) или других анализов, известных в данной области техники. В конкретном варианте осуществления молекулы, которые иммуноспецифично связываются с антигеном, связываются с антигеном с K_A , которая составляет по меньшей мере $2 \log$, $2,5 \log$, $3 \log$, $4 \log$ или более чем K_A в том случае, когда молекулы связываются неспецифично с другими антигеном. В контексте антител с антигенсвязывающим доменом антитела к OX40 и вторым антигенсвязывающим доменом, который не связывается специфически с антигеном, экспрессируемым иммунной клеткой человека, выражения "иммуноспецифично связывается", "иммуноспецифично распознает", "специфически связывается" и "специфически распознает" относятся к антителам, которые

характеризуются отличающимися видами специфичности в отношении нескольких антигенов (т. е., ОХ40 и антигена, ассоциированного со вторым антигенсвязывающим доменом).

[00188] В другом конкретном варианте осуществления молекулы, которые иммуноспецифично связываются с антигеном, не реагируют перекрестно с другими белками в аналогичных условиях связывания. В другом конкретном варианте осуществления молекулы, которые иммуноспецифично связываются с антигеном, не реагируют перекрестно с другими не относящимися к ОХ40 белками. В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое связывается с ОХ40 с более высокой аффинностью, чем с другим неродственным антигеном. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека) с 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более высокой аффинностью по сравнению с другим, неродственным антигеном, что измеряют, например, с помощью радиоиммунологического анализа, поверхностного плазмонного резонанса или анализа кинетического исключения. В конкретном варианте осуществления степень связывания антитела к ОХ40, описанного в данном документе, с неродственным, не относящимся к ОХ40 белком, составляет менее 10%, 15% или 20% от связывания антитела с белком ОХ40, что определяют, например, с помощью радиоиммунологического анализа.

[00189] В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое связывается с ОХ40 человека с более высокой аффинностью, чем с ОХ40 других видов. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое связывается с ОХ40 человека с 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или более высокой аффинностью, чем с ОХ40 других видов, что измеряют, например, с помощью радиоиммунологического анализа, поверхностного плазмонного резонанса или анализа кинетического исключения. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое связывается с ОХ40 человека, будет связываться с белком ОХ40 других видов с менее 10%, 15% или 20% от связывания антитела по сравнению с белком ОХ40 человека, что измеряют, например, с помощью радиоиммунологического анализа, поверхностного плазмонного резонанса или анализа кинетического исключения.

[00190] Используемые в данном документе термины "рецептор ОХ40", или "ОХ40", или "полипептид ОХ40" относятся к ОХ40, в том числе без ограничения к нативному ОХ40, изоформе ОХ40 или межвидовому гомологу ОХ40. ОХ40 также известен как член 4 суперсемейства факторов некроза опухоли (TNFRSF4), АСТ35, CD134, IMD16 и TXGP1L.

Номера доступа в GenBank™ BC105070 и BC105072 представляют последовательности нуклеиновой кислоты OX40 человека. Номер в Refseq NP_003318.1 представляет аминокислотную последовательность OX40 человека. Незрелая аминокислотная последовательность OX40 человека представлена под SEQ ID NO: 17. Зрелая аминокислотная последовательность OX40 человека представлена под SEQ ID NO: 55. OX40 человека обозначается GeneID: 7293 согласно Entrez Gene. Номера в RefSeq XM_005545122.1 и XP_005545179.1 представляют прогнозируемые последовательности нуклеиновой кислоты и аминокислотные последовательности OX40 макака-крабеда соответственно. Также была описана растворимая изоформа OX40 человека (Taylor L *et al.*, (2001) J Immunol Methods 255: 67-72). Используемый в данном документе термин "OX40 человека" относится к OX40, содержащему полипептидную последовательность под SEQ ID NO:55.

[00191] Используемые в данном документе термины "лиганд OX40" и "OX40L" относятся к члену 4 суперсемейства факторов некроза опухоли (TNFSF4). OX40L также известен как CD252, GP34, TXGP1 и CD134L. Номера доступа в GenBank™ D90224.1 и AK297932.1 представляют иллюстративные последовательности нуклеиновой кислоты OX40L человека. Номер в RefSeq NP_003317.1 и номер доступа в Swiss-Prot P23510-1 представляют иллюстративные аминокислотные последовательности OX40L человека для изоформы 1. Номер в RefSeq NP_001284491.1 и номер доступа в Swiss-Prot P23510-2 представляют иллюстративные аминокислотные последовательности OX40L человека для изоформы 2. OX40L человека обозначается GeneID: 7292 согласно Entrez Gene. В конкретном варианте осуществления OX40L представляет собой изоформу 1 OX40L человека под SEQ ID NO: 42 или изоформу 2 человека под SEQ ID NO: 43.

[00192] Используемый в данном документе термин "клетка-хозяин" может означать клетку любого типа, например, первичную клетку, клетку в культуре или клетку из клеточной линии. В конкретных вариантах осуществления термин "клетка-хозяин" относится к клетке, трансфицируемой молекулой нуклеиновой кислоты, или потомству или потенциальному потомству такой клетки. Потомство такой клетки может не быть идентичным родительской клетке, трансфицированной молекулой нуклеиновой кислоты, например, в связи с мутациями или воздействиями окружающей среды, которые могут иметь место в последующих поколениях, или интеграцией молекулы нуклеиновой кислоты в геном клетки-хозяина.

[00193] Используемый в данном документе термин "эффективное количество" в контексте введения терапевтического средства субъекту относится к количеству терапевтического средства, которое обеспечивает желаемый профилактический или

терапевтический эффект. Примеры эффективных количеств представлены в разделе 5.5.1.3 ниже.

[00194] Используемые в данном документе термины "субъект" и "пациент" используются взаимозаменяемо. Субъектом может быть животное. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой млекопитающее, такое как млекопитающее, отличное от примата (например, корова, свинья, лошадь, кошка, собака, крыса и т. п.), или примата (например, обезьяна или человек), наиболее предпочтительно человека. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой макака-крабоведа. В определенных вариантах осуществления такие термины относятся к животному, отличному от человека (например, животному, отличному от человека, такому как свинья, лошадь, корова, кошка или собака). В некоторых вариантах осуществления такие термины относятся к домашнему или сельскохозяйственному животному. В конкретных вариантах осуществления такие термины относятся к человеку.

[00195] Как используется в данном документе, связывание между тестируемым антителом и первым антигеном является "существенно ослабленным" по сравнению со связыванием между тестируемым антителом и вторым антигеном, если связывание между тестируемым антителом и первым антигеном снижено на по меньшей мере 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% по сравнению со связыванием с тестируемым антителом и вторым антигеном, что измеряют, например, с помощью проточной цитометрии.

[00196] Определение "процентной идентичности" между двумя последовательностями (например, аминокислотными последовательностями или последовательностями нуклеиновых кислот) может быть выполнено с помощью математического алгоритма. Конкретным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, является алгоритм Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268, модифицированный, как в Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST Altschul SF *et al.*, (1990) J Mol Biol 215: 403. Поиски нуклеотидов в BLAST можно проводить с набором параметров программы NBLAST для нуклеотидов, установленными, например, для балла =100, длины слова =12, для нахождения нуклеотидных последовательностей, гомологичных молекулам нуклеиновой кислоты, описанным в данном документе. Поиски белков в BLAST можно проводить с набором параметров программы XBLAST, установленными, например, для балла =50, длины слова = 3, для нахождения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекуле белка, описанной в данном документе. Для получения выравниваний с гэпами с целью сравнения можно использовать BLAST с гэпами, описанный в Altschul SF *et al.*, (1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402.

Альтернативно, PSI-BLAST можно использовать для проведения итеративного поиска, который выявляет дальние связи между молекулами (*Id*). При использовании программ BLAST, BLAST с гэпами и PSI Blast могут быть использованы параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST) (см., например, Национальный центр биотехнологической информации (NCBI) во всемирной сети, ncbi.nlm.nih.gov). Другим конкретным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, является алгоритм Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11 17. Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью пакета программного обеспечения для выравнивания последовательностей GCG. При использовании программы ALIGN для сравнения аминокислотных последовательностей можно использовать таблицу весов замен остатков PAM120, штраф за продолжение гэпа 12 и штраф за внесение гэпа 4.

[00197] Процентная идентичность между двумя последовательностями может быть определена с помощью методик, аналогичных описанным выше, с разрешением или без разрешения гэпов. При расчете процентной идентичности обычно подсчитывают лишь точные совпадения.

[00198] Используемый в данном документе термин "антигенсвязывающий домен, который не связывается с антигеном, экспрессируемым иммунной клеткой человека" означает, что антигенсвязывающий домен не связывается с антигеном, экспрессируемым любой человеческой клеткой гематопозитического происхождения, которая играет роль в иммунном ответе. Иммунные клетки включают лимфоциты, такие как В-клетки и Т-клетки; клетки-естественные киллеры; и миелоидные клетки, такие как моноциты, макрофаги, эозинофилы, тучные клетки, базофилы и гранулоциты. Например, такой связывающий домен не будет связываться с OX40 или любыми другими членами суперсемейства рецепторов TNF, которые экспрессируются иммунной клеткой человека. Однако антигенсвязывающий домен может связываться с антигеном, таким как без ограничения антиген, экспрессируемый в других организмах, но не у людей (т. е., не принадлежащий человеку антиген); антигеном, который не экспрессируется человеческими клетками дикого типа; или вирусным антигеном, включая без ограничения антиген из вируса, который не инфицирует человеческие клетки, или вирусным антигеном, который отсутствует в неинфицированной иммунной клетке человека.

5.2 Антитела

[00199] В конкретном аспекте в данном документе предусмотрены антитела (например, моноклональные антитела, такие как химерные, гуманизированные или человеческие антитела), которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека).

[00200] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, связывается с CD4+ Т-клетками человека и CD8+ Т-клетками человека. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, связывается с CD4+ Т-клетками человека и CD4+ Т-клетками макака-крабода.

[00201] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит переменную область легкой цепи (VL), содержащую:

- (a) CDR1 VL, содержащую, состоящую из или состоящую главным образом из аминокислотной последовательности RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1),
- (b) CDR2 VL, содержащую, состоящую из или состоящую главным образом из аминокислотной последовательности LGSNRAS (SEQ ID NO: 2), и
- (c) CDR3 VL, содержащую, состоящую из или состоящую главным образом из аминокислотной последовательности MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3), как показано в таблице 1.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит каркасные области VL, описанные в данном документе. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит каркасные области (FR) VL антитела, изложенные в таблице 3.

[00202] В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

- (a) CDR1 VH, содержащую, состоящую из или состоящую главным образом из аминокислотной последовательности GSAMH (SEQ ID NO: 4),
- (b) CDR2 VH, содержащую, состоящую из или состоящую главным образом из аминокислотной последовательности RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5), и
- (c) CDR3 VH, содержащую, состоящую из или состоящую главным образом из аминокислотной последовательности GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6), как показано в таблице 2.

В некоторых вариантах осуществления антитело содержит каркасные области VH, описанные в данном документе. В конкретных вариантах осуществления антитело содержит каркасные области (FR) VH антитела, изложенные в таблице 4.

[00203] Таблица 1. Аминокислотные последовательности CDR VL ¹

Антитело	CDR1 VL (SEQ ID NO:)	CDR2 VL (SEQ ID NO:)	CDR3 VL (SEQ ID NO:)
pab1949	RSSQSLLSNGYNYLD (1)	LGSNRAS (2)	MQALQTPLT (3)

¹ CDR VL в таблице 1 определены согласно системе по Kabat.

[00204] Таблица 2. Аминокислотные последовательности CDR VH ²

Антитело	CDR1 VH (SEQ ID NO:)	CDR2 VH (SEQ ID NO:)	CDR3 VH (SEQ ID NO:)
pab1949	GSAMH (4)	RIRSKANSYATAYAAASVKG (5)	GIYDSSGYDY (6)

²CDR VH в таблице 2 определены согласно системе по Kabat.

[00205] Таблица 3. Аминокислотные последовательности FR VL ³

Антител о	FR1 VL (SEQ ID NO:)	FR2 VL (SEQ ID NO:)	VL FR3 (SEQ ID NO:)	VL FR4 (SEQ ID NO:)
pab1949	DIVMTQSPLSLPV TDCGERASISC (7)	WYLQKPGQ SPQLLY (8)	GVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVFAEDVGVVYC K (10)	FGGGTKVEI

³Каркасные области VL, описанные в таблице 3, определены исходя из границ CDR согласно системе нумерации по Kabat. Другими словами, CDR VL определены по Kabat, и каркасные области представляют собой аминокислотные остатки, окружающие CDR в вариательной области в формате FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

[00206] Таблица 4. Аминокислотные последовательности FR VH ⁴

Антител о	FR1 VH (SEQ ID NO:)	FR2 VH (SEQ ID NO:)	FR3 VH (SEQ ID NO:)	FR4 VH (SEQ ID NO:)
pab1949	EVQLVESGGGLVQ PGGSLKLSAASGF TFS (11)	WVRQASGK GLEWVG (12)	RFTISRDDSKNTAYL QMNSLKTEDTAVY YCTS (13)	WGQGTLVTVSS (14)

⁴Каркасные области VH, описанные в таблице 4, определены исходя из границ CDR согласно системе нумерации по Kabat. Другими словами, CDR VH определены по Kabat, и каркасные области представляют собой аминокислотные остатки, окружающие CDR в вариательной области в формате FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

[00207] В конкретных вариантах осуществления антитело содержит четыре каркасные области (FR) VL, изложенные в таблице 3, и четыре каркасные области (FR) VH, изложенные в таблице 4.

[00208] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека) и содержит CDR вариательной области легкой цепи (VL) и CDR вариательной области

тяжелой цепи (VH) rab1949 или rab2044, например, как изложено в таблицах 1 и 2 (т. е., SEQ ID NO: 1-6). В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека) и содержит CDR вариабельной области легкой цепи (VL) и CDR вариабельной области тяжелой цепи (VH) rab1949 или rab2044, например, как изложено в таблицах 1 и 2 (т. е., SEQ ID NO: 1-6) и каркасные области VL и каркасные области VH, изложенные в таблицах 3 и 4.

[00209] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, как изложено в таблице 1, и каркасные области VL, изложенные в таблице 3.

[00210] В определенных вариантах осуществления антитело содержит вариабельную каркасную область легкой цепи, которая происходит из аминокислотной последовательности, кодируемой геном человека, где аминокислотная последовательность представляет собой IGKV2-28*01 (SEQ ID NO: 18).

[00211] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, как изложено в таблице 2 и каркасные области VH, изложенные в таблице 4.

[00212] В определенных вариантах осуществления антитело содержит вариабельную каркасную область тяжелой цепи, которая происходит из аминокислотной последовательности, кодируемой геном человека, где аминокислотная последовательность представляет собой IGHV3-73*01 (SEQ ID NO: 19).

[00213] В конкретном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15. В конкретном варианте осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, состоящий из или состоящий главным образом из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 15.

[00214] В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, состоящий из или состоящий главным образом из аминокислотной последовательности под SEQ ID NO: 16.

[00215] В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен и VL-домен, где VH-домен и VL-домен содержат аминокислотные последовательности под SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 15 соответственно. В определенных вариантах осуществления антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен и VL-домен, где VH-домен и VL-домен состоят из или состоят главным образом из аминокислотных последовательностей под SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 15 соответственно.

[00216] В определенных аспектах антитело, описанное в данном документе, может быть описано только по своему VL-домену или только по своему VH-домену или только по своим 3 CDR VL или только по своим 3 CDR VH. См., например, Rader C *et al.*, (1998) PNAS 95: 8910-8915, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, и в которой описывается гуманизация антитела мыши к $\alpha\upsilon\beta 3$ с помощью идентификации комплементарной легкой цепи или тяжелой цепи, соответственно, из библиотеки легких цепей или тяжелых цепей человека, с обеспечением гуманизированных вариантов антитела, характеризующихся показателями аффинности, которые являются такими же или более высокими по сравнению с аффинностью исходного антитела. См. также Clackson T *et al.*, (1991) Nature 352: 624-628, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, и в которой описываются способы получения антител, которые связывают определенный антиген с помощью определенного VL-домена (или VH-домена) и скрининга библиотеки на наличие комплементарных переменных доменов. В результате скрининга было получено 14 новых партнеров для определенного VH-домена и 13 новых партнеров для определенного VL-домена, которые являлись сильными связывающими элементами, что было определено с помощью ELISA. См. также Kim SJ & Hong HJ, (2007) J Microbiol 45: 572-577, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте, и в которой описываются способы получения антител, которые связывают определенный антиген с помощью определенного VH-домена, и скрининга библиотеки (например, библиотеки VL человека) на наличие комплементарных VL-доменов; выбранные VL-домены, в свою очередь, можно использовать для направления отбора дополнительных комплементарных VH-доменов (например, человека).

[00217] В определенных аспектах CDR антитела могут быть определены согласно системе нумерации по Chothia, которая обращается к расположению структурных петель иммуноглобулинов (см., например, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B *et al.*, (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C *et al.*, (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A *et al.*, (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82; и патент США № 7709226).

Как правило, при использовании системы нумерации по Kabat петля CDR-H1 согласно системе по Chothia находится в пределах аминокислот 26-32, 33 или 34 тяжелой цепи, петля CDR-H2 по Chothia находится в пределах аминокислот 52-56 тяжелой цепи, и петля CDR-H3 по Chothia находится в пределах аминокислот 95-102 тяжелой цепи, в то время как петля CDR-L1 по Chothia находится в пределах аминокислот 24-34 легкой цепи, петля CDR-L2 по Chothia находится в пределах аминокислот 50-56 легкой цепи, и петля CDR-L3 по Chothia находится в пределах аминокислот 89-97 легкой цепи. Конец петли CDR-H1 по Chothia при нумерации с использованием правила нумерации по Kabat варьирует от H32 до H34, в зависимости от длины петли (это обусловлено тем, что согласно схеме нумерации по Kabat вставки размещаются в H35A и H35B; при этом если как 35A, так и 35B отсутствуют, то петля заканчивается на 32; если присутствует только 35A, то петля заканчивается на 33; если присутствуют как 35A, так и 35B, то петля заканчивается на 34).

[00218] В определенных аспектах в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека) и содержат CDR VL из VL rab1949 или rab2044 согласно Chothia. В определенных аспектах в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека) и содержат CDR VH из VH rab1949 или rab2044 согласно Chothia. В определенных аспектах в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека) и содержат CDR VL из VL rab1949 или rab2044 согласно Chothia, и содержат CDR VH из VH rab1949 или rab2044 согласно Chothia. В определенных вариантах осуществления антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека), содержат одну или несколько CDR, при этом CDR согласно Chothia и Kabat имеют одинаковую аминокислотную последовательность. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека) и содержат комбинации CDR согласно Kabat и CDR согласно Chothia.

[00219] В определенных аспектах CDR антитела могут быть определены согласно системе нумерации IMGT, как описано в Lefranc M-P, (1999) *The Immunologist* 7: 132-136 и Lefranc M-P *et al.*, (1999) *Nucleic Acids Res* 27: 209-212. Согласно схеме нумерации IMGT VH-CDR1 находится в положениях 26-35, VH-CDR2 находится в положениях 51-57, VH-CDR3 находится в положениях 93-102, VL-CDR1 находится в положениях 27-32, VL-CDR2 находится в положениях 50-52 и VL-CDR3 находится в положениях 89-97. В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека) и содержат CDR rab1949

или pab2044, что определяют согласно системе нумерации IMGT, например, как описано в Lefranc M-P (1999) выше и Lefranc M-P *et al.*, (1999) выше).

[00220] В определенных аспектах CDR антитела могут быть определены согласно MacCallum RM *et al.*, (1996) J Mol Biol 262: 732-745. См. также, например, Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," в *Antibody Engineering*, Kontermann and Dübel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001). В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека) и содержат CDR pab1949 или pab2044, что определяют с помощью способа в MacCallum RM *et al.*

[00221] В определенных аспектах CDR антитела могут быть определены согласно системе нумерации AbM, которая обращается к определению гипервариабельных областей согласно AbM, которое представляют собой компромисс между определением CDR согласно Kabat и структурных петель согласно Chothia, и используется в программном обеспечении для моделирования антител с помощью Oxford Molecular's AbM (Oxford Molecular Group, Inc.). В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрены антитела, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека) и содержат CDR pab1949 или pab2044, что определяют согласно системе нумерации AbM.

[00222] В конкретном варианте осуществления расположение одной или нескольких CDR в VH-области (например, CDR1, CDR2 или CDR3) и/или VL-области (например, CDR1, CDR2 или CDR3) антитела, описанного в данном документе, может изменяться на одно, два, три, четыре, пять или шесть аминокислотных положений, при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). Например, в одном варианте осуществления расположение, определяющее CDR антитела, описанного в данном документе, может изменяться за счет сдвига N-концевой и/или C-концевой границы CDR на одну, две, три, четыре, пять или шесть аминокислот по отношению к расположению CDR антитела, описанного в данном документе (например, pab1949 или pab2044), при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). В другом варианте осуществления длина одного или нескольких CDR в VH-области (например, CDR1, CDR2 или CDR3) и/или VL-области (например, CDR1, CDR2 или CDR3) антитела, описанного в данном документе,

может изменяться (например, быть меньше или больше) на одну, два, три, четыре, пять или более аминокислот, при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%).

[00223] В одном варианте осуществления CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и/или CDR3 VH, описанные в данном документе, могут быть на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот короче, чем одна или несколько из CDR, описанных в данном документе (например, SEQ ID NO: 1-6), при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). В другом варианте осуществления CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и/или CDR3 VH, описанные в данном документе, могут быть на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот длиннее, чем одна или несколько из CDR, описанных в данном документе (например, SEQ ID NO: 1-6), при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). В другом варианте осуществления аминоконец CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и/или CDR3 VH, описанных в данном документе, может быть удлинен на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или несколькими из CDR, описанных в данном документе (например, SEQ ID NO: 1-6), при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). В другом варианте осуществления карбокси-конец CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и/или CDR3 VH, описанных в данном документе, может быть удлинен на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или несколькими из CDR, описанных в данном документе (например, SEQ ID NO: 1-6), при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). В другом варианте осуществления аминоконец CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и/или CDR3 VH, описанных в данном документе, может быть укорочен на одну, две, три,

четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или несколькими из CDR, описанных в данном документе (например, SEQ ID NO: 1-6), при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). В одном варианте осуществления карбокси-конец CDR1 VL, CDR2 VL, CDR3 VL, CDR1 VH, CDR2 VH и/или CDR3 VH, описанных в данном документе, может быть укорочен на одну, две, три, четыре, пять или более аминокислот по сравнению с одной или несколькими из CDR, описанных в данном документе (например, SEQ ID NO: 1-6), при условии, что иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) сохраняется (например, значительно сохраняется, например, на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%). Для определения того, сохраняется ли иммуноспецифичное связывание с OX40 (например, OX40 человека), можно использовать любой способ, известный в данной области техники, например, в данном документе предусмотрены анализы связывания и условия, описанные в разделе "Примеры" (раздел 6).

[00224] В конкретных аспектах в данном документе предусмотрено антитело, содержащее легкую цепь и тяжелую цепь антитела, например, отдельную легкую цепь и тяжелую цепь. Что касается легкой цепи, в конкретном варианте осуществления легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой легкую каппа-цепь. В другом конкретном варианте осуществления легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой легкую лямбда-цепь. Согласно еще одному конкретному варианту осуществления легкая цепь антитела, описанного в данном документе, представляет собой легкую каппа-цепь человека или легкую лямбда-цепь человека. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с полипептидом OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь, где аминокислотная последовательность VL-домена предусматривает последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, и где константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность константной области легкой каппа-цепи человека. В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь, где аминокислотная последовательность VL-домена предусматривает последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, и где константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность константной области легкой лямбда-цепи человека. В конкретном

варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь, где аминокислотная последовательность VL-домена предусматривает последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, и где константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность константной области легкой каппа- или лямбда-цепи человека. Неограничивающие примеры последовательностей константных областей человека были описаны в данной области техники, например, см. патент США № 5693780 и Kabat EA *et al.*, (1991) выше.

[00225] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 20.

[00226] Что касается тяжелой цепи, в конкретном варианте осуществления тяжелая цепь антитела, описанного в данном документе, может представлять собой тяжелую альфа- (α), дельта- (δ), эпсилон- (ϵ), гамма- (γ) или мю- (μ) цепь. В другом конкретном варианте осуществления тяжелая цепь антитела, описанного в данном документе, может представлять собой тяжелую альфа- (α), дельта- (δ), эпсилон- (ϵ), гамма- (γ) или мю- (μ) цепь человека. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, где аминокислотная последовательность VH-домена может содержать последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16, и где константная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность константной области тяжелой гамма- (γ) цепи человека. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, где аминокислотная последовательность VH-домена содержит последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16, и где константная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность тяжелой цепи человека, описанной в данном документе и известной в данной области техники. Неограничивающие примеры последовательностей константных областей человека были описаны в данной области техники, например, см. патент США № 5693780 и Kabat EA *et al.*, (1991) выше.

[00227] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 60. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 61. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 51. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 62. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 52. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 63.

[00228] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен и VH-домен, содержащие любые аминокислотные последовательности, описанные в данном документе, и при этом константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей молекулы иммуноглобулина IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY или молекулы иммуноглобулина IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY человека. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен и VH-домен, содержащие любые аминокислотные последовательности, описанные в данном документе, и при этом константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей молекулы иммуноглобулина IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY, молекулы иммуноглобулина любого класса (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂) или любого подкласса (например, IgG_{2a} и IgG_{2b}). В конкретном варианте осуществления константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей молекулы иммуноглобулина человека IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY, молекулы иммуноглобулина любого класса (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂) или любого

подкласса (например, IgG_{2a} и IgG_{2b}).

[00229] В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит VL-домен и VH-домен, содержащие любые аминокислотные последовательности, описанные в данном документе, и при этом константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей IgG₁ человека (например, аллотипы G1m3, G1m17,1 или G1m17,1,2), IgG₂ человека или IgG₄ человека. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит VL-домен и VH-домен, содержащие любые аминокислотные последовательности, описанные в данном документе, и при этом константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей IgG₁ человека (аллотип G1m3). Неограничивающие примеры константных областей человека описаны в уровне техники, например, см. Kabat EA *et al.*, (1991) выше.

[00230] В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 60. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 61. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 51 или 52. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе,

которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 20, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 62 или 63.

[00231] В определенных вариантах осуществления одну, две или более мутаций (например, аминокислотные замены) вводят в Fc-область антитела, описанного в данном документе (например, CH2-домен (остатки 231-340 IgG₁ человека) и/или CH3-домен (остатки 341-447 IgG₁ человека) и/или шарнирную область, при этом нумерация приведена согласно системе нумерации по Kabat (например, EU-индексу по Kabat)) с целью изменения одного или нескольких функциональных свойств антитела, таких как время полужизни в сыворотке крови, связывание комплемента, связывание Fc-рецептора и/или антигензависимая клеточная цитотоксичность.

[00232] В определенных вариантах осуществления одну, две или более мутаций (например, аминокислотные замены) вводят в шарнирную область Fc-области (CH1-домен) так, что число цистеиновых остатков в шарнирной области изменяется (например, повышается или снижается), как описано, например, в патенте США № 5677425. Число цистеиновых остатков в шарнирной области CH1-домена может быть изменено, например, для облегчения сборки легкой и тяжелой цепей или для изменения (например, повышения или снижения) стабильности антитела.

[00233] В некоторых вариантах осуществления одну, две или более мутаций (например, аминокислотные замены) вводят в Fc-область антитела, описанного в данном документе (например, CH2-домен (остатки 231-340 IgG₁ человека) и/или CH3-домен (остатки 341-447 IgG₁ человека) и/или шарнирную область, при этом нумерация приведена согласно системе нумерации по Kabat (например, EU-индексу по Kabat)), с целью повышения или снижения аффинности антитела к Fc-рецептору (например, активированному Fc-рецептору) на поверхности эффекторной клетки. Мутации в Fc-области антитела, которые обеспечивают снижение или повышение аффинности антитела к Fc-рецептору, и методики введения таких мутаций в Fc-рецептор или его фрагмент, известны специалисту в данной области техники. Примеры мутаций в Fc-области антитела, которые могут быть введены с целью изменения аффинности антитела к Fc-рецептору, описаны, например, в Smith P *et al.*, (2012) PNAS 109: 6181-6186, патенте США № 6737056 и международных публикациях №№ WO 02/060919; WO 98/23289; и WO 97/34631, которые включены в данный документ посредством ссылки.

[00234] В конкретном варианте осуществления одну, две или более аминокислотных мутаций (т. е., замен, вставок или делеций) вводят в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно Fc или фрагмент шарнир-Fc-домен) с целью

изменения (например, уменьшения или увеличения) времени полужизни антитела *in vivo*. См., например, международные публикации №№ WO 02/060919; WO 98/23289; и WO 97/34631; и патенты США №№ 5869046, 6121022, 6277375 и 6165745 касательно примеров мутаций, которые будут изменять (например, увеличивать или уменьшать) время полужизни антитела *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления одну, две или более аминокислотных мутаций (т. е., замен, вставок или делеций) вводят в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно Fc или фрагмент шарнир-Fc-домен) с целью уменьшения времени полужизни антитела *in vivo*. В других вариантах осуществления одну, две или более аминокислотных мутаций (т. е., замен, вставок или делеций) вводят в константный домен IgG или его FcRn-связывающий фрагмент (предпочтительно Fc или фрагмент шарнир-Fc-домен) с целью уменьшения времени полужизни антитела *in vivo*. В конкретном варианте осуществления антитела могут иметь одну или несколько аминокислотных мутаций (например, замен) во втором константном (CH2)-доме (остатки 231-340 IgG₁ человека) и/или третьем константном (CH3)-доме (остатки 341-447 IgG₁ человека), при этом нумерация приведена согласно EU-индексу по Kabat (Kabat EA *et al.*, (1991) выше). В конкретном варианте осуществления константная область IgG₁-антитела, описанного в данном документе, содержит замену метионина (M) на тирозин (Y) в положении 252, замену серина (S) на треонин (T) в положении 254 и замену треонина (T) на глутаминовую кислоту (E) в положении 256, пронумерованных согласно EU-индексу по Kabat. См. патент США № 7658921, который включен в данный документ посредством ссылки. Было показано, что данный тип мутантного IgG, обозначаемый как "мутант YTE", характеризовался четырехкратным увеличением времени полужизни по сравнению с вариантами дикого типа того же антитела (см. Dall'Acqua WF *et al.*, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24). В определенных вариантах осуществления антитело содержит константный домен IgG, содержащий одну, две, три или более замен аминокислотных остатков в положениях 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 и 428-436, пронумерованных согласно EU-индексу по Kabat.

[00235] В дополнительном варианте осуществления одну, две или более замен вводят в Fc-область константного домена IgG с целью изменения эффекторной(эффекторных) функции(функций) антитела. Например, одну или несколько аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 и 322, пронумерованных согласно EU-индексу по Kabat, можно заместить остатком другой аминокислоты, вследствие чего антитело характеризуется измененной аффинностью к эффекторному лиганду, но при этом сохраняет антигенсвязывающую способность исходного антитела. Эффекторным лигандом, аффинность к которому изменяют, может быть, например, Fc-

рецептор или C1-компонент системы комплемента. Этот подход описан более подробно в патентах США №№ 5624821 и 5648260. В некоторых вариантах осуществления делеция или инактивация (посредством точечных мутаций или других средств) домена константной области может ослаблять связывание циркулирующего антитела с Fc-рецепторами, усиливая таким образом локализацию в опухоли. См., например, патенты США №№ 5585097 и 8591886 касательно описания мутаций, которые приводят к удалению или инактивации константного домена, и таким образом, усиливают локализацию в опухоли. В определенных вариантах осуществления одна или несколько аминокислотных замен могут быть введены в Fc-область антитела, описанного в данном документе, для удаления потенциальных сайтов гликозилирования в Fc-области, которые могут ослаблять связывание Fc-рецептора (см., например, Shields RL *et al.*, (2001) J Biol Chem 276: 6591-604). В различных вариантах осуществления могут быть выполнены одна или несколько из следующих мутаций в константной области антитела, описанного в данном документе: замена N297A; замена N297Q; замена L235A и замена L237A; замена L234A и замена L235A; замена E233P; замена L234V; замена L235A; делеция C236; замена P238A; замена D265A; замена A327Q; или замена P329A, пронумерованные согласно EU-индексу по Kabat. В определенных вариантах осуществления мутация, выбранная из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации, может быть выполнена в константной области антитела, описанного в данном документе.

[00236] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константный домен IgG₁ с аминокислотной заменой N297Q или N297A. В одном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константный домен IgG₁ с мутацией, выбранной из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.

[00237] В определенных вариантах осуществления одна или несколько аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 329, 331 и 322 в константной области антитела, описанного в данном документе, пронумерованные согласно EU-индексу по Kabat, могут быть заменены другим аминокислотным остатком таким образом, что антитело характеризуется измененным связыванием с C1q и/или сниженной комплементзависимой цитотоксичностью (CDC), или она отсутствует. Этот подход описан более подробно в патенте США № 6194551 (Idusogie *et al.*). В некоторых вариантах осуществления один или несколько аминокислотных остатков в пределах аминокислотных положений 231-238 в N-концевой области CH₂-домена антитела, описанного в данном документе, изменяют с целью изменения тем самым способности антитела связывать комплемент. Этот подход описан более подробно в международной публикации № WO 94/29351. В определенных

вариантах осуществления Fc-область антитела, описанного в данном документе, модифицируют с целью повышения способности антитела опосредовать антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) и/или с целью повышения аффинности антитела к Fc γ -рецептору за счет мутирования одной или нескольких аминокислот (например, введения аминокислотных замен) в следующих положениях: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 или 439, пронумерованных согласно EU-индексу по Kabat. Этот подход описан более подробно в международной публикации № WO 00/42072.

[00238] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константный домен IgG₁ с мутацией (например, заменой) в положении 267, 328 или их комбинации, пронумерованным согласно EU-индексу по Kabat. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константный домен IgG₁ с мутацией (например, заменой), выбранной из группы, состоящей из S267E, L328F и их комбинации. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константный домен IgG₁ с мутацией S267E/L328F (например, заменой). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержащее константный домен IgG₁ с мутацией S267E/L328F (например, заменой), характеризуется повышенной аффинностью связывания в отношении Fc γ RIIA, Fc γ RIIB или Fc γ RIIA и Fc γ RIIB.

[00239] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константную область IgG₄-антитела и серин, соответствующий аминокислотному остатку 228 тяжелой цепи, пронумерованный согласно EU-индексу по Kabat, замещен на пролин.

[00240] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит константную область IgG₂-антитела и цистеин, соответствующий аминокислотному остатку 127 тяжелой цепи, пронумерованный по Kabat, замещен на серин.

[00241] Сообщалось, что антитела со сниженным содержанием фукозы характеризуются повышенной аффинностью к Fc-рецепторам, таким как, например, Fc γ RIIA. Соответственно, в определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, имеют сниженное содержание фукозы или не содержат фукозу. Такие антитела могут быть получены с помощью методик, известных специалисту в данной области

техники. Например, антитела могут экспрессироваться в клетках с недостаточной способностью к фукозилрованию или ее отсутствием. В конкретном примере клеточные линии с нокаутом обоих аллелей гена α 1,6-фукозилтрансферазы могут быть использованы для получения антител со сниженным содержанием фукозы. Система Potelligent® (Lonza) представляет собой пример такой системы, которая может быть использована для получения антител со сниженным содержанием фукозы. Альтернативно, антитела со сниженным содержанием фукозы могут быть получены, например, путем: (i) культивирования клеток в условиях, которые обеспечивают предотвращение или снижение степени фукозилрования; (ii) посттрансляционного удаления фукозы (например, с помощью фермента фукозидазы); (iii) посттрансляционного добавления требуемого углевода, например, после рекомбинантной экспрессии негликозилированного гликопротеина; или (iv) очистки гликопротеина с тем, чтобы выбрать антитела с ним, которые не являются фукозилрованными. См, например, Longmore GD & Schachter H (1982) *Carbohydr Res* 100: 365-92 и Imai-Nishiya H *et al.*, (2007) *BMC Biotechnol.* 7: 84 в отношении способов получения антител без фукозы или со сниженным содержанием фукозы.

[00242] Сконструированные гликоформы могут быть пригодными для разнообразных целей, в том числе без ограничения для повышения или снижения эффекторной функции. Способы получения сконструированных гликоформ антитела, описанного в данном документе, включают без ограничения раскрытые, например, в Umaña P *et al.*, (1999) *Nat Biotechnol* 17: 176-180; Davies J *et al.*, (2001) *Biotechnol Bioeng* 74: 288-294; Shields RL *et al.*, (2002) *J Biol Chem* 277: 26733-26740; Shinkawa T *et al.*, (2003) *J Biol Chem* 278: 3466-3473; Niwa R *et al.*, (2004) *Clin Cancer Res* 1: 6248-6255; Presta LG *et al.*, (2002) *Biochem Soc Trans* 30: 487-490; Kanda Y *et al.*, (2007) *Glycobiology* 17: 104-118; патентах №№ 6602684; 6946292; и 7214775; патентных публикациях США №№ US 2007/0248600; 2007/0178551; 2008/0060092; и 2006/0253928; международных заявках №№ WO 00/61739; WO 01/292246; WO 02/311140; и WO 02/30954; технологию Potelligent™ (Biowa, Inc. Принстон, Нью-Джерси); и инженерную технологию гликозилирования GlycoMAb® (Glycart biotechnology AG, Цюрих, Швейцария). См. также, например, Ferrara C *et al.*, (2006) *Biotechnol Bioeng* 93: 851-861; международные публикации №№ WO 07/039818; WO 12/130831; WO 99/054342; WO 03/011878; и WO 04/065540.

[00243] В определенных вариантах осуществления технология, используемая для конструирования Fc-домена антитела, описанного в данном документе, представляет собой технологию Xmab® от компании Xencor (Монровия, Калифорния). См., например, патенты США №№ 8367805; 8039592; 8124731; 8188231; патентную публикацию США

№ 2006/0235208; международные публикации №№ WO 05/077981; WO 11/097527; и Richards JO *et al.*, (2008) Mol Cancer Ther 7: 2517-2527.

[00244] В определенных вариантах осуществления аминокислотные остатки в константной области антитела, описанного в данном документе, в положениях L234, L235 и D265 в тяжелой цепи IgG1 человека, пронумерованных согласно нумерации по EU-индексу, не являются L, L и D соответственно. Этот подход описан подробно в международной публикации № WO 14/108483. В конкретном варианте осуществления аминокислоты, соответствующие положениям L234, L235 и D265 в тяжелой цепи IgG1 человека, представляют собой F, E и A; или A, A и A соответственно.

[00245] В определенных вариантах осуществления любая из мутаций или модификаций в константной области, описанных в данном документе, может быть введена в константные области одной или обеих тяжелых цепей антитела, описанного в данном документе, содержащего константные области двух тяжелых цепей.

[00246] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где (i) легкая цепь содержит VL-домен, содержащий аминокислотные последовательности CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, изложенные в SEQ ID NO: 1-3 (например, приведенные в таблице 1); (ii) тяжелая цепь содержит VH-домен, содержащий аминокислотные последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, изложенные в SEQ ID NO: 4-6 (например, приведенные в таблице 2); (iii) легкая цепь дополнительно содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность константного домена легкой каппа-цепи человека; и (iv) тяжелая цепь дополнительно содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность константного домена тяжелой цепи IgG₁ человека (необязательно IgG₁ (аллотип G1m3)).

[00247] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где (i) легкая цепь содержит VL-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15; (ii) тяжелая цепь содержит VH-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; (iii) легкая цепь дополнительно содержит константный домен, содержащий аминокислотную последовательность константного домена легкой каппа-цепи человека; и (iv) тяжелая цепь дополнительно содержит константный домен, содержащий аминокислотную последовательность константного домена тяжелой цепи IgG₁ человека (необязательно IgG₁ (аллотип G1m3)).

[00248] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где (i) легкая цепь содержит VL-домен, содержащий аминокислотные последовательности CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, изложенные в SEQ ID NO: 1-3 (например, приведенные в таблице 1); (ii) тяжелая цепь содержит VH-домен, содержащий аминокислотные последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, изложенные в SEQ ID NO: 4-6 (например, приведенные в таблице 2); (iii) легкая цепь дополнительно содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность константного домена легкой каппа-цепи человека; и (iv) тяжелая цепь дополнительно содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность константного домена тяжелой цепи IgG₄ человека.

[00249] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где (i) легкая цепь содержит VL-домен, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; (ii) тяжелая цепь содержит VH-домен, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16; (iii) легкая цепь дополнительно содержит константный домен, содержащий аминокислотную последовательность константного домена легкой каппа-цепи человека; и (iv) тяжелая цепь дополнительно содержит константный домен, содержащий аминокислотную последовательность константного домена тяжелой цепи IgG₄ человека.

[00250] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где (i) легкая цепь содержит VL-домен, содержащий аминокислотные последовательности CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, изложенные в SEQ ID NO: 1-3 (например, приведенные в таблице 1); (ii) тяжелая цепь содержит VH-домен, содержащий аминокислотные последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, изложенные в SEQ ID NO: 4-6 (например, приведенные в таблице 2); (iii) легкая цепь дополнительно содержит константный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность константного домена легкой каппа-цепи человека; и (iv) тяжелая цепь дополнительно содержит константный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность константного домена тяжелой цепи IgG₂ человека.

[00251] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь и тяжелую цепь, где (i) легкая цепь содержит VL-домен, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15; (ii) тяжелая цепь содержит VH-

домен, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16; (iii) легкая цепь дополнительно содержит константный домен, содержащий аминокислотную последовательность константного домена легкой каппа-цепи человека; и (iv) тяжелая цепь дополнительно содержит константный домен, содержащий аминокислотную последовательность константного домена тяжелой цепи IgG₂ человека. В определенных вариантах осуществления легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50 и тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51. В определенных вариантах осуществления легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50 и тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62. В определенных вариантах осуществления легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20 и тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 51. В определенных вариантах осуществления легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20 и тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62.

[00252] В другом конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21 с аминокислотной заменой N на A или Q в аминокислотном положении 297; и (b) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20. В другом конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60 с аминокислотной заменой N на A или Q в аминокислотном положении 297; и (b) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[00253] В другом конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21 с аминокислотной заменой, выбранной из группы, состоящей из S на E в аминокислотном положении 267, L на F в аминокислотном положении 328, и как S на E в аминокислотном положении 267, так и L на F в аминокислотном положении 328; и (b) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20. В другом конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит (а) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60 с

аминокислотной заменой, выбранной из группы, состоящей из S на E в аминокислотном положении 267, L на F в аминокислотном положении 328, и как S на E в аминокислотном положении 267, так и L на F в аминокислотном положении 328; и (b) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[00254] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуется активностью в виде антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), инициирует опосредованное клетками-естественными киллерами истощение клеток. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), используют для лечения опухоли, инфильтрованной клетками-естественными киллерами. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуется активностью в виде антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), инициирует опосредованное макрофагами истощение клеток. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), используют для лечения опухоли, инфильтрованной макрофагами. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), избирательно истощает внутриопухолевые регуляторные Т-клетки.

[00255] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит каркасные области (например, каркасные области VL-домена и/или VH-домена), которые представляют собой каркасные области человека или каркасные области человеческого происхождения. Неограничивающие примеры каркасных областей человека описаны в уровне техники, например, см. Kabat EA *et al.*, (1991) выше. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, содержит каркасные области (например, каркасные области VL-домена и/или VH-домена), которые представляют собой каркасные области примата (например, примата, отличного от человека) или каркасные области, полученные от примата (например, примата, отличного от человека).

[00256] Например, CDR из антигенспецифичных антител, отличных от человеческих, как правило, происходящие от грызунов (например, мыши или крысы), прививают на гомологичные акцепторные каркасные области человека или примата, отличного от человека. В одном варианте осуществления акцепторные каркасные области примата, отличного от человека, происходят от человекообразных обезьян Старого Света. В конкретном варианте осуществления акцепторная каркасная область человекообразной обезьяны Старого Света происходит от *Pan troglodytes*, *Pan paniscus* или *Gorilla gorilla*. В конкретном варианте осуществления акцепторные каркасные области примата, отличного от человека, происходят от шимпанзе *Pan troglodytes*. В конкретном варианте осуществления акцепторные каркасные области примата, отличного от человека, происходят из акцепторных каркасных областей обезьян Старого Света. В конкретном варианте осуществления акцепторные каркасные области обезьяны Старого Света происходят от рода *Macaca*. В определенном варианте осуществления акцепторные каркасные области примата, отличного от человека, происходят от макака-крабоеда *Macaca cynomolgus*. Последовательности каркасных областей примата, отличного от человека, описаны в опубликованной патентной заявке США № US 2005/0208625.

[00257] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит одну, две или более каркасных областей (FR) VL, содержащих аминокислотные последовательности, описанные в данном документе для антитела, изложенные в таблице 3 выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит одну, две или более каркасных областей (FR) VH, содержащих аминокислотные последовательности, описанные в данном документе для антитела, изложенные в таблице 4 выше. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит одну, две или более каркасных областей VL, содержащих аминокислотные последовательности, описанные в данном документе для антитела, изложенные в таблице 3 выше, и одну, две или более каркасных областей VH, содержащих аминокислотные последовательности, описанные в данном документе для антитела, изложенные в таблице 4 выше.

[00258] В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит одну, две, три или четыре каркасные области VL-домена, содержащие аминокислотную последовательность rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 7-10) с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более аминокислотными мутациями (например, аминокислотными заменами, такими

как консервативные аминокислотные замены) и/или каркасные области VH-домена, содержащие аминокислотную последовательность rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 11-14). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит одну, две, три или четыре каркасные области VH-домена, содержащие аминокислотную последовательность rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 11-14) с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более аминокислотными мутациями (например, аминокислотными заменами, такими как консервативные аминокислотные замены) и/или каркасные области VL-домена, содержащие аминокислотную последовательность rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 7-10).

[00259] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит каркасные области (FR) VL, характеризующиеся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательностей с каркасными областями VL, описанными в данном документе в таблице 3 выше. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит каркасные области (FR) VH, характеризующиеся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательностей с каркасными областями VH, описанными в данном документе в таблице 4 выше. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит каркасные области (FR) VH, характеризующиеся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательностей с каркасными областями VH, описанными в данном документе в таблице 4 выше, и каркасные области (FR) VL, характеризующиеся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательностей с каркасными областями VL, описанными в данном документе в таблице 3 выше.

[00260] Определение процентной идентичности между двумя последовательностями (например, аминокислотными последовательностями или последовательностями нуклеиновых кислот) может быть выполнено с помощью математического алгоритма.

Конкретным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, является алгоритм Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268, модифицированный, как в Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST Altschul SF *et al.*, (1990) J Mol Biol 215: 403. Поиски нуклеотидов в BLAST можно проводить с набором параметров программы NBLAST для нуклеотидов, установленными, например, для балла =100, длины слова =12, для нахождения нуклеотидных последовательностей, гомологичных молекулам нуклеиновой кислоты, описанным в данном документе. Поиски белков в BLAST можно проводить с набором параметров программы XBLAST, установленными, например, для балла =50, длины слова = 3, для нахождения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекуле белка, описанной в данном документе. Для получения выравниваний с гэпами с целью сравнения можно использовать BLAST с гэпами, описанный в Altschul SF *et al.*, (1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402. Альтернативно, PSI-BLAST можно использовать для проведения итеративного поиска, который выявляет дальние связи между молекулами (*Id*). При использовании программ BLAST, BLAST с гэпами и PSI Blast могут быть использованы параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST) (см., например, Национальный центр биотехнологической информации (NCBI) во всемирной сети, ncbi.nlm.nih.gov). Другим конкретным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, является алгоритм Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17. Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью пакета программного обеспечения для выравнивания последовательностей GCG. При использовании программы ALIGN для сравнения аминокислотных последовательностей можно использовать таблицу весов замен остатков PAM120, штраф за продолжение гэпа 12 и штраф за внесение гэпа 4.

[00261] Процентная идентичность между двумя последовательностями может быть определена с помощью методик, аналогичных описанным выше, с разрешением или без разрешения гэпов. При расчете процентной идентичности обычно подсчитывают лишь точные совпадения.

[00262] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена *rab1949* или *rab2044* (например, SEQ ID NO: 15), где

антитело содержит CDR VL, которые идентичны CDR VL rab1949 или rab2044.

[00263] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело содержит CDR VH, которые идентичны CDR VH rab1949 или rab2044.

[00264] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело содержит CDR VL и CDR VH, которые идентичны CDR VL и CDR VH rab1949 или rab2044.

[00265] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В определенных вариантах

осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC, где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, как определяют, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствии или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[00266] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен,

характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC, где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, как определяют, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствии или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[00267] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью

последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC, где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, как определяют, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствии или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[00268] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело в комбинации со

стафилококковым энтеротоксином А (SEA) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC, где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, как определяют, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[00269] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16, при этом антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например клетками PBMC, при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антител, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере

98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC, где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, как определяют, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствии или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[00270] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от

0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC, где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к ОХ40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, как определяют, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствии или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TNF1/TNF2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[00271] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с

помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit V-Plex (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например РВМС или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO $_2$, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение,

например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[00272] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit V-Plex (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (b) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности

с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[00273] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и

5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit V-Plex (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом связанное на планшете антитело в комбинации со связанным на планшете антителом к CD3 (например, 0,8 мкг/мл), индуцирует продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, например PBMC или Т-клетками, при стимулировании в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂, что измеряют с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,7 мкг/мл до 50 мкг/мл, от

1,6 мкг/мл до 50 мкг/мл, от 3,1 мкг/мл до 50 мкг/мл или от 6,3 мкг/мл до 50 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС в присутствии связанного на планшете антитела к CD3 (например, 0,8 мкг/мл) и варьирующих концентраций (например, 0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25 и 50 мкг/мл или 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) связанного на планшете антитела в течение, например, 4 дней, например, при 37°C и 5% CO₂; и (б) сбор супернатанта и измерение продуцирования одного или нескольких цитокинов, например, TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13, с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery) или набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[00274] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогачению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (б) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), где

антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[00275] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4+ Т-клеток, где пролиферация CD4+ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4+ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4+ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4+ посредством проточной цитометрии.

[00276] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по

меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[00277] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном

документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[00278] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение,

например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii) VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), где антитело обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (a) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[00279] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит: (i) VL-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VL-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 15); и (ii)

VH-домен, характеризующийся по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 98% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью VH-домена rab1949 или rab2044 (например, SEQ ID NO: 16), при этом антитело обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл или от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[00280] В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела, которые связываются с одним и тем же или перекрывающимся эпитопом OX40 (например, эпитопом OX40 человека), как антитело, описанное в данном документе (например, rab1949 или rab2044). В определенных вариантах осуществления эпитоп антитела может быть определен, например, с помощью ЯМР-спектроскопии, рентгенографокристаллографических исследований, ELISA-анализов, водород-дейтериевого обмена в сочетании с масс-спектрометрией (например, жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением), сканирующих анализов олигопептидов на основе массивов и/или картирования с помощью мутагенеза (например, картирования с помощью сайт-направленного мутагенеза). В случае рентгеновской кристаллографии кристаллизация может быть выполнена с помощью любого из известных способов в данной области техники (например, Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303). Кристаллы антитело-антиген могут быть изучены с помощью хорошо известных методик рентгенодифракции и могут быть уточнены с помощью компьютерной программы, такой как X-PLOR (Yale University, 1992, продаваемой Molecular Simulations, Inc.; см.,

например, Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*;; патентная заявка США № 2004/0014194), и BUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56(Pt 10): 1316-1323). Исследования с картированием с применением мутагенеза можно проводить с помощью любого способа, известного специалисту в данной области техники. См., например, Champe M *et al.*, (1995) выше и Cunningham BC & Wells JA (1989) выше касательно описания методик мутагенеза, в том числе методик аланин-сканирующего мутагенеза. В определенном варианте осуществления эпитоп для антитела определяют с помощью исследований с аланин-сканирующим мутагенезом. Кроме того, антитела, которые распознают одни и те же или перекрывающиеся эпитопы OX40 (например, OX40 человека) или связываются с ними, могут быть идентифицированы с помощью стандартных методик, таких как иммунологический анализ, например, путем обнаружения способности одного антитела блокировать связывание другого антитела с целевым антигеном, т. е., анализ конкурентного связывания. Анализы конкурентного связывания также могут быть использованы для определения того, характеризуются ли два антитела одинаковой специфичностью связывания в отношении эпитопа. Конкурентное связывание может быть определено в анализе, в котором исследуемый иммуноглобулин ингибирует специфичное связывание эталонного антитела с общим антигеном, таким как OX40. Известно множество типов анализов конкурентного связывания, например: твердофазный прямой или непрямой радиоиммунологический анализ (RIA), твердофазный прямой или непрямой иммуноферментный анализ (EIA), конкурентный анализ сэндвич-типа (см. Stahl C *et al.*, (1983) Methods Enzymol 9: 242-253); твердофазный прямой EIA с использованием биотин-авидиновой системы (см. Kirkland TN *et al.*, (1986) J Immunol 137: 3614-9); твердофазный прямой анализ с использованием меток, твердофазный прямой анализ сэндвич-типа с использованием меток (см. Harlow E & Lane D, (1988) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); твердофазный прямой RIA с использованием меток с применением метки I-125 (см. Morel GA *et al.*, (1988) Mol Immunol 25(1): 7-15); твердофазный прямой EIA с использованием биотин-авидиновой системы (Cheung RC *et al.*, (1990) Virology 176: 546-52); и прямой RIA с использованием меток (Moldenhauer G *et al.*, (1990) Scand J Immunol 32: 77-82). Как правило, такой анализ включает применение очищенного антигена (например, OX40, такого как OX40 человека), связанного с твердой поверхностью или клетками, несущими каждое из следующего: немеченный исследуемый иммуноглобулин и меченный эталонный иммуноглобулин. Конкурентное ингибирование может быть измерено с помощью определения количества метки, связанной с твердой поверхностью или клетками

в присутствии исследуемого иммуноглобулина. Обычно исследуемый иммуноглобулин присутствует в избытке. Обычно в случае, если конкурирующее антитело присутствует в избытке, оно будет ингибировать специфичное связывание эталонного антитела с общим антигеном на меньшей мере 50-55%, 55-60%, 60-65%, 65-70%, 70-75% или больше. Анализ конкурентного связывания может быть сконфигурирован в большом количестве различных форматов с использованием меченого антигена или меченого антитела. В распространенном варианте данного анализа антиген иммобилизуют в 96-луночном планшете. Способность немеченных антител блокировать связывание меченых антител с антигеном затем измеряют с помощью радиоактивных или ферментативных меток. Дополнительные подробности см., например, в Wagener C *et al.*, (1983) *J Immunol* 130: 2308-2315; Wagener C *et al.*, (1984) *J Immunol Methods* 68: 269-274; Kuroki M *et al.*, (1990) *Cancer Res* 50: 4872-4879; Kuroki M *et al.*, (1992) *Immunol Invest* 21: 523-538; Kuroki M *et al.*, (1992) *Hybridoma* 11: 391-407 и *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow E & Lane D editors выше, pp. 386-389.

[00281] В одном варианте осуществления конкурентный анализ выполняют с применением поверхностного плазмонного резонанса (BIAcore[®]), например, с помощью "тандемного подхода", например, описанного Abdiche YN *et al.*, (2009) *Analytical Biochem* 386: 172-180, при этом антиген OX40 иммобилизуют на поверхности чипа, например, сенсорного чипа CM5, и антитела к OX40 затем пропускают над чипом. Чтобы определить, конкурирует ли антитело с антителом к OX40, описанным в данном документе, антитело к OX40 сначала пропускают над поверхностью чипа для достижения насыщения, а затем добавляют потенциальное конкурирующее антитело. Связывание конкурирующего антитела затем может быть определено и рассчитано количественно относительно неконкурирующего контроля.

[00282] В определенных аспектах анализа конкурентного связывания могут быть использованы для определения того, происходит ли конкурентное блокирование антитела, например, дозозависимым образом, другим антителом, например, антитело связывает, по сути, тот же эпитоп или перекрывающиеся эпитопы, что и эталонное антитело, если два антитела распознают идентичные или стерически перекрывающиеся эпитопы в анализах конкурентного связывания, таких как конкурентные ELISA-анализы, которые могут быть сконфигурированы во всех из различных форматов, с применением меченого антигена или меченого антитела. В конкретном варианте осуществления антитело может быть исследовано в анализах конкурентного связывания с антителом, описанным в данном документе (*например*, антителом rab1949 или rab2044), или его вариантом в виде химерного или Fab-антитела, или антителом, содержащим CDR VH и CDR VL антитела,

описанного в данном документе (например, rab1949 или rab2044).

[00283] В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела, которые конкурируют (например, дозозависимым образом) за связывание с OX40 (например, OX40 человека) с антителом, описанным в данном документе (например, rab1949 или rab2044), что определяют с помощью анализов, известных специалисту в данной области техники или описанных в данном документе (например, конкурентные ELISA-анализы или поверхностный плазмонный резонанс). В другом аспекте в данном документе предусмотрены антитела, которые конкурентно ингибируют (например, дозозависимым образом) связывание антитела, описанного в данном документе (например, rab1949 или rab2044), с OX40 (например, OX40 человека), что определяют с помощью анализов, известных специалисту в данной области техники или описанных в данном документе (например, конкурентных ELISA-анализов, или технологии "suspension array", или анализа поверхностного плазмонного резонанса). В конкретных вариантах осуществления такое конкурентно блокирующее антитело запускает, индуцирует или усиливает одну или несколько видов активности OX40. В конкретных аспектах в данном документе предусмотрено антитело, которое конкурирует (например, дозозависимым образом) за специфичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) с антителом, содержащим аминокислотные последовательности, описанные в данном документе (например, аминокислотные последовательности VL и/или VH антитела rab1949 или rab2044), что определяют с помощью анализов, известных специалисту в данной области техники или описанных в данном документе (например, конкурентных ELISA-анализов, или технологии "suspension array", или анализа поверхностного плазмонного резонанса).

[00284] В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрено антитело, которое конкурирует с антителом, описанным в данном документе, за связывание с OX40 (например, OX40 человека) в той же степени, в которой антитело, описанное в данном документе, самоконкурирует за связывание с OX40 (например, OX40 человека). В некоторых вариантах осуществления в данном документе предусмотрено первое антитело, которое конкурирует с антителом, описанным в данном документе, за связывание с OX40 (например, OX40 человека), где первое антитело конкурирует за связывание в анализе, включающем следующие стадии: (a) инкубирование трансфицированных OX40 клеток с первым антителом в немеченой форме в контейнере; и (b) добавление в контейнер описанного в данном документе антитела в меченой форме и инкубирование клеток в контейнере; и (c) выявление связывания описанного в данном документе антитела в меченой форме в клетках. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрено первое антитело, которое конкурирует с антителом, описанным в данном

документе, за связывание с OX40 (например, OX40 человека), где конкуренция проявляется в виде сниженной степени связывания первого антитела с OX40 на более чем 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%, или от 80% до 85%, от 80% до 90%, от 85% до 90% или от 85% до 95%).

[00285] В конкретных аспектах в данном документе предусмотрено антитело, которое конкурирует (например, дозозависимым образом) за специфичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) с антителом, содержащим VL-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, и VH-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16.

[00286] В конкретных аспектах в данном документе предусмотрено антитело, которое конкурирует (например, дозозависимым образом) за специфичное связывание с OX40 (например, OX40 человека) с антителом, содержащим (i) VL-домен, содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности CDR VL, приведенные в таблице 1; и (ii) VH-домен, содержащий CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности CDR, приведенные в таблице 2.

[00287] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, представляет собой антитело, которое конкурентно блокируется (например, дозозависимым образом) антителом, содержащим VL-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, и VH-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16, в отношении специфичного связывания с OX40 (например, OX40 человека).

[00288] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, представляет собой антитело, которое конкурентно блокируется (например, дозозависимым образом) антителом, содержащим (i) VL-домен, содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности CDR, приведенные в таблице 1; и (ii) VH-домен, содержащий CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности CDR, приведенные в таблице 2.

[00289] В конкретных аспектах в данном документе предусмотрено антитело, которое иммуноспецифично связывается с тем же эпитопом, что и rab1949 или rab2044 при специфичном связывании с OX40 (например, OX40 человека). Анализы, известные специалисту в данной области техники или описанные в данном документе (например, рентгеновская кристаллография, водород-дейтериевый обмен в сочетании с масс-спектрометрией (например, жидкостная хроматография-масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением), сканирование аланином, ELISA-анализы и т. п.), могут быть использованы для определения того, связываются ли антитела с одним и тем же эпитопом.

[00290] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, иммуноспецифично связывается с тем же эпитопом, который связывается rab1949 или rab2044, или эпитопом, который перекрывает этот эпитоп.

[00291] В другом конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, иммуноспецифично связывается с тем же эпитопом, что и антитело, содержащее (i) VL-домен, содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие аминокислотные последовательности CDR, приведенные в таблице 1; и (ii) VH-домен, содержащий CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие аминокислотные последовательности CDR, приведенные в таблице 2.

[00292] В конкретном аспекте связывание между антителом, описанным в данном документе, и вариантным OX40 значительно ослаблено по сравнению со связыванием между антителом и последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, и при этом вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением аминокислотной мутации (например, замены), выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением любой мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A. В некоторых вариантах осуществления вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением любых двух, трех, четырех, пяти, шести или семи мутаций, выбранных из группы, состоящей из W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A. В некоторых вариантах осуществления вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением аминокислотной мутации W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A.

[00293] В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, специфически связывается с эпитопом последовательности OX40 человека, содержащей, состоящей главным образом из или состоящей из остатка SEQ ID NO: 55, выбранного из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления эпитоп содержит, состоит главным образом из или состоит из любого одного остатка, выбранного из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления эпитоп содержит, состоит главным образом из или состоит из любых двух, трех, четырех, пяти, шести или семи остатков, выбранных из группы, состоящей из 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления эпитоп содержит, состоит главным образом из или состоит из остатков 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55.

[00294] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе,

специфически связывается с эпитопом последовательности под SEQ ID NO: 55, содержащим, состоящим главным образом из или состоящим из остатка, выбранного из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления эпитоп содержит, состоит главным образом из или состоит из любого одного остатка, выбранного из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления эпитоп содержит, состоит главным образом из или состоит из любых двух, трех, четырех, пяти, шести или семи остатков, выбранных из группы, состоящей из 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления эпитоп содержит, состоит главным образом из или состоит из остатков 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55.

[00295] В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, специфически связывается по меньшей мере с одним остатком SEQ ID NO: 55, выбранным из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, специфически связывается с любым одним остатком или любыми двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью остатками, выбранными из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, специфически связывается с любыми двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью остатками, выбранными из группы, состоящей из 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, специфически связывается с остатками 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 SEQ ID NO: 55.

[00296] В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO: 55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации (например, замены), выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним. В некоторых вариантах осуществления белок является идентичным SEQ ID NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации, включающей любую одну мутацию или любые две, три, четыре, пять, шесть или семь мутаций, выбранных из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A. В некоторых вариантах осуществления белок является идентичным SEQ ID NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации, включающей любые две, три, четыре, пять, шесть или семь мутаций, выбранных из группы, состоящей из W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A. В некоторых вариантах осуществления белок является идентичным SEQ ID NO: 55, за исключением

присутствия аминокислотной замены, включающей мутации W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A.

[00297] В определенных вариантах осуществления эпитоп для антитела, описанного в данном документе, используется в качестве иммуногена для получения антител. См., например, раздел 5.3 ниже касательно способов получения антител.

[00298] В конкретных аспектах антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), функционирует в качестве агониста.

[00299] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), повышает активность OX40 (например, OX40 человека) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе и/или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с активностью OX40 (например, OX40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), повышает активность OX40 (например, OX40 человека) на по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе и/или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с активностью OX40 (например, OX40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). Неограничивающие примеры активности OX40 (например, OX40 человека) могут включать передачу сигнала с участием OX40 (например, OX40 человека), клеточную пролиферацию, выживаемость клеток и продукцию цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), индуцирует, усиливает или повышает активность OX40 (например, OX40 человека). В конкретных вариантах осуществления повышение активности OX40 оценивают, как описано в примерах ниже.

[00300] В определенных аспектах антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), индуцирует,

усиливает или повышает клеточную пролиферацию клеток, которые экспрессируют OX40 и которые реагируют на передачу сигнала с участием OX40 (например, клетки, которые пролиферируют в ответ на стимуляцию OX40 и передачу сигнала с участием OX40, такие как Т-клетки). Анализы клеточной пролиферации описаны в данной области техники, как, например, анализ с включением ^3H -тимидина, анализ с включением BrdU или анализ с использованием CFSE, как, например, описанный в примере 2, и могут быть легко осуществимы специалистом в данной области техники. В конкретных вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4^+ или CD8^+ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются повышенной клеточной пролиферацией по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс, таким как фитогемагглютинин (РНА) и/или форболмиристатацетат (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28.

[00301] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение клеточной пролиферации (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с включением ^3H -тимидина, анализа с включением BrdU или анализа с использованием CFSE, таких как описанные в примере 2 ниже), по сравнению с пролиферацией при стимуляции активности OX40 (например, OX40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение клеточной пролиферации (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки) на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что

оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с включением ^3H -тимидина, анализа с включением BrdU или анализа с использованием CFSE, таких как описанные в примере 2 ниже), по сравнению с активностью OX40 (например, OX40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В

конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (с) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает более значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 2 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) мечение, например, подвергнутых

обогащению CD4⁺ Т-клеток, например, 10 мкМ сукцинимидилового сложного эфира диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE) в течение, например, 7 минут, например, при 37°C; (b) после тщательных промывок, стимулирование клеток (например, 10⁵ клеток в лунке), например, 3 мкг/мл, например, связанного на планшете антитела к CD3 и варьирующими концентрациями (например, 0,002, 0,02, 0,2, 2 и 20 мкг/мл), например, связанного на планшете антитела, описанного в данном документе, например, при 37°C и 5% CO₂; и (c) окрашивание клеток, например, в день 4, например, антителом к CD4, и исследование пролиферации CD4⁺ Т-клеток, например, с помощью измерения процента меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ посредством проточной цитометрии.

[00302] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном (например, антителом к CD3 или форболовым эфиром) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются клеточной пролиферацией, повышенной по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с включением ³H-тимидина, анализа с включением BrdU или анализа с использованием CFSE, таких как описанные в примере 2 ниже). В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются клеточной пролиферацией, повышенной на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс, (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28), что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с включением ³H-тимидина, анализа с включением

BrdU или анализа с использованием CFSE, таких как описанные в примере 2 ниже). В конкретном варианте осуществления клеточную пролиферацию оценивают, как описано в примере 2 ниже. В конкретных вариантах осуществления 5 мкг/мл антитела к OX40, описанного в данном документе, обеспечивает повышение пролиферации CD4 Т-клеток человека, обработанных 3 мкг/мл антитела к CD3, на по меньшей мере 20%. В конкретных вариантах осуществления 5 мкг/мл антитела к OX40, описанного в данном документе, обеспечивает повышение пролиферации CD4 Т-клеток человека, обработанных 3 мкг/мл антитела к CD3, на по меньшей мере 30%. В конкретных вариантах осуществления 5 мкг/мл антитела к OX40, описанного в данном документе, обеспечивает повышение пролиферации CD4 Т-клеток человека, обработанных 3 мкг/мл антитела к CD3, на по меньшей мере 40%. В конкретных вариантах осуществления 5 мкг/мл антитела к OX40, описанного в данном документе, обеспечивает повышение пролиферации CD4 Т-клеток человека, обработанных 3 мкг/мл антитела к CD3, на по меньшей мере 50%.

[00303] В определенных аспектах антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение выживаемости клеток (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки). В конкретном варианте осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются повышенной выживаемостью по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном. Анализы выживаемости клеток описаны в уровне техники (например, анализ с исключением окрашивания трипановым синим) и могут быть легко осуществимы специалистом в данной области техники.

[00304] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает повышение выживаемости клеток (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания

трипановым синим) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с ОХ40). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), обеспечивает повышение выживаемости клеток (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки) на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания трипановым синим), по сравнению с активностью ОХ40 (например, ОХ40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с ОХ40).

[00305] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном (например, антителом к CD3 или форболовым эфиром) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), характеризуются клеточной выживаемостью, повышенной по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмирилатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28), что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания трипановым синим). В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмирилатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), характеризуются клеточной выживаемостью, повышенной на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном, что оценивают с помощью способов,

описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания трипановым синим).

[00306] В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), обеспечивает защиту эффекторных Т-клеток (например, CD4⁺ и CD8⁺ эффекторных Т-клеток) от индуцированной активацией клеточной гибели.

[00307] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), индуцирует, усиливает или повышает продукцию цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13) на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе (см. примеры ниже, такие как пример 2) или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с продукцией цитокинов в присутствии или в отсутствии стимуляции OX40L (например, OX40L человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), индуцирует или усиливает продукцию цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе (см. примеры ниже, такие как пример 2) или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с продукцией цитокинов в присутствии или в отсутствии стимуляции OX40L (например, OX40L человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40).

[00308] В определенных вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются продукцией цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13), повышенной на по меньшей мере приблизительно 5%,

10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс, (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28), что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, способа ELISA или как описано в примерах ниже). В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), характеризуются продукцией цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13), повышенной по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс, (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28), что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, способа ELISA или как описано в примерах ниже).

[00309] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), обеспечивает повышение продукции IL-2 в ответ на стимуляцию стафилококковым энтеротоксином А (SEA) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе (см. примеры ниже, такие как пример 2) или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с продукцией IL-2 без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с ОХ40).

[00310] В определенных вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ Т-клетки), стимулированные стафилококковым энтеротоксином А (SEA) в присутствии

антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), характеризуются продукцией ИЛ-2, повышенной по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз по сравнению с Т-клетками, стимулированными только SEA, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа ELISA или как описано в примерах ниже).

[00311] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование ИЛ-2, например, клетками РВМС при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование ИЛ-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл. В определенных вариантах осуществления продукция ИЛ-2, индуцированная антителом в комбинации с SEA, представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA), индуцирует продуцирование ИЛ-2, например, клетками РВМС, где продуцирование ИЛ-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС (например, 10⁵ клеток в лунке) в отсутствии или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титра ИЛ-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), в комбинации со

стафилококковым энтеротоксином А (SEA), индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC, где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций антитела, например, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование PBMC (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (б) сбор очищенного супернатанта и измерение титров IL-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), приводит к более высокой продукции IL-2 в ответ на стимуляцию стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) при стимуляции в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 0,032 мкг/мл. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), приводит к более высокой продукции IL-2 в ответ на стимуляцию стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) при стимуляции в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 0,16 мкг/мл.

[00312] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) индуцирует продуцирование IL-2, например, клетками PBMC при стимулировании в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, что измеряют, например, с помощью электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery), где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл. В определенных вариантах осуществления продукция IL-2, индуцированная антителом в комбинации с SEA, характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к OX40 составляет, *например*, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл

до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл. В другом варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA), индуцирует продуцирование ИЛ-2, например, клетками РВМС, где продуцирование ИЛ-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к ОХ40 составляет, например, от 0,032 мкг/мл до 20 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титра ИЛ-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В определенных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), в комбинации со стафилококковым энтеротоксином А (SEA), индуцирует продуцирование ИЛ-2, например, клетками РВМС, где продуцирование ИЛ-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ, если концентрация антитела к ОХ40 составляет, например, от 0,16 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,8 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 4 мкг/мл до 20 мкг/мл, от 0,032 мкг/мл до 4 мкг/мл, от 0,16 мкг/мл до 4 мкг/мл или от 0,8 мкг/мл до 4 мкг/мл, что оценивают, например, в анализе, включающем следующие стадии: (а) культивирование РВМС (например, 10^5 клеток в лунке) в отсутствие или в присутствии варьирующих концентраций (например, 20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064, 0,00128 и 0,000256 мкг/мл) антитела, и, например, 100 нг/мл SEA, в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности; и (b) сбор очищенного супернатанта и измерение титров ИЛ-2 с помощью, например, электрохемилюминесценции, например, с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery). В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), приводит к более высокой продукции ИЛ-2 в ответ на стимуляцию стафилококковым энтеротоксином А (SEA) (например, 100 нг/мл) при стимуляции в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 0,032 мкг/мл. В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), приводит к более высокой продукции ИЛ-2 в ответ на стимуляцию стафилококковым энтеротоксином А (SEA)

(например, 100 нг/мл) при стимуляции в течение, например, 5 дней, например, при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%, если антитело присутствует в концентрации 20 мкг/мл, а не в концентрации 0,16 мкг/мл.

[00313] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), снижает продукцию IL-10 в ответ на стимуляцию стафилококковым энтеротоксином А (SEA) на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50%, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе (см., примеры ниже, такие как пример 2) или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с продукцией IL-10 без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40).

[00314] В определенных вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ Т-клетки), стимулированные стафилококковым энтеротоксином А (SEA) в присутствии антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются продукцией IL-10, сниженной на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% по сравнению с Т-клетками, стимулированными только SEA, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа ELISA или как описано в примерах ниже).

[00315] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), в случае связывания с активированными регуляторными Т-клетками, связывается с активирующими Fc-гамма-рецепторами, выбранными из группы, состоящей из CD16, CD32A и CD64, в большей степени (например, в 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз), чем антитело, в случае связывания с активированными эффекторными Т-клетками, связывается с активирующими Fc-гамма рецепторами, выбранными из группы, состоящей из CD16, CD32A и CD64, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с применением репортерного Fc-гамма рецептора ША (CD16) или как описано в примерах ниже). В конкретных вариантах осуществления активирующие Fc-гамма рецепторы экспрессируются на клетке, выбранной из группы, состоящей из эффекторных клеток миелоидного происхождения и эффекторных клеток лимфоцитарного происхождения. В конкретном варианте

осуществления активирующим Fc-гамма рецептором является CD16.

[00316] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), при связывании с активированными регуляторными T-клетками, вызывает более сильную активацию активирующих Fc-гамма рецепторов, выбранных из группы, состоящей из CD16, CD32A и CD64, по сравнению с активацией активирующих-Fc гамма рецепторов, выбранных из группы, состоящей из CD16, CD32A и CD64, которую вызывает антитело при связывании с активированными эффекторными T-клетками. В конкретных вариантах осуществления активация активирующих Fc-гамма рецепторов в случае, когда антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), связано с активированными регуляторными T-клетками, является по меньшей мере приблизительно в 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз сильнее, чем активация активирующих Fc-гамма рецепторов в случае, когда антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), связано с активированными эффекторными T-клетками, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с использованием репортерного Fc-гамма рецептора ША (CD16) или как описано в примерах ниже). В конкретных вариантах осуществления активирующие Fc-гамма рецепторы экспрессируются на клетке, выбранной из группы, состоящей из эффекторных клеток миелоидного происхождения и эффекторных клеток лимфоцитарного происхождения. В конкретном варианте осуществления активирующим Fc-гамма рецептором является CD16.

[00317] В конкретном аспекте в данном документе предусмотрены антагонистические антитела, которые иммуноспецифично связываются с OX40 (например, OX40 человека).

[00318] Активация передачи сигнала с участием OX40 зависит от кластеризации рецепторов с образованием рецепторных комплексов более высокого порядка, которые эффективно привлекают апикальные адапторные белки для регуляции внутриклеточной передачи сигнала. Не вдаваясь в теорию, агонистическое антитело к OX40 может опосредовать кластеризацию рецепторов посредством плеч бивалентных антител (т. е., двух плеч антител, каждое из которых связывает антиген OX40) и/или при одновременном вовлечении Fc-Fc-рецептора (FcR) на антигенпрезентирующих миелоидных или лимфоидных клетках. Соответственно, один подход к разработке антагонистического антитела к OX40 заключается в выборе антитела, которое конкурирует с лигандом OX40

(OX40L) за связывание с OX40, ослаблении или устранении связывания Fc-области антитела с Fc-рецепторами и/или применении формата моновалентного антитела. Формат моновалентного антитела может включать антитела, которые являются структурно моновалентными, такие как без ограничения антитела к OX40, содержащие только один антигенсвязывающий домен (например, только один Fab-фрагмент), или антитела, содержащие только один антигенсвязывающий домен, который связывается с OX40 (например, OX40 человека), который образует пару с тяжелой цепью или который образует пару с фрагментом тяжелой цепи (например, Fc-фрагментом). Формат моновалентного антитела также может включать антитела, которые являются функционально моновалентными, например, антитела, содержащие только один антигенсвязывающий домен, который связывается с OX40 (например, OX40 человека), который образует пару со вторым антигенсвязывающим доменом, который не связывается с антигеном, экспрессируемым иммунной клеткой человека (т. е., антитело содержит два антигенсвязывающих домена, но только один антигенсвязывающий домен связывается с OX40).

[00319] Примеры мутаций в Fc-области константного домена IgG, которые могут приводить к ослаблению связывания Fc-рецептора или в результате которых могут удаляться потенциальные сайты гликозилирования, описаны выше. В определенных вариантах осуществления константная область тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A, C127S, S228P и их комбинации. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой N297A, N297Q, D265A или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой C127S. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой S228P. В одном варианте осуществления константная область тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В определенных вариантах осуществления константная область тяжелой цепи выбрана из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. В определенных вариантах осуществления иммуноглобулины представляют собой иммуноглобулины человека. Иммуноглобулины человека, содержащие мутации (например, замены), также обозначаются в данном документе как иммуноглобулины человека. В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит константную область тяжелой цепи

иммуноглобулина IgG₁, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A или их комбинации. В одном аспекте антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₁, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₂, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₂ содержит мутацию C127S. В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₄, где аминокислотная последовательность константной области тяжелой цепи IgG₄ содержит мутацию S228P. В определенных вариантах осуществления антитело является антагонистическим.

[00320] В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), выбрано из группы, состоящей из Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и scFv-фрагмента, где Fab-, Fab'-, F(ab')₂- или scFv-фрагмент содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи и последовательность вариабельной области легкой цепи антигенсвязывающего домена антитела к OX40 или антитела, описанного в данном документе. Fab-, Fab'-, F(ab')₂- или scFv-фрагмент может быть получен с помощью любой методики, известной специалистам в данной области техники, в том числе без ограничения методики, рассматриваемой в разделе 5.3 ниже. В определенных вариантах осуществления Fab-, Fab'-, F(ab')₂- или scFv-фрагмент дополнительно содержит компонент, который увеличивает время полужизни антитела *in vivo*. Этот компонент также называется "увеличивающим время полужизни компонентом". Может быть использован любой компонент для увеличения времени полужизни Fab-, Fab'-, F(ab')₂- или scFv-фрагмента *in vivo*, известный специалистам в данной области техники. Например, увеличивающий время полужизни компонент может включать Fc-область, полимер, альбумин или альбуминсвязывающий белок или соединение. Полимер может включать встречающийся в природе или синтетический, необязательно замещенный полиалкилен, полиалкенилен, полиоксиалкилен, полисахарид, полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, поливиниловый спирт, метоксиполиэтиленгликоль, лактозу, амилозу, декстран, гликоген с прямой или

разветвленной цепью или их производное. Заместители могут включать одну или несколько гидроксильных, метильных или метоксигрупп. В определенных вариантах осуществления Fab-, Fab'-, F(ab')₂- или scFv-фрагмент может быть модифицирован путем добавления одной или нескольких С-концевых аминокислот для возможности присоединения увеличивающего время полужизни компонента. В определенных вариантах осуществления увеличивающий время полужизни компонент представляет собой полиэтиленгликоль или сывороточный альбумин человека. В определенных вариантах осуществления Fab-, Fab'-, F(ab')₂- или scFv-фрагмент слит с Fc-областью. В определенных вариантах осуществления антитело является антагонистическим.

[00321] В конкретном аспекте антитело, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит одну тяжелую цепь и одну легкую цепь (т. е., антитело не содержит какой-либо дополнительной тяжелой цепи или легкой цепи и содержит, состоит из или состоит главным образом из одной пары тяжелая цепь-легкая цепь), где тяжелая цепь и легкая цепь содержат соответственно последовательность вариабельной области тяжелой цепи и последовательность вариабельной области легкой цепи антигенсвязывающего домена антитела к OX40 или антитела, описанного в данном документе. В определенных вариантах осуществления тяжелая цепь содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A, C127S, S228P и их комбинации. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой N297A, N297Q, D265A или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой C127S. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой S228P. В определенных вариантах осуществления тяжелая цепь содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В определенных вариантах осуществления тяжелая цепь выбрана из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. В определенных вариантах осуществления иммуноглобулины представляют собой иммуноглобулины человека. В определенных вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь IgG₁, содержащую мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A или их комбинации. В определенных вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь IgG₂, содержащую мутацию C127S. В определенных вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь IgG₄, содержащую мутацию S228P. В определенных вариантах осуществления тяжелая цепь представляет собой тяжелую цепь IgG₁, содержащую мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В определенных вариантах осуществления антитело является антагонистическим.

[00322] В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), содержит первый антигенсвязывающий домен, который связывается с ОХ40, описанным в данном документе, и второй антигенсвязывающий домен, которые не связывается специфически с антигеном, экспрессируемым иммунной клеткой человека (т. е., второй антигенсвязывающий домен не связывается с ОХ40 или любым другим антигеном, экспрессируемым иммунной клеткой человека), как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления первый и второй антигенсвязывающие домены содержат комплементарные СНЗ-домены. Например, комплементарные СНЗ-домены способствуют тому, чтобы между тяжелой цепью первого антигенсвязывающего домена и тяжелой цепью второго антигенсвязывающего домена происходила гетеродимеризация, а не гомодимеризация соответствующих антигенсвязывающих доменов. Любая методика, известная специалистам в данной области техники, может быть использована для получения комплементарных СНЗ-доменов, в том числе без ограничения технология "выступ во впадине", как описано в Ridgway JBB *et al.*, (1996) *Protein Eng* 9(7): 617-621 и Merchant M *et al.* Например, согласно технологии "выступ во впадине" небольшая аминокислота замещается более крупной аминокислотой (т. е., "выступ") в первом СНЗ-домене и крупная аминокислота замещается меньшей аминокислотой (т. е., "впадина") во втором СНЗ-домене. Полипептиды, содержащие СНЗ-домены, затем могут димеризоваться на основании взаимодействия выступа и впадины. В определенных вариантах осуществления один из антигенсвязывающих доменов содержит первый СНЗ-домен IgG₁, содержащий замену, выбранную из группы, состоящей из Т366Y и Т366W, и другой антигенсвязывающий домен содержит второй СНЗ-домен IgG₁, содержащий замену, выбранную из группы, состоящей из Y407T, Т366S, L368A и Y407V. В определенных вариантах осуществления антиген, с которым связывается второй антигенсвязывающий домен, не экспрессируется в естественных условиях иммунной клеткой человека. В определенных вариантах осуществления иммунная клетка выбрана из группы, состоящей из Т-клетки (например, CD4⁺ Т-клетки или CD8⁺ Т-клетки), В-клетки, клетки естественного киллера, дендритной клетки, макрофага и эозинофила. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с ОХ40, содержит первую VH и первую VL, и второй антигенсвязывающий домен содержит вторую VH и вторую VL. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с ОХ40, содержит первую тяжелую цепь и первую легкую цепь, и второй антигенсвязывающий домен содержит вторую тяжелую цепь и вторую легкую цепь. В определенных вариантах осуществления антитело предназначено

для введения в образец или субъекту, у которого второй антигенсвязывающий домен является неактивным (т. е., антиген, с которым связывается второй антигенсвязывающий домен, не присутствует в образце или у субъекта). В определенных вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен не связывается специфически с антигеном на клетке, экспрессирующей OX40 (например, второй антигенсвязывающий домен не связывается с антигеном, который в естественных условиях экспрессируется клеткой, которая экспрессирует OX40). В определенных вариантах осуществления антитело функционирует в виде моновалентного антитела (т. е., моновалентного антитела к OX40) в образце или у субъекта, где первый антигенсвязывающий домен антитела связывается с OX40, в то время как второй антигенсвязывающий домен является неактивным в образце или у субъекта (например, в связи с отсутствием антигена, с которым связывается второй антигенсвязывающий домен в образце или у субъекта). В определенных вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с антигеном, не являющимся человеческим (т. е., антигеном, экспрессируемым у других организмов, а не у человека). В определенных вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с вирусным антигеном. В определенных вариантах осуществления вирусный антиген происходит из вируса, который не инфицирует человека (т. е., не поражающего человека вируса). В определенных вариантах осуществления вирусный антиген отсутствует в иммунной клетке человека (например, иммунная клетка человека не инфицирована вирусом, ассоциированным с вирусным антигеном). В определенных вариантах осуществления вирусный антиген представляет собой антиген HIV. В определенных вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с альбумином курицы или лизоцимом куриного яйца. В определенных вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с антигеном, который не экспрессируется клетками дикого типа (например, человеческими клетками дикого типа) (т. е., отсутствует у них). В определенных вариантах осуществления второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с опухоль-ассоциированным антигеном, который не экспрессируется нормальными клетками (например, клетками дикого типа, например, человеческими клетками дикого типа) (т. е., отсутствует у них). В определенных вариантах осуществления опухоль-ассоциированный антиген не экспрессируется клетками человека (т. е., отсутствует у них). В определенных вариантах осуществления константная область тяжелой цепи второго антигенсвязывающего домена содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A, C127S, S228P и их комбинации. В определенных вариантах осуществления мутация представляет

собой N297A, N297Q, D265A или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой C127S. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой S228P. В определенных вариантах осуществления константная область тяжелой цепи второго антигенсвязывающего домена содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В определенных вариантах осуществления константная область тяжелой цепи первого и второго антигенсвязывающих доменов выбрана из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. В определенных вариантах осуществления иммуноглобулины представляют собой иммуноглобулины человека. В определенных вариантах осуществления константные области тяжелой цепи первого и второго антигенсвязывающих доменов представляют собой один и тот же изотип. В определенных вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен содержит константную область первой тяжелой цепи IgG₁ и второй антигенсвязывающий домен содержит константную область второй тяжелой цепи IgG₁, где константные области первой и второй тяжелых цепей содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A или их комбинации. В определенных вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен содержит константную область первой тяжелой цепи IgG₁ и второй антигенсвязывающий домен содержит константную область второй тяжелой цепи IgG₁, где константные области первой и второй тяжелых цепей содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A или их комбинации. В определенных вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен содержит константную область первой тяжелой цепи IgG₂ и второй антигенсвязывающий домен содержит константную область второй тяжелой цепи IgG₂, где константные области первой и второй тяжелых цепей содержат мутацию C127S. В определенных вариантах осуществления первый антигенсвязывающий домен содержит константную область первой тяжелой цепи IgG₄ и второй антигенсвязывающий домен содержит константную область второй тяжелой цепи IgG₄, где константные области первой и второй тяжелых цепей содержат мутацию S228P. В определенных вариантах осуществления антитело является антагонистическим.

[00323] В конкретном аспекте антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40, содержащий первую тяжелую цепь и первую легкую цепь; и вторую тяжелую цепь или ее фрагмент. В определенных вариантах осуществления первая и вторая тяжелая цепь или фрагмент второй тяжелой цепи содержат комплементарные СНЗ-домены. Например, комплементарные СНЗ-

домены способствуют тому, чтобы между тяжелыми цепями происходила гетеродимеризация, а не гомодимеризация соответствующих тяжелых цепей. В определенных вариантах осуществления одна из тяжелых цепей содержит первый СНЗ-домен IgG₁, содержащий замену, выбранную из группы, состоящей из T366Y и T366W, и другая тяжелая цепь содержит второй СНЗ-домен IgG₁, содержащий замену, выбранную из группы, состоящей из Y407T, T366S, L368A, Y407V. В некоторых вариантах осуществления фрагмент второй тяжелой цепи представляет собой Fc-фрагмент. В определенных вариантах осуществления вторая тяжелая цепь или ее фрагмент происходят из антигенсвязывающего домена, который специфически связывается с антигеном, не являющимся человеческим (т. е., антигеном, экспрессируемым у других организмов, а не у человека). В определенных вариантах осуществления вторая тяжелая цепь или ее фрагмент происходят из антигенсвязывающего домена, который специфически связывается с вирусным антигеном. В определенных вариантах осуществления вирусный антиген отсутствует в иммунной клетке человека (например, иммунная клетка человека не инфицирована вирусом, ассоциированным с вирусным антигеном). В определенных вариантах осуществления вирусный антиген представляет собой антиген HIV. В определенных вариантах осуществления вторая тяжелая цепь или ее фрагмент происходят из антигенсвязывающего домена, который специфически связывается с альбумином курицы или лизоцимом куриного яйца. В определенных вариантах осуществления вторая тяжелая цепь или ее фрагмент происходят из антигенсвязывающего домена, который специфически связывается с антигеном, который не экспрессируется клетками дикого типа (например, человеческими клетками дикого типа) (т. е., отсутствует у них). В определенных вариантах осуществления вторая тяжелая цепь или ее фрагмент происходят из антигенсвязывающего домена, который специфически связывается с опухоль-ассоциированным антигеном, который не экспрессируется нормальными клетками (например, клетками дикого типа, например, человеческими клетками дикого типа) (т. е., отсутствует у них). В определенных вариантах осуществления опухоль-ассоциированный антиген не экспрессируется клетками человека (т. е., отсутствует у них). В определенных вариантах осуществления вторая тяжелая цепь или ее фрагмент содержат мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A, C127S, S228P и их комбинации. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой N297A, N297Q, D265A или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой C127S. В определенных вариантах осуществления мутация представляет собой S228P. В определенных вариантах осуществления вторая тяжелая цепь или ее фрагмент содержат мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и

их комбинации. В определенных вариантах осуществления константные области первой и второй тяжелых цепей выбраны из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. В определенных вариантах осуществления иммуноглобулины представляют собой иммуноглобулины человека. В определенных вариантах осуществления константные области первой и второй тяжелых цепей представляют собой один и тот же изотип. В определенных вариантах осуществления константные области первой и второй тяжелых цепей представляют собой константные области IgG₁ и содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A или их комбинации. В определенных вариантах осуществления константные области первой и второй тяжелых цепей представляют собой константные области IgG₁ и содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации. В определенных вариантах осуществления константные области первой и второй тяжелых цепей представляют собой константные области тяжелой цепи IgG₂ и содержат мутацию S127S. В определенных вариантах осуществления константные области первой и второй тяжелых цепей представляют собой константные области тяжелой цепи IgG₄ и содержат мутацию S228P. В определенных вариантах осуществления антитело является антагонистическим.

[00324] В вышеуказанных аспектах, относящихся к антителу, содержащему антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), и либо второй антигенсвязывающий фрагмент, либо вторую тяжелую цепь или ее фрагмент, антигенсвязывающий домен может содержать любую из последовательностей, связывающихся с OX40, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека (например, OX40 человека), содержит (a) первый переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) 1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO:4); VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO:5); и VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO:6); и (b) первый переменный домен легкой цепи (VL), содержащий VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO:1); VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO:2); и VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO:3). В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), специфически связывается

с тем же эпитопом OX40 (например, OX40 человека), что и антитело, содержащее VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16, и VL, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO:55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH и VL, где VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH и VL, где VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с OX40, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:16. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который связывается с OX40, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевой линии человека IGHV3-73 (например, IGHV3-73*01, например, с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:19). В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:15. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:3. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40

человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:20. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:50. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевой линии человека IGKV2-28 (например, IGKV2-28*01, например, с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO:18). В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит последовательности VH и VL, изложенные в SEQ ID NO: 16 и 15 соответственно. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 21. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из мутации N297A, N297Q, D265A или их комбинации. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.

[00325] В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, является антагонистическим по отношению к OX40 (например, OX40 человека). В определенных вариантах осуществления антитело прекращает, снижает или ингибирует активность OX40 (например, OX40 человека). В определенных вариантах осуществления антитело ингибирует или ослабляет связывание OX40 (например, OX40 человека) с лигандом OX40 (например, лигандом OX40 человека). В определенных вариантах осуществления антитело ингибирует или ослабляет передачу сигнала с участием OX40 (например, OX40 человека). В определенных вариантах осуществления антитело ингибирует или ослабляет активность OX40 (например, OX40 человека) (например, передачу сигнала с участием OX40), индуцированную лигандом OX40 (например, лигандом OX40 человека). В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, ингибирует или снижает

пролиферацию Т-клеток. В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, ингибирует или снижает пролиферацию Т-клеток. В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, ингибирует или снижает продукцию цитокинов (например, ингибирует или снижает продукцию IL-2, TNF α , IFN γ , IL-4, IL-10, IL-13 или их комбинацию стимулированными Т-клетками). В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, ингибирует или снижает продукцию IL-2 стимулированными SEA Т-клетками. В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, блокирует взаимодействие OX40 и OX40L (например, блокирует связывание OX40L и OX40 друг с другом, например, блокирует связывание лиганда OX40 человека и OX40 человека)).

[00326] В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), снижает активность OX40 (например, OX40 человека) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе и/или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с активностью OX40 (например, OX40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), снижает активность OX40 (например, OX40 человека) на по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе и/или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с активностью OX40 (например, OX40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). Неограничивающие примеры активности OX40 (например, OX40 человека) могут включать передачу сигнала с участием OX40 (например, OX40 человека), клеточную пролиферацию, выживаемость клеток и продукцию цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13). В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), ингибирует, снижает или прекращает активность OX40 (например, OX40 человека). В конкретных вариантах

осуществления активность ОХ40 оценивают, как описано в примерах ниже.

[00327] В определенных аспектах антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), ингибирует, снижает или прекращает клеточную пролиферацию клеток, которые экспрессируют ОХ40 и которые реагируют на передачу сигнала с участием ОХ40 (например, клетки, которые пролиферируют в ответ на стимуляцию ОХ40 и передачу сигнала с участием ОХ40, такие как Т-клетки). Анализы клеточной пролиферации описаны в данной области техники, как, например, анализ с включением ³Н-тимидина, анализ с включением BrdU или анализ с использованием CFSE, как, например, описанный в примерах ниже, и могут быть легко осуществимы специалистом в данной области техники. В конкретных вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антагонистического антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), характеризуются сниженной клеточной пролиферацией по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс, таким как фитогемагглютинин (РНА) и/или форболмиристатацетат (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28.

[00328] В определенных аспектах антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), снижает выживаемость клеток (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки). В конкретном варианте осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антагонистического антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), характеризуются сниженной выживаемостью по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном. Анализы выживаемости клеток описаны в уровне техники (например, анализ с исключением окрашивания трипановым синим) и могут быть легко осуществимы специалистом в данной области техники.

[00329] В конкретных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), обеспечивает снижение выживаемости клеток (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания трипановым синим) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с ОХ40). В конкретных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), обеспечивает снижение выживаемости клеток (например, Т-клеток, таких как CD4 и CD8 эффекторные Т-клетки) на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания трипановым синим), по сравнению с активностью ОХ40 (например, ОХ40 человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с ОХ40).

[00330] В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном (например, антителом к CD3 или форболовым эфиром) в присутствии антагонистического антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), характеризуются клеточной выживаемостью, повышенной по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28), что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания трипановым синим). В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством,

стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антагонистического антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются клеточной выживаемостью, сниженной на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99% по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа с исключением окрашивания трипановым синим).

[00331] В определенных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое специфически связывается с OX40 (например, OX40 человека), не обеспечивает защиту эффекторных Т-клеток (например, CD4⁺ и CD8⁺ эффекторных Т-клеток) от индуцированной активацией клеточной гибели.

[00332] В конкретных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), ингибирует, снижает или прекращает продукцию цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13) на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе (см. примеры ниже) или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с продукцией цитокинов в присутствии или в отсутствии стимуляции OX40L (например, OX40L человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40). В конкретных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), ингибирует или снижает продукцию цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе (см. примеры ниже, такие как пример 2) или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с продукцией цитокинов в присутствии или в отсутствии стимуляции OX40L (например, OX40L человека) без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не

связывается иммуноспецифично с OX40).

[00333] В определенных вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антагонистического антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются продукцией цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13), сниженной на по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% или 99%, по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс, (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28), что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, способа ELISA или как описано в примерах ниже). В некоторых вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ эффекторные Т-клетки), стимулированные Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28) в присутствии антагонистического антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются продукцией цитокинов (например, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13), сниженной по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, по сравнению с Т-клетками, стимулированными только Т-клеточным митогеном или средством, стимулирующим Т-клеточный рецепторный комплекс, (например, фитогемагглютинином (РНА) и/или форболмиристатацетатом (РМА), или стимулирующим TCR-комплекс антителом, таким как антитело к CD3 и антитело к CD28), что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, способа ELISA или как описано в примерах ниже).

[00334] В конкретных вариантах осуществления антагонистическое антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40

человека), обеспечивает снижение продуцирования IL-2 в ответ на стимуляцию стафилококковым энтеротоксином А (SEA) по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе (см. примеры ниже, такие как пример 2) или известных специалисту в данной области техники, по сравнению с продукцией IL-2 без какого-либо антитела или в присутствии неродственного антитела (например, антитела, которое не связывается иммуноспецифично с OX40).

[00335] В определенных вариантах осуществления Т-клетки (например, CD4⁺ или CD8⁺ Т-клетки), стимулированные стафилококковым энтеротоксином А (SEA) в присутствии антагонистического антитела, описанного в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), характеризуются продукцией IL-2, сниженной по меньшей мере в приблизительно 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 9 раз, 10 раз, 15 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или 100 раз по сравнению с Т-клетками, стимулированными только SEA, что оценивают с помощью способов, описанных в данном документе или известных специалисту в данной области техники (например, анализа ELISA или как описано в примерах ниже).

[00336] Антитело к OX40 может быть слитым или конъюгированным (например, ковалентно или нековалентно связанным) с выявляемой меткой или веществом. Примеры выявляемых меток или веществ включают ферментные метки, такие как глюкозооксидаза; радиоизотопы, такие как йод (¹²⁵I, ¹²¹I), углерод (¹⁴C), сера (³⁵S), тритий (³H), индий (¹²¹In) и технеций (⁹⁹Tc); люминесцентные метки, такие как люминол; и флуоресцентные метки, такие как флуоресцеин, родамин и биотин. Такие меченые антитела могут быть использованы для выявления белка OX40 (например, OX40 человека). См., например, раздел 5.5.2 ниже.

5.3 Получение антител

[00337] Антитела, которые иммуноспецифично связываются с OX40 (например, OX40 человека) могут быть получены с помощью любого известного в данной области техники способа синтеза антител, например, химического синтеза или с помощью методик рекомбинантной экспрессии. В способах, описанных в данном документе, применяются, если не указано иное, стандартные методики молекулярной биологии, микробиологии, генетического анализа, рекомбинантной ДНК, органической химии, биохимии, ПЦР, олигонуклеотидного синтеза и модификации, гибридизации нуклеиновых кислот и смежных областей, которые находятся в пределах компетентности специалиста в данной

области. Эти методики описаны, например, в источниках литературы, цитируемых в данном документе, и полностью изложены в литературе. См., например, Maniatis T *et al.*, (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 и ежегодные дополнения); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 и ежегодные дополнения) Gait (ed.) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren B *et al.*, (eds.) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

[00338] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, представляет собой антитело (например, рекомбинантное антитело), полученное, экспрессируемое, созданное или выделенное с помощью любых способов, которые включают создание, например, посредством синтеза, генной инженерии последовательностей ДНК. В определенных вариантах осуществления такое антитело содержит последовательности (например, последовательности ДНК или аминокислотные последовательности), которые не встречаются в природе в зародышевом репертуаре антител животного или млекопитающего (например, человека) *in vivo*.

[00339] В определенном аспекте в данном документе предусмотрен способ получения антитела, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), включающий культивирование клетки или клетки-хозяина, описанных в данном документе. В определенном аспекте в данном документе предусмотрен способ получения антитела, которое иммуноспецифично связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), включающий экспрессию (например, рекомбинантную экспрессию) антитела клеткой или клеткой-хозяином, описанными в данном документе (например, клеткой или клеткой-хозяином, содержащими полинуклеотиды, кодирующие антитело, описанное в данном документе). В конкретном варианте осуществления клетка представляет собой выделенную клетку. В конкретном варианте осуществления экзогенные полинуклеотиды были введены в клетку. В конкретном варианте осуществления способ дополнительно включает стадию очистки антитела, полученного из клетки или клетки-хозяина.

[00340] Способы получения поликлональных антител известны в данной области техники (см., например главу 11 в *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, eds., John Wiley and Sons, New York).

[00341] Моноклональные антитела могут быть получены с помощью множества

методик, известных в данной области техники, в том числе с использованием гибридомы, рекомбинантных технологий и технологий фагового дисплея или их комбинации. Например, моноклональные антитела могут быть получены с помощью методик с использованием гибридомы, в том числе известных в данной области техники и описанных, например, в Harlow E & Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling GJ *et al.*, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981). Термин "моноклональное антитело", используемый в данном документе, не ограничен антителами, получаемыми с помощью гибридомной технологии. Например, моноклональные антитела могут быть получены рекомбинантным путем из клеток-хозяев, экзогенно экспрессирующих антитело, описанное в данном документе.

[00342] В конкретных вариантах осуществления "моноклональное антитело", как используется в данном документе, представляет собой антитело, продуцируемое одной клеткой (например, гибридомой или клеткой-хозяином, продуцирующими рекомбинантное антитело), где антитело иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), что определяют, например, с помощью ELISA или другого анализа на основе связывания с антигеном или анализа конкурентного связывания, известных в данной области техники или описанных в примерах, представленных в данном документе. В конкретных вариантах осуществления моноклональное антитело может представлять собой химерное антитело или гуманизированное антитело. В определенных вариантах осуществления моноклональное антитело представляет собой моновалентное антитело или поливалентное (например, бивалентное) антитело. В определенных вариантах осуществления моноклональное антитело может представлять собой Fab-фрагмент или F(ab')₂-фрагмент. Моноклональные антитела, описанные в данном документе, например, могут быть получены с помощью способа с использованием гибридомы, как описано в Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495, или например, могут быть выделены из фаговых библиотек с помощью методик, например, описанных в данном документе. Другие способы получения клональных клеточных линий и моноклональных антител, экспрессируемых ими, хорошо известны в данной области техники (см., например, главу 11 в *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, выше).

[00343] Способы получения и скрининга в отношении специфических антител с использованием гибридомной технологии являются обычными и хорошо известными из уровня техники. Например, в способе с использованием гибридомы мышь или другое подходящее животное-хозяина, такое как овца, коза, кролик, крыса, хомяк или макак, иммунизируют с целью получения лимфоцитов, которые вырабатывают или способны

вырабатывать антитела, которые будут специфически связываться с белком (например, ОХ40 (например, ОХ40 человека)), используемым для иммунизации. Альтернативно, лимфоциты можно подвергать иммунизации *in vitro*. Лимфоциты затем сливают с клетками миеломы с помощью подходящего средства для слияния, такого как полиэтиленгликоль, с получением клетки гибридомы (Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)). Кроме того, для иммунизации животного может быть использована методика RIMMS (с применением нескольких сайтов повторной иммунизации) (Kilpatrick KE *et al.*, (1997) *Hybridoma* 16:381-9, включенная посредством ссылки во всей своей полноте).

[00344] В некоторых вариантах осуществления мыши (или другие животные, такие как крысы, обезьяны, ослы, свиньи, овцы, хомяки или собаки) могут быть иммунизированы антигеном (например, ОХ40 (например, ОХ40 человека)) и непосредственно после выявления иммунного ответа, например, после выявления в сыворотке мышей антител, специфичных в отношении антигена, селезенку мыши извлекают и выделяют спленоциты. Спленоциты затем сливают с помощью хорошо известных методик с любыми подходящими клетками миеломы, например, клетками клеточной линии SP20, доступной из Американской коллекции типовых культур (ATCC®) (Манассас, Вирджиния), с получением гибридом. Гибридомы отбирают и клонируют посредством предельного разведения. В определенных вариантах осуществления лимфатические узлы иммунизированных мышей извлекают и сливают с клетками миеломы NS0.

[00345] Клетки гибридомы, полученные таким образом, высевают и выращивают в подходящей среде для культивирования, которая предпочтительно содержит одно или несколько веществ, которые ингибируют рост или выживание неслитых исходных клеток миеломы. Например, если у исходных клеток миеломы отсутствует фермент гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), среда для культивирования гибридомы, как правило, будет включать гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), вещества, которые препятствуют росту клеток с недостаточностью HGPRT.

[00346] В конкретных вариантах осуществления используются клетки миеломы, которые эффективно сливаются, поддерживают стабильную выработку антител на высоком уровне отобранными продуцирующими антитела клетками и являются чувствительными к среде, такой как среда HAT. Среди этих клеточных линий миеломы имеются мышинные миеломные линии, такие как клеточная линия NS0 или полученные из опухолей мышей MOPC-21 и MPC-11, доступные от Центра распределения клеток при институте Солка, Сан-Диего, Калифорния, США, и клетки SP-2 или X63-Ag8.653, доступные от Американской коллекции типовых культур, Роквилль, Мериленд, США. Клеточные линии миеломы

человека или гетеромиеломные клеточные линии мыши и человека также были описаны в отношении получения моноклональных антител человека (Kozbor D (1984) J Immunol 133: 3001-5; Brodeur *et al.*, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

[00347] Среду для культивирования, в которой растут клетки гибридомы, анализируют в отношении выработки моноклональных антител, направленных против ОХ40 (например, ОХ40 человека). Специфичность связывания моноклональных антител, вырабатываемых клетками гибридомы, определяют с помощью способов, известных в данной области техники, например, иммунопреципитации или с помощью анализа связывания *in vitro*, такого как радиоиммунологический анализ (RIA) или ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA).

[00348] После идентификации клеток гибридомы, которые вырабатывают антитела с требуемой специфичностью, аффинностью и/или активностью, клоны могут быть субклонированы с помощью процедур предельного разведения и выращены с помощью стандартных способов (Goding JW (Ed), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, выше). Подходящие среды для культивирования с этой целью включают, например, среду D-MEM или RPMI 1640. Кроме того, клетки гибридомы могут быть выращены *in vivo* в виде асцитных опухолей у животного.

[00349] Моноклональные антитела, секретируемые субклонами, подходящим образом отделяют от среды для культивирования, асцитной жидкости или сыворотки крови с помощью стандартных процедур очистки иммуноглобулинов, таких как, например, хроматография с гидроксипатитом с использованием белка А на сефарозе, гель-электрофорез, диализ или аффинная хроматография.

[00350] Антитела, описанные в данном документе, могут быть получены с помощью любой методики, известной специалистам в данной области техники. Например, Fab- и F(ab')₂-фрагменты, описанные в данном документе, могут быть получены с помощью протеолитического расщепления молекул иммуноглобулинов с использованием ферментов, таких как папаин (для получения Fab-фрагментов) или пепсин (для получения F(ab')₂-фрагментов). Fab-фрагмент соответствует одному из двух идентичных плеч тетрамерной молекулы антитела и содержит всю легкую цепь, образующую пару с VH- и CH1-доменами тяжелой цепи. F(ab')₂-фрагмент содержит два антигенсвязывающих плеча тетрамерной молекулы антитела, связанных дисульфидными связями в шарнирной области.

[00351] Кроме того, антитела, описанные в данном документе, также могут быть получены с помощью различных способов фагового дисплея, известных в данной области техники. В способах фагового дисплея белки представлены на поверхности фаговых

частиц, которые несут последовательности полинуклеотидов, кодирующие их. В частности, последовательности ДНК, кодирующие VH- и VL-домены, амплифицируют из библиотек кДНК животных (например, библиотек кДНК пораженных тканей человека и мыши). Осуществляют рекомбинацию ДНК, кодирующей домены VH и VL, вместе с линкером scFv с помощью ПЦР и ее клонируют в фагмидный вектор. Вектор вводят в *E. coli* путем электропорации, и *E. coli* инфицируют фагом-помощником. Фаг, используемый в этих способах, как правило, представляет собой нитевидный фаг, в том числе fd и M13, и VH- или VL-домены обычно сливают рекомбинантным путем либо с геном III, либо с геном VIII фага. Фаг, экспрессирующий антитело, которое связывается с определенным антигеном, может быть выбран или идентифицирован с помощью антигена, например, с использованием меченого антигена или антигена, связанного с твердой поверхностью или гранулой или зафиксированного на них. Примеры способов с использованием фагового дисплея, которые могут быть использованы для получения антител, описанных в данном документе, включают раскрытые в Brinkman U *et al.*, (1995) J Immunol Methods 182: 41-50; Ames RS *et al.*, (1995) J Immunol Methods 184: 177-186; Kettleborough CA *et al.*, (1994) Eur J Immunol 24: 952-958; Persic L *et al.*, (1997) Gene 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 57: 191-280; заявке согласно РСТ № РСТ/GB91/001134; международных публикациях №№ WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/1 1236, WO 95/15982, WO 95/20401 и WO 97/13844; и патентах США №№ 5698426, 5223409, 5403484, 5580717, 5427908, 5750753, 5821047, 5571698, 5427908, 5516637, 5780225, 5658727, 5733743 и 5969108.

[00352] Как описано в указанных выше источниках, после отбора фага кодирующие антитело участки можно выделять из фага и использовать их для получения антител, в том числе антител человека, и экспрессировать у любого требуемого хозяина, в том числе в клетках млекопитающих, клетках насекомых, растительных клетках, у дрожжей и бактерий, например, как описано ниже. Методики рекомбинантного получения антител, таких как Fab-, Fab'- и F(ab')₂-фрагменты, также могут быть использованы с применением способов, известных в данной области техники, таких как раскрытые в публикации согласно РСТ № WO 92/22324; Mullinax RL *et al.*, (1992) BioTechniques 12(6): 864-9; Sawai H *et al.*, (1995) Am J Reprod Immunol 34: 26-34; и Better M *et al.*, (1988) Science 240: 1041-1043.

[00353] В одном аспекте для получения антител праймеры для ПЦР, в том числе нуклеотидные последовательности VH или VL, сайт рестрикции и фланкирующая последовательность для защиты сайта рестрикции, могут быть использованы для амплификации последовательностей VH или VL из матрицы, например, клонов scFv.

Используя технологии клонирования, известные специалистам в данной области техники, VH-домены, амплифицированные с помощью ПЦР, могут быть клонированы в векторы, экспрессирующие константную область VH, и VL-домены, амплифицированные с помощью ПЦР, могут быть клонированы в векторы, экспрессирующие константную область VL, например, константные области каппа- или лямбда-цепи человека. VH- и VL-домены также могут быть клонированы в один вектор, экспрессирующий необходимые константные домены. Векторами превращения тяжелой цепи и векторами превращения легкой цепи затем совместно трансфицируют клеточные линии с получением стабильных или транзистентных клеточных линий, которые экспрессируют антитела, например, IgG, с помощью методик, известных специалистам в данной области техники.

[00354] Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой различные части антитела получены из различных молекул иммуноглобулинов. Например, химерное антитело может содержать переменную область моноклонального антитела мыши или крысы, слитую с константной областью антитела человека. Способы получения химерных антител известны в данной области техники. См., например, Morrison SL (1985) *Science* 229: 1202-7; Oi VT & Morrison SL (1986) *BioTechniques* 4: 214-221; Gillies SD *et al.*, (1989) *J Immunol Methods* 125: 191-202; и патенты США №№5807715, 4816567, 4816397 и 6331415.

[00355] Гуманизированное антитело способно связываться с предварительно определенным антигеном и содержит каркасную область, имеющую, по сути, аминокислотную последовательность иммуноглобулина человека и CDR, имеющие, по сути, аминокислотную последовательность иммуноглобулина, не являющегося человеческим (например, иммуноглобулина мыши). В конкретных вариантах осуществления гуманизированное антитело также содержит по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина, как правило, иммуноглобулина человека. Антитело также может включать CH1, шарнир, CH2, CH3 и CH4-области тяжелой цепи. Гуманизированное антитело может быть выбрано из любого класса иммуноглобулинов, в том числе IgM, IgG, IgD, IgA и IgE, и любого изотипа, в том числе IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄. Гуманизированные антитела могут быть получены с помощью ряда методик, известных в данной области техники, в том числе без ограничения прививания CDR (европейский патент № EP 239400; международная публикация № 91/09967; и патенты США №№ 5225539, 5530101 и 5585089), венирования или изменения поверхности (европейские патенты №№ EP 592106 и EP 519596; Padlan EA (1991) *Mol Immunol* 28(4/5): 489-498; Studnicka GM *et al.*, (1994) *Prot Engineering* 7(6): 805-814; и Roguska MA *et al.*, (1994) *PNAS* 91: 969-973), перестановки цепей (патент США № 5565332) и методик, раскрытых, например, в патенте США № 6407213, патенте США № 5766886, международной

публикации № WO 93/17105; Tan P *et al.*, (2002) *J Immunol* 169: 1119-25; Caldas C *et al.*, (2000) *Protein Eng.* 13(5): 353-60; Morea V *et al.*, (2000) *Methods* 20(3): 267-79; Baca M *et al.*, (1997) *J Biol Chem* 272(16): 10678-84; Roguska MA *et al.*, (1996) *Protein Eng* 9(10): 895 904; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res.* 55 (23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res* 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) *Gene* 150(2): 409-10 и Pedersen JT *et al.*, (1994) *J Mol Biol* 235(3): 959-73. См. также публикацию заявки США № US 2005/0042664 A1 (24 февраля 2005 г.), которая включена посредством ссылки во всей своей полноте.

[00356] Однодоменные антитела, например, антитела, у которых отсутствуют легкие цепи, могут быть получены с помощью способов, хорошо известных в данной области техники. См. Riechmann L & Muyldermans S (1999) *J Immunol* 231: 25-38; Nuttall SD *et al.*, (2000) *Curr Pharm Biotechnol* 1(3): 253-263; Muyldermans S, (2001) *J Biotechnol* 74(4): 277-302; патент США № 6005079; и международные публикации №№ WO 94/04678, WO 94/25591 и WO 01/44301.

[00357] Кроме того, антитела, которые иммуноспецифично связываются с антигеном OX40, могут, в свою очередь, быть использованы для получения антиидиотипических антител, которые "имитируют" антиген, с помощью методик, хорошо известных специалистам в данной области техники. (См., например, Greenspan NS & Bona CA (1989) *FASEB J* 7(5): 437-444; и Nissinoff A (1991) *J Immunol* 147(8): 2429-2438).

[00358] В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое связывается с тем же эпитопом OX40 (например, OX40 человека), что и антитело к OX40, описанное в данном документе, представляет собой антитело человека. В конкретных вариантах осуществления антитело, описанное в данном документе, которое конкурентно блокирует (например, дозозависимым образом) связывание любого из антител, описанных в данном документе (например, rab1949 или rab2044), с OX40 (например, OX40 человека), представляет собой антитело человека. Антитела человека могут быть получены с помощью любого способа, известного в данной области техники. Например, могут быть использованы трансгенные мыши, у которых не могут экспрессироваться функциональные эндогенные иммуноглобулины, но у которых могут экспрессироваться гены иммуноглобулинов человека. В частности, генные комплексы иммуноглобулинов с тяжелой и легкой цепями человека могут быть введены случайным образом или с помощью гомологичной рекомбинации в мышинные эмбриональные стволовые клетки. Альтернативно, варибельная область, константная область и область разнообразия человека могут быть введены в эмбриональные стволовые клетки мыши в дополнение к генам тяжелой и легкой цепей человека. Гены тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов мыши можно сделать нефункциональными отдельно или одновременно

с введением локусов иммуноглобулинов человека с помощью гомологичной рекомбинации. В частности, гомозиготная делеция J_H-области предотвращает выработку эндогенных антител. Для получения химерных мышей модифицированные эмбриональные стволовые клетки размножают и подвергают микроинъекции в бластоцисты. Затем химерных мышей скрещивают с получением гомозиготного потомства, у которого экспрессируются антитела человека. Трансгенных мышей иммунизируют обычным путем с помощью выбранного антигена, например, всего антигена или его части (например, ОХ40). Моноклональные антитела, направленные против антигена, могут быть получены от иммунизированных трансгенных мышей с помощью стандартной гибридомной технологии. Трансгены иммуноглобулинов человека, которые несут трансгенные мыши, перегруппировываются в ходе дифференцировки В-клеток, а затем подвергаются переключению классов и соматической мутации. Таким образом, с помощью такой методики можно получать терапевтически пригодные IgG, IgA, IgM и IgE-антитела. Обзор этой технологии получения антител человека см. в Lonberg N & Huszar D (1995) *Int Rev Immunol* 13:65-93. Подробное описание этой технологии получения антител человека, моноклональных антител человека и протоколы получения таких антител см., например, в международных публикациях №№ WO 98/24893, WO 96/34096 и WO 96/33735; и патентах США №№ 5413923, 5625126, 5633425, 5569825, 5661016, 5545806, 5814318 и 5939598. Примеры мышей, у которых возможна выработка антител человека, включают XenomouseTM (Abgenix, Inc.; патенты США №№ 6075181 и 6150184), HuAb-MouseTM (Medarex, Inc./Gen Pharm; патенты США №№ 5545806 и 5569825), Trans Chromo MouseTM (Kirin) и KM MouseTM (Medarex/Kirin).

[00359] Антитела человека, которые специфически связываются с ОХ40 (например, ОХ40 человека), могут быть получены с помощью ряда способов, известных в данной области техники, в том числе способов фагового дисплея, описанных выше, с использованием библиотек антител, полученных из последовательностей иммуноглобулинов человека. См. также патенты США №№ 4444887, 4716111 и 5885793; и международные публикации №№ WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 и WO 91/10741.

[00360] В некоторых вариантах осуществления антитела человека могут быть получены с помощью гибридом мышь–человек. Например, лимфоциты периферической крови человека, трансформированные вирусом Эпштейна-Барр (EBV), могут быть слиты с клетками миеломы мыши с получением гибридом мышь–человек, секретирующих моноклональные антитела человека, и эти гибридомы мышь–человек могут быть подвергнуты скринингу для определения таковых, которые секретируют моноклональные

антитела человека, которые иммуноспецифично связываются с целевым антигеном (например, ОХ40 (например, ОХ40 человека)). Такие способы известны и описаны в данной области техники, см., например, Shinmoto H *et al.*, (2004) *Cytotechnology* 46: 19-23; Naganawa Y *et al.*, (2005) *Human Antibodies* 14: 27-31.

5.3.1 Полинуклеотиды

[00361] В определенных аспектах в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, описанное в данном документе, или его фрагмент (например, вариабельную область легкой цепи и/или вариабельную область тяжелой цепи), которое иммуноспецифично связывается с антигеном ОХ40 (например, ОХ40 человека), и векторы, например, векторы, содержащие такие полинуклеотиды для рекомбинантной экспрессии в клетках-хозяевах (например, *E. coli* и клетках млекопитающих). В данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие любое из антител, предусмотренных в данном документе, а также векторы, содержащие такие полинуклеотидные последовательности, например, векторы экспрессии, для их эффективной экспрессии в клетках-хозяевах, например, клетках млекопитающих.

[00362] Как используется в данном документе, "выделенный" полинуклеотид или молекула нуклеиновой кислоты представляет собой таковую, которая отделена от других молекул нуклеиновой кислоты, которые присутствуют в естественном источнике (например, у мыши или человека) молекулы нуклеиновой кислоты. Более того, "выделенная" молекула нуклеиновой кислоты, такая как молекула кДНК, может практически не содержать другого клеточного материала или среды для культивирования, в случае получения с помощью рекомбинантных методик, или практически не содержать предшественников химических веществ или других химических веществ, в случае химического синтеза. Например, выражение "практически не содержать" включает препараты полинуклеотида или молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие менее чем приблизительно 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% (в частности, менее чем приблизительно 10%) другого материала, например, клеточного материала, среды для культивирования, других молекул нуклеиновой кислоты, предшественников химических веществ и/или других химических веществ. В конкретном варианте осуществления молекула(молекулы) нуклеиновой кислоты, кодирующая(кодирующие) антитело, описанное в данном документе, является(являются) выделенной(выделенными) или очищенной(очищенными).

[00363] В конкретных аспектах в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела, которые

иммуноспецифично связываются с полипептидом OX40 (например, OX40 человека) и содержат аминокислотную последовательность, описанную в данном документе, а также антитела, которые конкурируют с такими антителами за связывание с полипептидом OX40 (например, дозозависимым образом), или которые связываются с тем же эпитопом, что и такие антитела.

[00364] В конкретных аспектах в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую или тяжелую цепь антитела, описанного в данном документе. Полинуклеотиды могут содержать нуклеотидные последовательности, кодирующие легкую цепь, содержащую FR и CDR VL антител, описанных в данном документе (см., например, таблицы 1 и 3). Полинуклеотиды могут содержать нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелую цепь, содержащую FR и CDR VH антител, описанных в данном документе (см., например, таблицы 2 и 4). В конкретных вариантах осуществления полинуклеотид, описанный в данном документе, кодирует VL-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15. В конкретных вариантах осуществления полинуклеотид, описанный в данном документе, кодирует VH-домен, содержащий аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16.

[00365] В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело к OX40, содержащее три CDR VL цепи, например, содержащие CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL любого из антител, описанных в данном документе (например, см. таблицу 1). В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие три CDR VH цепи, например, содержащие CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH любого из антител, описанных в данном документе (например, см. таблицу 2). В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело к OX40, содержащее три CDR VH цепи, например, содержащие CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL любого из антител, описанных в данном документе (например, см. таблицу 1) и три CDR VH цепи, например, содержащие CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH любого из антител, описанных в данном документе (например, см. таблицу 2).

[00366] В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело к OX40 или его фрагмент, содержащий VL-домен, например, содержащий FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, содержащий аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, см. таблицы 1 и 3, например, CDR VL и FR VL конкретного

антитела, идентифицируемого по названию в таблицах). В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело к OX40 или его фрагмент, содержащий VH-домен, например, содержащий FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, содержащий аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, см. таблицы 2 и 4, например, CDR VH и FR VH конкретного антитела, идентифицируемого по названию в таблицах).

[00367] В определенных вариантах осуществления полинуклеотид, описанный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, предусмотренное в данном документе, содержащее переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, SEQ ID NO: 15), где антитело иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека). В определенном варианте осуществления полинуклеотид, описанный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело rab1949 или rab2044, предусмотренное в данном документе, или его фрагмент, содержащие переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, SEQ ID NO: 15).

[00368] В определенных вариантах осуществления полинуклеотид, описанный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, предусмотренное в данном документе, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, SEQ ID NO: 16), где антитело иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека). В определенном варианте осуществления полинуклеотид, описанный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело rab1949 или rab2044, предусмотренное в данном документе, или его фрагмент, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, SEQ ID NO: 16).

[00369] В определенных аспектах полинуклеотид содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело или его фрагмент, описанные в данном документе, содержащие VL-домен, содержащий одну или несколько FR VL, содержащих аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, см. таблицу 3), где антитело иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека). В определенных аспектах полинуклеотид содержит нуклеотидную

последовательность, кодирующую антитело или его фрагмент, описанные в данном документе, содержащие VH-домен, содержащий одну или несколько FR VH, содержащих аминокислотную последовательность, описанную в данном документе (например, см. таблицу 4), где антитело иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека).

[00370] В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрен полинуклеотид, который содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело или его фрагмент, описанные в данном документе, содержащие каркасные области (например, каркасные области VL-домена и VH-домена), которые представляют собой каркасные области человека, при этом антитело иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека). В определенных вариантах осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело или его фрагмент (например, CDR или переменный домен), описанный в разделе 5.2 выше.

[00371] В конкретных аспектах в данном документе предусмотрен полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, содержащее легкую цепь и тяжелую цепь, например, отдельно легкую цепь и тяжелую цепь. Что касается легкой цепи, в конкретном варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую каппа-цепь. В другом конкретном варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую лямбда-цепь. В еще одном конкретном варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, описанное в данном документе, содержащее легкую каппа-цепь человека или легкую лямбда-цепь человека. В конкретном варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), где антитело содержит легкую цепь, и где аминокислотная последовательность VL-домена может содержать аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, и где константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность константной области легкой каппа-цепи человека. В другом варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), и содержит легкую цепь, где аминокислотная

последовательность VL-домена может содержать аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, и где константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность константной области легкой лямбда-цепи человека. Например, последовательности константных областей человека могут быть такими, как описано в патенте США № 5693780.

[00372] В конкретном варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), где антитело содержит тяжелую цепь, где аминокислотная последовательность VH-домена может содержать аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16, и где константная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность константной области тяжелой гамма- (γ) цепи человека.

[00373] В определенном варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную(нуклеотидные) последовательность(последовательности), кодирующую(кодирующие) VH-домен и/или VL-домен антитела, описанного в данном документе (например, ра91949 или раb2044, такие как SEQ ID NO: 16 в случае VH-домена или SEQ ID NO: 15 в случае VL-домена), которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека).

[00374] В еще одном варианте осуществления полинуклеотид, предусмотренный в данном документе, содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело, описанное в данном документе, которое иммуноспецифично связывается с OX40 (например, OX40 человека), где антитело содержит VL-домен и VH-домен, содержащие любые аминокислотные последовательности, описанные в данном документе, и при этом константные области содержат аминокислотные последовательности константных областей IgG₁ человека (например, аллотип 1, 17 или 3), IgG₂ человека или IgG₄ человека.

[00375] В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело к OX40 или его домен, обозначенный в данном документе, см., например, таблицы 1-4, например, антитело раb1949 или раb2044.

[00376] Также в данном документе предусмотрены полинуклеотиды, кодирующие антитело к OX40 или его фрагмент, которые оптимизированы, например, с помощью оптимизации кодона/РНК, замещения гетерологичными сигнальными последовательностями и удаления элементов нестабильности мРНК. Способы получения оптимизированных нуклеиновых кислот, кодирующих антитело к OX40 или его фрагмент

(например, легкую цепь, тяжелую цепь, VH-домен или VL-домен) для рекомбинантной экспрессии, с помощью введения изменений по кодонам и/или удаления ингибирующих областей в мРНК, могут быть выполнены путем адаптации способов оптимизации, описанных, например, в патентах США №№ 5965726; 6174666; 6291664; 6414132; и 6794498 соответственно. Например, потенциальные сайты сплайсинга и элементы нестабильности (например, элементы с высоким содержанием А/Т или А/У) в РНК могут быть подвержены мутации без изменения аминокислот, кодируемых последовательностями нуклеиновых кислот, с целью повышения стабильности РНК для рекомбинантной экспрессии. Изменения предусматривают вырожденность генетического кода, например, с помощью альтернативного кодона для идентичной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления может быть желательным изменить один или несколько кодонов для кодирования консервативной мутации, например, аналогичной аминокислоты с аналогичной химической структурой и свойствами и/или функцией, что и исходная аминокислота.

[00377] В определенных вариантах осуществления оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующая антитело к ОХ40, описанное в данном документе, или его фрагмент (например, VL-домен или VH-домен) могут гибридизироваться с антисмысловым (например, комплементарным) полинуклеотидом неоптимизированной полинуклеотидной последовательности, кодирующей антитело к ОХ40, описанное в данном документе, или его фрагмент (например, VL-домен или VH-домен). В конкретных вариантах осуществления оптимизированная нуклеотидная последовательность, кодирующая антитело к ОХ40, описанное в данном документе, или его фрагмент, гибридизуется в условиях высокой жесткости с антисмысловым полинуклеотидом неоптимизированной полинуклеотидной последовательности, кодирующей антитело к ОХ40, описанное в данном документе, или его фрагмент. В конкретном варианте осуществления оптимизированная нуклеотидная последовательность, кодирующая антитело к ОХ40, описанное в данном документе, или его фрагмент, гибридизуется в условиях гибридизации высокой жесткости, промежуточной или пониженной жесткости с антисмысловым полинуклеотидом неоптимизированной нуклеотидной последовательности, кодирующей антитело к ОХ40, описанное в данном документе, или его фрагмент. Информация касательно условий гибридизации была описана, см., например, публикацию патентной заявки США № US 2005/0048549 (например, абзацы 72-73), которая включена в данный документ с помощью ссылки.

[00378] С помощью любого способа, известного из уровня техники, можно получить полинуклеотиды и можно определить нуклеотидную последовательность

полинуклеотидов. Нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела, описанные в данном документе, например, антитела, описанные в таблицах 1-4, и модифицированные варианты этих антител, могут быть определены с помощью способов, хорошо известных в данной области техники, т.е., нуклеотидные кодоны, для которых известно, что они кодируют определенные аминокислоты, собирают таким образом, чтобы получить нуклеиновую кислоту, которая кодирует антитело. Такой полинуклеотид, кодирующий антитело, может быть собран из синтезированных химическим путем олигонуклеотидов (например, как описано в Kutmeier G *et al.*, (1994), *BioTechniques* 17: 242-246), который, вкратце, включает синтез перекрывающихся олигонуклеотидов, содержащих части последовательности, кодирующей антитела, отжиг и лигирование этих олигонуклеотидов, и затем амплификацию лигированных олигонуклеотидов с помощью ПЦР.

[00379] Альтернативно, полинуклеотид, кодирующий антитело или его фрагмент, описанные в данном документе, может быть получен из нуклеиновой кислоты, происходящей из подходящего источника (например, гибридомы), с помощью способов, хорошо известных в данной области техники (например, ПЦР и других способов молекулярного клонирования). Например, ПЦР-амплификация с применением синтетических праймеров, гибридизируемых с 3'- и 5'-концами известной последовательности, может быть выполнена с применением геномной ДНК, полученной из клеток гибридом, вырабатывающих представляющее интерес антитело. Такие способы ПЦР-амплификации могут быть использованы для получения нуклеиновых кислот, содержащих последовательность, кодирующую легкую цепь и/или тяжелую цепь антитела. Такие способы ПЦР-амплификации могут быть использованы для получения нуклеиновых кислот, содержащих последовательность, кодирующую переменную область легкой цепи и/или переменную область тяжелой цепи антитела. Амплифицированные нуклеиновые кислоты могут быть клонированы в векторы для экспрессии в клетках-хозяевах и для дальнейшего клонирования, например, с получением химерных и гуманизированных антител.

[00380] Если клон, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую определенное антитело или его фрагмент, недоступен, а последовательность молекулы антитела или его фрагмента известна, то нуклеиновая кислота, кодирующая иммуноглобулин или его фрагмент, можно химически синтезировать или получить из подходящего источника (например, библиотеки кДНК антител, или библиотеки кДНК, полученной из, или нуклеиновой кислоты, предпочтительно поли(А)⁺ РНК, выделенной из любой ткани или клеток, экспрессирующих антитело, таких как клетки гибридомы, выбранные для экспрессии антитела, описанного в данном документе) с помощью ПЦР-амплификации с

применением синтетических праймеров, гибридизируемых с 3'- и 5'-концами последовательности, или с помощью клонирования с применением олигонуклеотидного зонда, специфичного в отношении конкретной последовательности гена, подлежащей идентификации, например, клона кДНК из библиотеки кДНК, кодирующего антитело. Амплифицированные нуклеиновые кислоты, полученные с помощью ПЦР, затем можно клонировать в клонирующие векторы, реплицируемые с помощью любого способа, хорошо известного из уровня техники.

[00381] ДНК, кодирующую антитела к ОХ40, описанные в данном документе, может быть легко выделена и секвенирована с помощью стандартных процедур (например, с помощью олигонуклеотидных зондов, которые способны специфически связываться с генами, кодирующими тяжелую и легкую цепи антител к ОХ40). Клетки гибридомы могут выступать в роли источника такой ДНК. Непосредственно после выделения ДНК может быть помещена в векторы экспрессии, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, клетки COS обезьяны, клетки яичника китайского хомячка (СНО) (например, клетки СНО из системы СНО GS System™ (Lonza)) или клетки миеломы, которые в иных случаях не вырабатывают белковый иммуноглобулин, для достижения синтеза антител к ОХ40 в рекомбинантных клетках-хозяевах.

[00382] Для получения антител праймеры для ПЦР, в том числе нуклеотидные последовательности VH или VL, сайт рестрикции и фланкирующая последовательность для защиты сайта рестрикции могут быть использованы для амплификации последовательностей VH или VL в клонах scFv. Используя технологии клонирования, известные специалистам в данной области техники, VH-домены, амплифицированные с помощью ПЦР, могут быть клонированы в векторы, экспрессирующие константную область тяжелой цепи, например, константную область гамма-4-цепи человека, и VL-домены, амплифицированные с помощью ПЦР, могут быть клонированы в векторы, экспрессирующие константную область легкой цепи, например, константные области каппа- или лямбда-цепи. В определенных вариантах осуществления векторы для экспрессии VH- или VL-доменов содержат промотор EF-1 α , сигнал секреции, сайт клонирования для переменного домена, константные домены и селективируемый маркер, такой как неомицин. VH- и VL-домены также могут быть клонированы в один вектор, экспрессирующий необходимые константные домены. Векторы конверсии тяжелой цепи и векторы конверсии легкой цепи затем трансфицируют совместно в клеточные линии с получением стабильных или транзистентных клеточных линий, которые экспрессируют полноразмерные антитела, например, IgG, с помощью методик, известных специалистам в данной области техники.

[00383] ДНК также может быть модифицирована, например, с помощью замены последовательностей мыши на последовательность, кодирующую константные домены тяжелой и легкой цепей человека, или с помощью ковалентного связывания с кодирующей иммуноглобулин последовательностью всей или части из кодирующей последовательности не относящегося к иммуноглобулину полипептида.

[00384] Также предусмотрены полинуклеотиды, которые гибридизируются в условиях гибридизации высокой жесткости, промежуточной и пониженной жесткости с полинуклеотидами, которые кодируют антитело, описанное в данном документе. В конкретных вариантах осуществления полинуклеотиды, описанные в данном документе, гибридизируются в условиях гибридизации высокой жесткости, промежуточной и пониженной жесткости с полинуклеотидами, кодирующими VH-домен (например, SEQ ID NO: 16) и/или VL-домен (например, SEQ ID NO: 15), предусмотренные в данном документе.

[00385] Условия гибридизации были описаны в данной области техники и известны специалисту в данной области техники. Например, гибридизация в жестких условиях может включать гибридизацию со связанной на фильтре ДНК в растворе 6x хлорид натрия/цитрат натрия (SSC) при приблизительно 45°C, с последующей одной или двумя промывками в растворе 0,2xSSC/0,1% SDS при приблизительно 50-65°C; гибридизация в условиях высокой жесткости может включать гибридизацию со связанной на фильтре нуклеиновой кислотой в растворе 6xSSC при приблизительно 45°C с последующей одной или двумя промывками в растворе 0,1xSSC/0,2% SDS при приблизительно 68°C. Гибридизация в других жестких условиях гибридизации также известна специалистам в данной области техники, и была описана, см., например, Ausubel FM *et al.*, eds., (1989) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., New York на страницах 6.3.1-6.3.6 и 2.10.3.

5.3.2 Клетки и векторы

[00386] В определенных аспектах в данном документе предусмотрены клетки (например, клетки-хозяева), экспрессирующие (например, рекомбинантно) антитела, описанные в данном документе, которые специфически связываются с OX40 (например, OX40 человека), и родственные полинуклеотиды и векторы экспрессии. В данном документе предусмотрены векторы (например, векторы экспрессии), содержащие полинуклеотиды, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие антитела к OX40 или их фрагменты для рекомбинантной экспрессии в клетках-хозяевах, предпочтительно в клетках млекопитающих. Также в данном документе предусмотрены клетки-хозяева, содержащие такие векторы, для рекомбинантной экспрессии антител к OX40, описанных в данном документе (например, человеческого или гуманизированного антитела). В конкретном

аспекте в данном документе предусмотрены способы получения антитела, описанного в данном документе, включающие экспрессию такого антитела в клетке-хозяине.

[00387] Рекомбинантная экспрессия антитела или его фрагмента, описанных в данном документе (например, тяжелой или легкой цепи антитела, описанного в данном документе), которое специфически связывается с ОХ40 (например, ОХ40 человека), предусматривает конструирование вектора экспрессии, содержащего полинуклеотид, который кодирует антитело или его фрагмент. После получения полинуклеотида, кодирующего антитело или его фрагмент (например, переменные домены тяжелой или легкой цепей), описанные в данном документе, вектор для продукции молекулы антитела может быть получен с помощью технологии рекомбинантной ДНК с использованием методик, хорошо известных в данной области техники. Таким образом, способы получения белка с помощью экспрессии полинуклеотида, содержащего кодирующую нуклеотидную последовательность антитела или его фрагмента (например, легкую цепь или тяжелую цепь), описаны в данном документе. Способы, которые хорошо известны специалистам в данной области техники, могут быть использованы для конструирования векторов экспрессии, содержащих кодирующие последовательности антител или фрагментов антител (например, легкой цепи или тяжелой цепи) и соответствующие сигналы регуляции транскрипции и трансляции. Эти способы включают, например, *in vitro* методики рекомбинантных ДНК, методики синтеза и генетическую рекомбинацию *in vivo*. Также предусмотрены реплицируемые векторы, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу антитела, описанного в данном документе, тяжелую или легкую цепь антитела, переменный домен тяжелой цепи или легкой цепи антитела или его часть или CDR тяжелой или легкой цепи, функционально связанную с промотором. Такие векторы, например, могут включать нуклеотидную последовательность, кодирующую константную область молекулы антитела (см., например, международные публикации №№ WO 86/05807 и WO 89/01036; и патент США № 5122464), а переменные домены антитела могут быть клонированы в такой вектор для экспрессии всей тяжелой, всей легкой цепи или всей тяжелой и легкой цепей.

[00388] Вектор экспрессии может быть перенесен в клетку (например, клетку-хозяина) с помощью стандартных методик, и полученные клетки затем могут быть культивированы с помощью стандартных методик для выработки антитела, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR rab1949 или rab2044) или его фрагмента. Таким образом, в данном документе предусмотрены клетки-хозяева, содержащие полинуклеотид, кодирующий антитело, описанное в данном документе (например, антитело, содержащее CDR rab1949 или rab2044), или его фрагменты (например, его тяжелую или легкую цепь

или их фрагмент), функционально связанные с промотором для экспрессии таких последовательностей в клетке-хозяине. В определенных вариантах осуществления для экспрессии антител с двумя цепями векторы, кодирующие как тяжелую, так и легкую цепи отдельно, можно совместно экспрессировать в клетке-хозяине для экспрессии целой молекулы иммуноглобулина, как подробно описано ниже. В определенных вариантах осуществления клетка-хозяин содержит вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий как тяжелую цепь, так и легкую цепь антитела, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044), или его фрагмента. В конкретных вариантах осуществления клетка-хозяин содержит два различных вектора, при этом первый вектор содержит полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или вариабельную область тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044), или его фрагмента, и второй вектор содержит полинуклеотид, кодирующий легкую цепь или вариабельную область легкой цепи антитела, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044), или его фрагмента. В других вариантах осуществления первая клетка-хозяин содержит первый вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь или вариабельную область тяжелой цепи антитела, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044), или его фрагмента, и вторая клетка-хозяин содержит второй вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий легкую цепь или вариабельную область легкой цепи антитела, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044). В конкретных вариантах осуществления тяжелая цепь/вариабельная область тяжелой цепи, экспрессируемая первой клеткой, связывается с легкой цепью/вариабельной областью легкой цепи второй клетки с образованием антитела к OX40, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044). В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрена популяция клеток-хозяев, предусматривающая такую первую клетку-хозяина и такую вторую клетку-хозяина.

[00389] В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрена популяция векторов, предусматривающая первый вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий легкую цепь/вариабельную область легкой цепи антитела к OX40, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044), и второй вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий тяжелую цепь/вариабельную область тяжелой цепи антитела к OX40, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044).

[00390] Множество систем хозяин-вектор экспрессии может быть использовано для

экспрессии молекул антител, описанных в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044) (см., например, патент США № 5807715). Такие системы хозяин-вектор экспрессии представлены носителями, с помощью которых кодирующие последовательности, представляющие интерес, можно получать и затем очищать, но также представлены клетками, которые, будучи трансформированными или трансфицированными с помощью подходящих нуклеотидных кодирующих последовательностей, могут экспрессировать молекулу антитела, описанного в данном документе, *in situ*. Они включают без ограничения микроорганизмы, такие как бактерии (например, *E. coli* и *B. subtilis*), трансформированные векторами экспрессии на основе рекомбинантной ДНК бактериофага, плазмидной ДНК или космидной ДНК, содержащими кодирующие антитела последовательности; дрожжи (например, *Saccharomyces Pichia*), трансформированные векторами экспрессии на основе рекомбинантных дрожжей, содержащими кодирующие антитела последовательности; системы клеток насекомых, инфицированные рекомбинантными векторами экспрессии на основе вируса (например, бакуловирусов), содержащими кодирующие антитела последовательности; системы растительных клеток (например, зеленых водорослей, таких как *Chlamydomonas reinhardtii*), инфицированные рекомбинантными векторами экспрессии на основе вируса (например, вируса мозаики цветной капусты, CaMV; вируса табачной мозаики, TMV) или трансформированные рекомбинантными векторами экспрессии на основе плазмиды (например, Ti-плазмиды), содержащими кодирующие антитела последовательности; или системы клеток млекопитающих (например, клетки COS (например, COS1 или COS), CHO, ВНК, MDCK, HEK 293, NS0, PER.C6, VERO, CRL7030, HsS78Bst, HeLa и NIH 3T3, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20 и BMT10), несущие рекомбинантные конструкции для экспрессии, содержащие промоторы, полученные из генома клеток млекопитающих (например, промотор металлотioneина) или вирусов млекопитающих (например, поздний промотор аденовируса; промотор 7.5К вируса осповакцины). В конкретных вариантах осуществления клетки для экспрессии антител, описанных в данном документе (например, антитела, содержащего CDR из любого из антител pab1949 или pab2044), представляют собой клетки CHO, например, клетки CHO из системы CHO GS System™ (Lonza). В конкретном варианте осуществления клетки для экспрессии антител, описанных в данном документе, представляют собой клетки человека, например, линии клеток человека. В конкретном варианте осуществления вектор экспрессии млекопитающих представляет собой pOptiVEC™ или pcDNA3.3. В конкретном варианте осуществления для экспрессии рекомбинантной молекулы антитела применяют бактериальные клетки, такие как *Escherichia coli*, или эукариотические клетки (например,

клетки млекопитающих), в частности, для экспрессии всей рекомбинантной молекулы антитела. Например, клетки млекопитающих, такие как клетки яичника китайского хомячка (СНО), совместно с вектором, таким как главный промоторный элемент гена средне-раннего ответа из цитомегаловируса человека, представляют собой эффективную систему экспрессии антител (Foecking MK & Hofstetter H (1986) *Gene* 45: 101-105; и Cockett MI *et al.*, (1990) *Biotechnology* 8: 662-667). В определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, получены с использованием клеток СНО или клеток NS0. В конкретном варианте осуществления экспрессия нуклеотидных последовательностей, кодирующих антитела, описанные в данном документе, которые иммуноспецифично связываются с ОХ40 (например, ОХ40 человека), регулируется с помощью конститутивного промотора, индуцируемого промотора или тканеспецифичного промотора.

[00391] В случае бактериальных систем можно преимущественно выбирать целый ряд векторов экспрессии в зависимости от предполагаемого применения экспрессируемой молекулы антитела. Например, если необходимо получить большое количество такого антитела для получения фармацевтических композиций на основе молекулы антитела, могут быть желательны векторы, которые управляют экспрессией высоких уровней продуктов в виде белков слияния, которые легко очистить. Такие векторы включают без ограничения вектор экспрессии для *E. coli* pUR278 (Ruether U & Mueller-Hill B (1983) *EMBO J* 2: 1791-1794), в котором кодирующая антитело последовательность может быть лигирована отдельно в вектор в рамку с кодирующей областью гена *lac Z* таким образом, что продуцируется белок слияния; векторы pIN (Inouye S & Inouye M (1985) *Nuc Acids Res* 13: 3101-3109; Van Heeke G & Schuster SM (1989) *J Biol Chem* 24: 5503-5509) и т.п. Например, также можно использовать векторы pGEX для экспрессии чужеродных полипептидов в виде белков, слитых с глутатион-5-трансферазой (GST). В целом, такие белки слияния являются растворимыми, и их можно легко очищать из лизированных клеток посредством адсорбции и связывания с матрицей на основе глутатион-агарозных гранул с последующим элюированием в присутствии свободного глутатиона. Векторы pGEX разработаны таким образом, что они включают сайты расщепления для протеаз тромбина или фактора Ха, так что клонируемый целевой продукт гена можно освобождать от GST-фрагмента.

[00392] В системе на основе клеток насекомых, как правило, в качестве вектора для экспрессии чужеродных генов может быть использован, например, вирус ядерного полиэдроза *Autographa californica* (AcNPV). Вирус растет в клетках *Spodoptera frugiperda*. Кодирующую антитело последовательность можно отдельно клонировать в

несущественные области вируса (например, ген полиэдрина) и поместить под контроль промотора AcNPV (например, промотора гена полиэдрина).

[00393] В клетках-хозяевах, являющихся клетками млекопитающих, можно использовать множество вирусных систем экспрессии. В случаях, когда в качестве вектора экспрессии применяют аденовирус, кодирующую антитело последовательность, представляющую интерес, можно лигировать с комплексом контроля транскрипции/трансляции аденовируса, например, содержащим поздний промотор и лидерную последовательность из трех частей. Данный химерный ген можно затем вставлять в геном аденовируса путем рекомбинации *in vitro* или *in vivo*. Вставка в несущественную область вирусного генома (например, область E1 или E3) будет приводить к образованию рекомбинантного вируса, который является жизнеспособным и способен экспрессировать молекулу антитела в инфицированных хозяевах (например, см. Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81: 3655-3659). Для эффективной трансляции вставленных последовательностей, кодирующих антитело, также могут быть необходимы конкретные сигналы инициации. Эти сигналы предусматривают иницирующий кодон ATG и прилежащие последовательности. Кроме того, кодон инициации должен находиться в рамке считывания желаемой кодирующей последовательности с целью обеспечения трансляции всей вставки. Эти экзогенные сигналы контроля трансляции и иницирующие кодоны могут иметь различное происхождение, как природное, так и синтетическое. Эффективность экспрессии может быть повышена путем включения соответствующих транскрипционных энхансерных элементов, терминаторов транскрипции и т. п. (см., например, Bitter G *et al.*, (1987) Methods Enzymol 153: 516-544).

[00394] Кроме того, может быть выбран такой штамм клеток-хозяев, который модулирует экспрессию вставленных последовательностей или модифицирует и осуществляет процессинг продукта гена определенным требуемым образом. Такие модификации (например, гликозилирование) и процессинг (например, расщепление) белковых продуктов могут быть важными для функционирования белка. Различные клетки-хозяева имеют характерные и специфические механизмы посттрансляционного процессинга и модификаций белков, а также продуктов генов. Можно выбрать подходящие линии клеток или системы экспрессии в хозяине для обеспечения правильной модификации и процессинга экспрессируемого чужеродного белка. В связи с этим можно использовать эукариотические клетки-хозяева, которые обладают клеточным аппаратом для надлежащего процессинга первичного транскрипта, гликозилирования и фосфорилирования продукта гена. Такие клетки-хозяева млекопитающих включают без ограничения клетки CHO, VERO, ВНК, HeLa, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483,

Hs578T, HTB2, BT20 и T47D, NS0 (клеточная линия миеломы мыши, которая не продуцирует эндогенно каких-либо цепей иммуноглобулинов), CRL7030, COS (например, COS1 или COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 и HsS78Bst. В определенных вариантах осуществления антитела к OX40, описанные в данном документе (например, антитело, содержащее CDR pab1949 или pab2044), вырабатываются в клетках млекопитающих, таких как клетки CHO. [00395] В конкретном варианте осуществления антитела, описанные в данном документе, имеют сниженное содержание фукозы или не содержат фукозу. Такие антитела могут быть получены с помощью методик, известных специалисту в данной области техники. Например, антитела могут экспрессироваться в клетках с недостаточной способностью к фукозилрованию или ее отсутствием. В конкретном примере клеточные линии с нокаутом обоих аллелей гена α 1,6-фукозилтрансферазы могут быть использованы для получения антител со сниженным содержанием фукозы. Система Potelligent[®] (Lonza) представляет собой пример такой системы, которая может быть использована для получения антител со сниженным содержанием фукозы.

[00396] Для долгосрочной выработки рекомбинантных белков с высоким выходом могут быть получены клетки для стабильной экспрессии. Например, могут быть разработаны клеточные линии, которые стабильно экспрессируют антитело к OX40, описанное в данном документе (например, антитело, содержащее CDR pab1949 или pab2044). В конкретных вариантах осуществления клетка, предусмотренная в данном документе, стабильно экспрессирует легкую цепь/вариабельный домен легкой цепи и тяжелую цепь/вариабельный домен тяжелой цепи, которые связываются с образованием антитела, описанного в данном документе (например, антитела, содержащего CDR pab1949 или pab2044).

[00397] В определенных аспектах вместо применения векторов экспрессии, которые содержат вирусные точки начала репликации, клетки-хозяева можно трансформировать с помощью ДНК, контролируемой подходящими элементами контроля экспрессии (например, последовательностями промотора, энхансера, терминаторов транскрипции, сайтов полиаденилирования и т. д.), и содержащей селективируемый маркер. После введения чужеродной ДНК/полинуклеотида сконструированные клетки могут расти в течение 1-2 дней на обогащенной среде, а затем их переводят на селективную среду. Селективируемый маркер в рекомбинантной плазмиде придает устойчивость к селекции и позволяет клеткам стабильно интегрировать плазмиду в свои хромосомы и расти с образованием очагов, которые, в свою очередь, можно клонировать, и количество которых можно увеличить с получением клеточных линий. Данный способ может быть преимущественно использован

для конструирования клеточных линий, которые экспрессируют антитело к ОХ40, описанное в данном документе, или его фрагмент. Такие сконструированные клеточные линии могут быть особенно пригодны при скрининге и оценке композиций, которые взаимодействуют прямо или косвенно с молекулой антитела.

[00398] Может быть использован ряд систем для селекции, в том числе без ограничения могут быть использованы гены тимидинкиназы вируса простого герпеса (Wigler M *et al.*, (1977) Cell 11(1): 223-232), гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034) и аденин-фосфорибозилтрансферазы (Lowy I *et al.*, (1980) Cell 22(3): 817-823) в tk-, hgprrt- или aprt-клетках соответственно. Кроме того, устойчивость к антиметаболитам может быть использована в качестве основы отбора для следующих генов: *dhfr*, который придает устойчивость к метотрексату (Wigler M *et al.*, (1980) PNAS 77(6): 3567-3570; O'Hare K *et al.*, (1981) PNAS 78: 1527-1531); *gpt*, который придает устойчивость к микофеноловой кислоте (Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-2076); нео, который придает устойчивость к аминогликозиду G-418 (Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596; Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932; и Morgan RA & Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62: 191-217; Nabel GJ & Felgner PL (1993) Trends Biotechnol 11(5): 211-215); и *hygro*, который придает устойчивость к гигромицину (Santerre RF *et al.*, (1984) Gene 30(1-3): 147-156). Способы, общеизвестные в области технологии рекомбинантных ДНК, можно применять обычным путем для выбора желаемого рекомбинантного клона, и такие способы описаны, например, в Ausubel FM *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); и в главах 12 и 13 Dracopoli *et al.* (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colbère-Garapin F *et al.*, (1981) J Mol Biol 150: 1-14, которые включены посредством ссылки в данный документ во всей своей полноте.

[00399] Уровни экспрессии молекулы антитела могут быть повышены посредством амплификации вектора (обзор см. в Bebbington CR & Hentschel CCG, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)). Если маркер в векторной системе, экспрессирующей антитело, является амплифицируемым, то при повышении уровня ингибитора, присутствующего в культуре клеток-хозяев, будет повышаться число копий маркерного гена. Поскольку амплифицируемая область связана с геном антитела, выработка антитела также будет повышаться (Crouse GF *et al.*, (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66).

[00400] Клетка-хозяин также может быть трансфицирована совместно двумя или более

векторами экспрессии, описанными в данном документе, при этом первый вектор кодирует полипептид, происходящий из тяжелой цепи, и второй вектор кодирует полипептид, происходящий из легкой цепи. Два вектора могут содержать идентичные селектируемые маркеры, которые обеспечивают равную экспрессию полипептидов тяжелой и легкой цепей. Клетки-хозяева могут быть трансфицированы совместно различными количествами двух или более векторов экспрессии. Например, клетки-хозяева могут быть трансфицированы любым одним из следующих соотношений первого вектора экспрессии и второго вектора экспрессии: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:12, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45 или 1:50.

[00401] Альтернативно, может быть использован один вектор, который кодирует и способен экспрессировать полипептиды как легкой, так и тяжелой цепей. В таких случаях легкая цепь должна быть расположена перед тяжелой цепью, чтобы избежать избытка токсической свободной тяжелой цепи (Proudfoot NJ (1986) *Nature* 322: 562-565; и Köhler G (1980) *PNAS* 77: 2197-2199). Кодированные последовательности для тяжелой и легкой цепей могут включать кДНК или геномную ДНК. Вектор экспрессии может быть моноцистронным или мультицистронным. Мультицистронная конструкция нуклеиновой кислоты может кодировать 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более, или в диапазоне от 2 до 5, от 5 до 10 или от 10 до 20 генов/нуклеотидных последовательностей. Например, бицистронная конструкция нуклеиновой кислоты может содержать в следующем порядке промотор, первый ген (например, кодирующий тяжелую цепь антитела, описанного в данном документе) и второй ген (например, кодирующий легкую цепь антитела, описанного в данном документе). В таком векторе экспрессии транскрипция обоих генов может контролироваться промотором, в то время как трансляция мРНК первого гена может контролироваться с помощью кэп-зависимого сканирующего механизма, а трансляция мРНК второго гена может контролироваться с помощью кэп-независимого механизма, например, с помощью IRES.

[00402] После получения молекулы антитела, описанного в данном документе, путем рекомбинантной экспрессии, оно может быть очищено любым известным в данной области техники способом очистки молекулы иммуноглобулина, например, с помощью хроматографии (например, ионообменной, аффинной, в частности, по аффинности в отношении специфического антигена после хроматографии с белком А и эксклюзионной колоночной хроматографии), центрифугирования, дифференциальной растворимости или с помощью любой другой стандартной методики очистки белков. Кроме того, антитела, описанные в данном документе, могут быть слиты с гетерологичными полипептидными последовательностями, описанными в данном документе или иным образом известными из

уровня техники, для облегчения очистки.

[00403] В конкретном варианте осуществления антитело, описанное в данном документе, является выделенным или очищенным. Как правило, выделенное антитело является таковым, которое практически не содержит других антител с другой антигенной специфичностью, чем выделенное антитело. Например, в конкретном варианте осуществления препарат антитела, описанного в данном документе, практически не содержит клеточного материала и/или предшественников химических веществ. Выражение "практически не содержит клеточного материала" включает препараты антитела, в которых антитело отделено от клеточных компонентов клеток, из которых оно выделено или получено рекомбинантным путем. Таким образом, антитело, которое практически не содержит клеточного материала, включает препараты антитела, содержащие менее чем приблизительно 30%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% (от сухого веса) гетерологичного белка (также обозначаемого в данном документе как "загрязняющий белок") и/или вариантов антитела, например, различных пост-трансляционно модифицированных форм антитела. Если антитело или его фрагмент получены рекомбинантным путем, они, как правило, также практически не содержат среды для культивирования, т. е., среда для культивирования составляет менее чем приблизительно 20%, 10%, 2%, 1%, 0,5% или 0,1% от объема препарата белка. Если антитело или его фрагмент получены с помощью химического синтеза, они, как правило, практически не содержат предшественников химических веществ или других химических веществ, *т.е.*, они отделены от предшественников химических веществ или других химических веществ, которые вовлечены в синтез белка. Соответственно такие препараты антитела или его фрагмента содержат менее чем приблизительно 30%, 20%, 10% или 5% (от сухого веса) предшественников химических веществ или соединений, отличных от представляющего интерес антитела или его фрагмента. В конкретном варианте осуществления антитела, описанные в данном документе, являются выделенными или очищенными.

5.4 Фармацевтические композиции

[00404] В данном документе предусмотрены композиции, содержащие антитело, описанное в данном документе, характеризующееся необходимой степенью чистоты, в физиологически приемлемом носителе, вспомогательном веществе или стабилизаторе (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов при применяемых дозах и концентрациях.

[00405] Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть пригодны для усиления, индукции или запуска активности OX40 и лечения состояния,

такого как рак или инфекционное заболевание. Примеры рака, который можно лечить в соответствии со способами, описанными в данном документе, включают без ограничения виды В-клеточной лимфомы (например, В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз, В-клеточную неходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому кожи, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, базальноклеточную карциному, рак мочевого пузыря, бластому, метастазы в головной мозг, рак молочной железы, лимфому Беркитта, карциному (например, аденокарциному (например, гастроэзофагеального соединения)), рак шейки матки, рак толстой кишки, колоректальный рак (рак толстой кишки и рак прямой кишки), карциному эндометрия, рак пищевода, саркому Юинга, фолликулярную лимфому, рак желудка, карциному гастроэзофагеального соединения, рак желудочно-кишечного тракта, глиобластому (например, мультиформную глиобластому, например, впервые диагностированную или рекуррентную), глиому, рак головы и шеи (например, плоскоклеточную карциному головы и шеи), метастазы в печень, лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, рак почки (например, почечно-клеточную карциному и опухоли Вильмса), рак гортани, лейкоз (например, хронический миелоцитарный лейкоз, волосатоклеточный лейкоз), рак печени (например, гепатокарциному и гепатому), рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого и мелкоклеточный рак легкого), лимфобластную лимфому, лимфому, мантийноклеточную лимфому, метастатическую опухоль головного мозга, метастатический рак, миелому (например, множественную миелому), нейробластому, меланому глаза, рак ротоглотки, остеосаркому, рак яичников, рак поджелудочной железы (например, аденокарциному протоков поджелудочной железы), рак предстательной железы (например, гормонально-рефрактерный (например, кастрационно-резистентный), метастатический, метастатический гормонально-рефрактерный (например, кастрационно-резистентный, андроген-независимый)), почечно-клеточную карциному (например, метастатическую), карциному слюнных желез, саркому (например, рабдомиосаркому), рак кожи (например, меланому (например, метастатическую меланому)), саркому мягких тканей, солидную опухоль, плоскоклеточную карциному, саркому синовиальных оболочек, рак яичка, рак щитовидной железы, переходноклеточный рак (рак уротелиальных клеток), увеальную меланому (например, метастатическую), веррукозную карциному, рак вульвы и макроглобулинемию Вальденстрема. В одном варианте осуществления примеры рака, который можно лечить в соответствии со способами, описанными в данном документе, включают без ограничения прогрессирующую, рекуррентную или метастатическую солидную опухоль, лимфому (например, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому или лимфому Беркитта), рак молочной железы, рак предстательной железы, рак головы и шеи, колоректальный рак,

рак толстой кишки, меланому (например, метастатическую меланому), рак эндометрия, почечно-клеточную карциному, светлоклеточную карциному, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого или аденокарциному легких), рак яичников, рак желудочно-кишечного тракта, рак мочевого пузыря, рак желудка, рак матки, феохромоцитому, метастатическую плоскоклеточную карциному кожи (например, у пациентов с трансплантацией), карциному из клеток Меркеля, Т-клеточную лимфому кожи, нейроэндокринную опухоль, опухоль костного происхождения (например, остеосаркому), гемангиоперицитому, опухоль, связанную с генетическими синдромами (NF1 или VHL), хордому, эпендимому, медуллобластоме, герминому, опухоль тонкой кишки, опухоль аппендикса и опухоль, связанную с вирусами (например, саркому Капоши). Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, предусмотрены в одном варианте осуществления для применения в качестве лекарственного препарата или диагностического средства. Фармацевтические композиции, которые содержат агонистическое антитело, описанное в данном документе, предусмотрены в одном варианте осуществления для применения в способе лечения рака.

[00406] Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, которые содержат антагонистическое антитело, могут быть пригодны для ослабления, ингибирования или прекращения активности OX40 и лечения состояния, такого как воспалительное или аутоиммунное заболевание или нарушение или инфекционное заболевание. Фармацевтические композиции, которые содержат антагонистическое антитело, описанное в данном документе, предусмотрены в одном варианте осуществления для применения в способе лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания или нарушения или инфекционного заболевания.

[00407] Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, которые содержат антагонистическое антитело, описанное в данном документе, могут быть пригодны в ослаблении, прекращении или ингибировании активности OX40 и лечении состояния, выбранного из группы, состоящей из инфекций (вирусных, бактериальных, грибковых и паразитарных), эндотоксического шока, ассоциированного с инфекцией, артрита, ревматоидного артрита, астмы, хронической обструктивной болезни легких (COPD), воспалительного заболевания органов малого таза, болезни Альцгеймера, воспалительной болезни кишечника, болезни Крона, язвенного колита, болезни Пейрони, целиакии, заболевания желчного пузыря, пилонидальной болезни, перитонита, псориаза, васкулита, хирургических спаек, инсульта, диабета I типа, болезни Лайма, артрита, менингоэнцефалита, увеита, аутоиммунного увеита, иммуно-опосредованных воспалительных заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как

рассеянный склероз, волчанка (такая как системная красная волчанка) и синдром Гийена-Барре, дерматита, атопического дерматита, аутоиммунного гепатита, фиброзирующего альвеолита, базедовой болезни, IgA-нефропатии, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, болезни Менъера, пузырчатки, первичного билиарного цирроза, саркоидоза, склеродермии, гранулематоза Вегенера, панкреатита, физического повреждения (хирургического), болезни "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата, заболевания сердца (т. е., сердечнососудистого заболевания), в том числе ишемических заболеваний, таких как инфаркт миокарда, а также атеросклероз и внутрисосудистая коагуляция, резорбции кости, остеопороза, остеоартрита, периодонтита, гипохлоргидрии, нейромиелита зрительного нерва, целиакии, нарушения, связанного с соединительной тканью (например, волчанки), постинфекционного воспалительного нарушения (например, синдром Гийена-Барре) и паранеопластических синдромов.

[00408] Композиции, подлежащие применению для *in vivo* введения, могут быть стерильными. Это легко достигается с помощью фильтрации, например, через стерильные фильтрующие мембраны.

5.5 Применения и способы

5.5.1 Терапевтические применения и способы

[00409] В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы модулирования одной или нескольких иммунных функций или ответов у субъекта, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к ОХ40, описанного в данном документе, или композиции на его основе. В конкретном аспекте в данном документе предусмотрены способы активации, усиления или индукции одной или нескольких иммунных функций или ответов у субъекта, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к ОХ40 или композиции на его основе. В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы предупреждения и/или лечения заболеваний, при которых желательно активировать или усиливать одну или несколько иммунных функций или ответов, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к ОХ40, описанного в данном документе, или композиции на его основе. В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения инфекционного заболевания, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к ОХ40 или композиции на его основе. В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения рака, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к ОХ40 или композиции на его основе. Рак может быть выбран из группы, состоящей из меланомы, рака почки и рака предстательной железы. Рак может быть выбран из группы, состоящей из меланомы, рака почки, рака предстательной железы, рака толстой

кишки и рака легкого. В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения меланомы, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к OX40 или композиции на его основе. В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения рака почки, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к OX40 или композиции на его основе. В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения рака предстательной железы, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к OX40 или композиции на его основе. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения рака толстой кишки, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к OX40 или композиции на его основе. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения рака легкого, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к OX40 или композиции на его основе. В определенных вариантах осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антитела к OX40 или композиции на его основе. В одном примере способ дополнительно включает введение субъекту средства, целенаправленно воздействующего на контрольные точки. В одном примере средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, выбрано из группы, состоящей из антагонистического антитела к PD-1, антагонистического антитела к PD-L1, антагонистического антитела к PD-L2, антагонистического антитела к CTLA-4, антагонистического антитела к TIM-3, антагонистического антитела к LAG-3, антагонистического антитела к CEACAM1, агонистического антитела к GITR, агонистического антитела к CD137 и агонистического антитела к OX40. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой антагонистическое антитело к PD-1. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой антагонистическое антитело к PD-L1. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой агонистическое антитело к GITR. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой агонистическое антитело к CD137.

[00410] В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 используют в способах, раскрытых в данном документе. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб, также известный как BMS-936558 или

MDX1106, разработанный компанией Bristol-Myers Squibb. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб, также известный как ламбролизумаб или МК-3475, разработанный компанией Merck & Co. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой пидилизумаб, также известный как CT-011, разработанный компанией CureTech. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой MEDI0680, также известный как AMP-514, разработанный компанией Medimmune. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой PDR001, разработанный компанией Novartis Pharmaceuticals. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой REGN2810, разработанный компанией Regeneron Pharmaceuticals. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой PF-06801591, разработанный компанией Pfizer. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317, разработанный компанией BeiGene. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой TSR-042, разработанный компаниями AnaptysBio и Tesaro. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой SHR-1210, разработанный компанией Hengrui.

[00411] Дополнительные неограничивающие примеры антител к PD-1, которые могут быть использованы в способах лечения, раскрытых в данном документе, раскрыты в следующих патентах и патентных заявках, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей: патенте США № 6808710; патенте США № 7332582; патенте США № 7488802; патенте США № 8008449; патенте США № 8114845; патенте США № 8168757; патенте США № 8354509; патенте США № 8686119; патенте США № 8735553; патенте США № 8747847; патенте США № 8779105; патенте США № 8927697; патенте США № 8993731; патенте США № 9102727; патенте США № 9205148; публикации США № US 2013/0202623 A1; публикации США № US 2013/0291136 A1; публикации США № US 2014/0044738 A1; публикации США № US 2014/0356363 A1; публикации США № US 2016/0075783 A1; и публикации согласно РСТ № WO 2013/033091 A1; публикации согласно РСТ № WO 2015/036394 A1; публикации согласно РСТ № WO 2014/179664 A2; публикации согласно РСТ № WO 2014/209804 A1; публикации согласно РСТ № WO 2014/206107 A1; публикации согласно РСТ № WO 2015/058573 A1; публикации согласно РСТ № WO 2015/085847 A1; публикации согласно РСТ № WO 2015/200119 A1; публикации согласно РСТ № WO 2016/015685 A1; и публикации согласно РСТ № WO 2016/020856 A1.

[00412] В определенных вариантах осуществления антитело к PD-L1 используют в способах, раскрытых в данном документе. В определенных вариантах осуществления

антитело к PD-L1 представляет собой атезолизумаб, разработанный компанией Genentech. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой дурвалумаб, разработанный компаниями AstraZeneca, Celgene и Medimmune. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой авелумаб, также известный как MSB0010718C, разработанный компаниями Merck Serono и Pfizer. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MDX-1105, разработанный компанией Bristol-Myers Squibb. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-L1 представляет собой AMP-224, разработанный компаниями Amplimmune и GSK.

[00413] Неограничивающие примеры антител к PD-L1, которые могут быть использованы в способах лечения, раскрытых в данном документе, раскрыты в следующих патентах и патентных заявках, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей: патенте США № 7943743; патенте США № 8168179; патенте США № 8217149; патенте США № 8552154; патенте США № 8779108; патенте США № 8981063; патенте США № 9175082; публикации США № US 2010/0203056 A1; публикации США № US 2003/0232323 A1; публикации США № 2013/0323249 A1; публикации США № US 2014/0341917 A1; публикации США № US 2014/0044738 A1; публикации США № US 2015/0203580 A1; публикации США № US 2015/0225483 A1; публикации США № US 2015/0346208 A1; публикации США № US 2015/0355184 A1; и публикации согласно PCT № WO 2014/100079 A1; публикации согласно PCT № WO 2014/022758 A1; публикации согласно PCT № WO 2014/055897 A2; публикации согласно PCT № WO 2015/061668 A1; публикации согласно PCT № WO 2015/109124 A1; публикации согласно PCT № WO 2015/195163 A1; публикации согласно PCT № WO 2016/000619 A1; и публикации согласно PCT № WO 2016/030350 A1.

[00414] В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения рака, выбранного из группы, состоящей из видов В-клеточной лимфомы (например, В-клеточной хронической лимфоцитарной лимфомы, В-клеточной неходжкинской лимфомы, В-клеточной лимфомы кожи, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, базальноклеточной карциномы, рака мочевого пузыря, бластомы, метастазов в головной мозг, рака молочной железы, лимфомы Беркитта, карциномы (например, аденокарциномы (например, гастроэзофагеального соединения)), рака шейки матки, рака толстой кишки, колоректального рака (рака толстой кишки и рака прямой кишки), карциномы эндометрия, рака пищевода, саркомы Юинга, фолликулярной лимфомы, рака желудка, карциномы гастроэзофагеального соединения, рака желудочно-кишечного тракта, глиобластомы (например, мультиформной глиобластомы, например,

впервые диагностированной или рекуррентной), глиомы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточной карциномы головы и шеи), метастазов в печень, лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы, рака почки (например, почечно-клеточной карциномы и опухоли Вильмса), рака гортани, лейкоза (например, хронического миелоцитарного лейкоза, волосатоклеточного лейкоза), рака печени (например, гепатокарциномы и гепатомы), рака легких (например, немелкоклеточного рака легкого и мелкоклеточного рака легкого), лимфобластной лимфомы, лимфомы, мантийноклеточной лимфомы, метастатической опухоли головного мозга, метастатического рак, миеломы (например, множественной миеломы), нейробластомы, меланомы глаза, рака ротоглотки, остеосаркомы, рака яичников, рака поджелудочной железы (например, аденокарциномы протоков поджелудочной железы), рака предстательной железы (например, гормонально-рефрактерного (например, кастрационно-резистентного), метастатического, метастатического гормонально-рефрактерного (например, кастрационно-резистентного, андроген-независимого)), почечно-клеточной карциномы (например, метастатической), карциномы слюнных желез, саркомы (например, рабдомиосаркомы), рака кожи (например, меланомы (например, метастатической меланомы)), саркомы мягких тканей, солидной опухоли, плоскоклеточной карциномы, саркомы синовиальных оболочек, рака яичка, рака щитовидной железы, переходно-клеточного рака (рака уротелиальных клеток), увеальной меланомы (например, метастатической), веррукозной карциномы, рака вульвы и макроглобулинемии Вальденстрема. В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения рака, выбранного из группы, состоящей из прогрессирующей, рекуррентной или метастатической солидной опухоли, лимфомы (например, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы или лимфомы Беркитта), рака молочной железы, рака предстательной железы, рака головы и шеи, колоректального рака, рака толстой кишки, меланомы (например, метастатической меланомы), рака эндометрия, почечно-клеточной карциномы, светлоклеточной карциномы, рака легких (например, немелкоклеточного рака легкого или аденокарциномы легких), рака яичников, рака желудочно-кишечного тракта, рака мочевого пузыря, рака желудка, рака матки, феохромоцитомы, метастатической плоскоклеточной карциномы кожи (например, у пациентов с трансплантацией), карциномы из клеток Меркеля, Т-клеточной лимфомы кожи, нейроэндокринной опухоли, опухоли костного происхождения (например, остеосаркомы), гемангиоперицитомы, опухоли, связанной с генетическими синдромами (NF1 или VHL), хордомы, эпендимомы, медуллобластомы, герминомы, опухоли тонкой кишки, опухоли аппендикса и опухоли, связанной с вирусами (например, саркомы Капоши).

[00415] В другом варианте осуществления антитело к OX40 вводят пациенту, у которого диагностировали рак, с целью повышения пролиферации и/или эффекторной функции одной или нескольких популяций клеток (например, эффекторных Т-клеток, таких как CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки) у пациента.

[00416] В конкретном варианте осуществления антитело к OX40, описанное в данном документе, активирует, усиливает или индуцирует одну или несколько иммунных функций или ответов у субъекта на по меньшей мере 99%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 20% или по меньшей мере 10%, или на значение в диапазоне от 10% до 25%, от 25% до 50%, от 50% до 75% или от 75% до 95% по сравнению с иммунной функцией у субъекта, которому не вводят антитело к OX40, описанное в данном документе, на основании анализов, хорошо известных в данной области техники, например, ELISPOT, ELISA и анализов клеточной пролиферации. В конкретном варианте осуществления иммунная функция представляет собой продукцию цитокинов (например, продукцию IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13). В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой пролиферацию/размножение Т-клеток, которые могут быть оценены, например, с помощью проточной цитометрии с обнаружением числа клеток, экспрессирующих маркеры Т-клеток (например, CD3, CD4 или CD8). В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой выработку антитела, которая может быть определена, например, с помощью ELISA. В некоторых вариантах осуществления иммунная функция представляет собой эффекторную функцию, которая может быть определена, например, с помощью анализа цитотоксичности или других анализов, хорошо известных в данной области техники. В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой Th1-ответ. В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой Th2-ответ. В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой анамнестическую реакцию.

[00417] В конкретных вариантах осуществления неограничивающие примеры иммунных функций, которые могут быть усилены или индуцированы антителом к OX40, представляют собой пролиферацию/размножение эффекторных лимфоцитов (например, повышение числа эффекторных Т-лимфоцитов) и ингибирование апоптоза эффекторных лимфоцитов (например, эффекторных Т-клеток). В конкретных вариантах осуществления иммунная функция, усиленная или индуцированная антителом к OX40, описанным в

данном документе, представляет собой пролиферацию/размножение числа или активацию CD4⁺ Т-клеток (например, Th1 и Th2 хелперных Т-клеток), CD8⁺ Т-клеток (например, цитотоксических Т-лимфоцитов, альфа/бета Т-клеток и гамма/дельта Т-клеток), В-клеток (например, плазматических клеток), Т-клеток памяти, В-клеток памяти, населяющих опухоль Т-клеток, CD122⁺ Т-клеток, клеток-естественных киллеров (NK)), макрофагов, моноцитов, дендритных клеток, тучных клеток, эозинофилов, базофилов или полиморфноядерных лейкоцитов. В одном варианте осуществления антитело к OX40, описанное в данном документе, активирует или усиливает пролиферацию/размножение или число предшественников лимфоцитов. В некоторых вариантах осуществления антитело к OX40, описанное в данном документе, обеспечивает повышение числа CD4⁺ Т-клеток (например, Th1 и Th2 хелперных Т-клеток), CD8⁺ Т-клеток (например, цитотоксических Т-лимфоцитов, альфа/бета Т-клеток и гамма/дельта Т-клеток), В-клеток (например, плазматических клеток), Т-клеток памяти, В-клеток памяти, Т-клеток, населяющих опухоль, CD122⁺ Т-клеток, клеток-естественных киллеров (NK-клеток), макрофагов, моноцитов, дендритных клеток, тучных клеток, эозинофилов, базофилов или полиморфноядерных лейкоцитов примерно на по меньшей мере 99%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 20% или по меньшей мере 10% или в диапазоне от 10% до 25%, от 25% до 50%, от 50% до 75% или от 75% до 95% по сравнению с отрицательным контролем (например, числом соответствующих необработанных клеток, культивированных или приведенных в контакт с антителом к OX40, описанным в данном документе).

[00418] В некоторых вариантах осуществления антитело к OX40, описанное в данном документе, вводят субъекту в комбинации с соединением, которое целенаправленно воздействует на иммуномодулирующий(иммуномодулирующие) фермент(ферменты), такой(такие) как IDO (индоламин-(2,3)-диоксигеназа) и TDO (триптофан-2,3-диоксигеназа). В конкретных вариантах осуществления такое соединение выбрано из группы, состоящей из эпикадостата (Incyte Corp), F001287 (Flexus Biosciences), индоксимода (NewLink Genetics) и NLG919 (NewLink Genetics). В одном варианте осуществления соединением является эпикадостат. В другом варианте осуществления соединением является F001287. В другом варианте осуществления соединением является индоксимод. В другом варианте осуществления соединением является NLG919.

[00419] В некоторых вариантах осуществления антитело к OX40, описанное в данном

документе, вводят субъекту в комбинации с вакциной.

[00420] В некоторых вариантах осуществления антитело к OX40, описанное в данном документе, вводят субъекту в комбинации с антителом к CD137, ритуксимабом, циклофосфамидом, химиотерапией или лучевой терапией.

[00421] В некоторых вариантах осуществления антитело к OX40, описанное в данном документе, вводят субъекту в комбинации с противоопухолевой вакциной на основе белка теплового шока или противопатогенной вакциной на основе белка теплового шока. В конкретном варианте осуществления антитело к OX40 вводят субъекту в комбинации с противоопухолевой вакциной на основе белка теплового шока. Белки теплового шока (HSP) представляют собой семейство высококонсервативных белков, встречающихся повсеместно среди всех видов. Их экспрессия может быть сильно индуцирована до намного более высоких уровней в результате теплового шока или других форм стресса, в том числе воздействия токсинов, окислительного стресса или глюкозной депривации. Пять семейств были классифицированы в соответствии с молекулярной массой: HSP-110, -90, -70, -60 и -28. HSP доставляют иммуногенные пептиды посредством кросс-презентационного пути в антигенпредставляющих клетках (APC), таких как макрофаги и дендритные клетки (DC), приводя к активации Т-клеток. HSP функционируют в качестве шапероновых носителей опухоль-ассоциированных антигенных пептидов, образующих комплексы, способные индуцировать опухоль-специфичный иммунитет. При высвобождении из погибающих опухолевых клеток комплексы HSP-антиген захватываются антигенпредставляющими клетками (APC), при этом антигены подвергаются превращению в пептиды, которые связываются с молекулами МНС класса I и класса II, приводя к активации противоопухолевых CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток. Иммунитет, вызванный комплексами HSP, полученными из препаратов опухоли, является специфически направленным против уникального репертуара антигенных пептидов, экспрессируемых злокачественной опухолью каждого субъекта.

[00422] Комплекс белка теплового шока с пептидами (HSPPC) представляет собой белково-пептидный комплекс, состоящий из белка теплового шока, нековалентно связанного с антигенными пептидами. HSPPC вызывают врожденные и адаптивные иммунные ответы. В конкретном варианте осуществления антигенный(антигенные) пептид(пептиды) характеризуется(характеризуются) антигенностью в отношении злокачественной опухоли, подлежащей лечению. HSPPC эффективно захватываются APC посредством мембранных рецепторов (главным образом CD91) или посредством связывания с Toll-подобными рецепторами. Интернализация HSPPC приводит к функциональному созреванию APC с продукцией хемокинов и цитокинов, приводя к

активации клеток-естественных киллеров (NK), моноцитов и Th1- и Th2-опосредованных иммунных ответов. В некоторых вариантах осуществления HSPPC, используемые в способах, раскрытых в данном документе, содержат один или несколько белков теплового шока из семейства белков стрессов hsp60, hsp70 или hsp90, образующих комплексы с антигенными пептидами. В некоторых вариантах осуществления HSPPC содержат hsc70, hsp70, hsp90, hsp110, grp170, grp96, кальретикулин или комбинации из двух или более из них.

[00423] В конкретном варианте осуществления антитело к OX40 вводят субъекту в комбинации с комплексом белка теплового шока с пептидами (HSPPC), например, комплексом белка теплового шока с пептидами 96 (HSPPC-96), для лечения рака. HSPPC-96 содержит белок теплового шока массой 96 кДа (Hsp), grp96, образующий комплекс с антигенными пептидами. HSPPC-96 представляет собой противоопухолевый иммунотерапевтический препарат, полученный из опухоли субъекта, и содержит антигенный "отпечаток" злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления этот отпечаток содержит уникальные антигены, которые присутствуют только в определенных раковых клетках данного конкретного пациента, и введение вакцины предусматривает стимулирование иммунной системы субъекта с целью распознавания и атаки любых клеток с определенным отпечатком злокачественной опухоли.

[00424] В некоторых вариантах осуществления HSPPC, например, HSPPC-96, продуцируется опухолевой тканью субъекта. В конкретном варианте осуществления HSPPC (например, HSPPC-96) продуцируется опухолью, относящейся к злокачественному образованию или его метастазу, подлежащей лечению. В другом конкретном варианте осуществления HSPPC (например, HSPPC-96) является аутологичным по отношению к субъекту, подлежащему лечению. В некоторых вариантах осуществления опухолевая ткань представляет собой опухолевую ткань, не являющуюся некротической. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1 грамм (например, по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 грамм) опухолевой ткани, не являющейся некротической, используется для получения схемы введения вакцины. В некоторых вариантах осуществления после хирургической резекции опухолевая ткань, не являющаяся некротической, замораживается перед использованием для получения вакцины. В некоторых вариантах осуществления HSPPC, например, HSPPC-96, выделяют из опухолевой ткани с помощью методик очистки, фильтруют и готовят для инъекционной вакцины. В некоторых вариантах осуществления субъекту вводят 6-12 доз HSPPC, например, HSPPC-96. В таких вариантах осуществления

дозы HSPPC, например, HSPPC-96, можно вводить каждую неделю для первых 4 доз и затем через неделю для 2-8 дополнительных доз.

[00425] Дополнительные примеры HSPPC, которые могут быть использованы в соответствии со способами, описанными в данном документе, раскрыты в следующих патентах и патентных заявках, которые включены в данный документ посредством ссылки для всех целей, патентах США №№ 6391306, 6383492, 6403095, 6410026, 6436404, 6447780, 6447781 и 6610659.

[00426] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в качестве лекарственного препарата. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения рака. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения рака у субъекта, включающем введение субъекту эффективного количества антитела или фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к (a) антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) средству, целенаправленно воздействующему на контрольные точки, для применения в качестве лекарственного препарата. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к (a) антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) средству, целенаправленно воздействующему на контрольные точки, для применения в способе лечения рака. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композиции, набору или составному набору, содержащему (a) антитело или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению и (b) средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки. В одном аспекте настоящее изобретение относится к (a) антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) ингибитору IDO для применения в качестве лекарственного препарата. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к (a) антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) ингибитору IDO для применения в способе лечения рака. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композиции, набору или составному набору, содержащему (a) антитело или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению и (b) ингибитор IDO. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к (a) антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению и (b) вакцине для применения в качестве лекарственного препарата. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к (a) антителу или фармацевтической композиции по

настоящему изобретению и (b) вакцине для применения в способе лечения рака. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композиции, набору или составному набору, содержащему (a) антитело или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению и (b) вакцину. В предпочтительном варианте осуществления антитела или фармацевтической композиции для применения в способе лечения рака антитело является агонистическим.

[00427] В одном аспекте способы модулирования одной или нескольких иммунных функций или ответов у субъекта, как представлено в данном документе, представляют собой способы прекращения, ослабления или ингибирования одной или нескольких иммунных функций или ответов у субъекта, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антагонистического антитела к OX40 или композиции на его основе. В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы предупреждения и/или лечения заболеваний, при которых желательным является прекращение, ослабление или ингибирование одной или нескольких иммунных функций или ответов, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, антагонистического антитела к OX40, описанного в данном документе, или композиции на его основе. В определенном варианте осуществления в данном документе предусмотрены способы лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества антагонистического антитела к OX40 или композиции на его основе. В определенных вариантах осуществления субъектом является человек. В определенных вариантах осуществления заболевание или нарушение выбрано из группы, состоящей из инфекций (вирусных, бактериальных, грибковых и паразитарных), эндотоксического шока, ассоциированного с инфекцией, артрита, ревматоидного артрита, астмы, хронической обструктивной болезни легких (COPD), воспалительного заболевания органов малого таза, болезни Альцгеймера, воспалительной болезни кишечника, болезни Крона, язвенного колита, болезни Пейрони, целиакии, заболевания желчного пузыря, пилонидальной болезни, перитонита, псориаза, васкулита, хирургических спаек, инсульта, диабета I типа, болезни Лайма, артрита, менингоэнцефалита, увеита, аутоиммунного увеита, иммунно-опосредованных воспалительных заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, волчанка (такая как системная красная волчанка) и синдром Гийена-Барре, дерматита, атопического дерматита, аутоиммунного гепатита, фиброзирующего альвеолита, базедовой болезни, IgA-нефропатии, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, болезни Меньера, пузырчатки, первичного билиарного цирроза, саркоидоза, склеродермии, грануломатоза Вегенера, панкреатита, физического повреждения

(хирургического), болезни "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата, заболевания сердца (т.е., сердечнососудистого заболевания), в том числе ишемических заболеваний, таких как инфаркт миокарда, а также атеросклероз и внутрисосудистая коагуляция, резорбции кости, остеопороза, остеоартрита, периодонтита, гипохлоргидрии, нейромиелиита зрительного нерва, целиакии, нарушений, связанных с соединительной тканью (например, волчанки), постинфекционных воспалительных нарушений (например, синдром Гийена-Барре) и паранеопластических синдромов. В определенных вариантах осуществления заболевание или нарушение выбрано из группы, состоящей из отторжения трансплантата, васкулита, астмы, ревматоидного артрита, дерматита, воспалительного заболевания кишечника, увеита и волчанки. В определенных вариантах осуществления любой из способов в данном документе (например, способы лечения инфекционного заболевания или способы лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения) включает введение субъекту антитела, описанного в данном документе, и средства, целенаправленно воздействующего на контрольные точки. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой антитело (например, антитело к PD-1, антитело к PD-L1, антитело к PD-L2, антитело к CTLA-4, антитело к TIM-3, антитело к LAG-3, антитело к CEACAM1, антитело к GITR, антитело к CD137 или антитело к OX40). В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой антагонистическое или агонистическое антитело. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой антитело к PD-1. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой антитело к GITR. В определенных вариантах осуществления средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, представляет собой антитело к CD137.

[00428] В другом варианте осуществления антагонистическое антитело к OX40 вводят пациенту, у которого было диагностировано аутоиммунное или воспалительное заболевание или нарушение, с целью снижения пролиферации и/или эффекторной функции одной или нескольких популяций иммунных клеток (например, Т-клеточных эффекторных клеток, таких как CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки), у пациента.

[00429] В конкретном варианте осуществления антагонистическое антитело к OX40, описанное в данном документе, прекращает, или ослабляет, или ингибирует одну или несколько иммунных функций или ответов у субъекта на по меньшей мере 99%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 85%,

по меньшей мере 80%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 20% или по меньшей мере 10%, или на значение в диапазоне от 10% до 25%, от 25% до 50%, от 50% до 75% или от 75% до 95% по сравнению с иммунной функцией у субъекта, которому не вводят антагонистическое антитело к OX40, описанное в данном документе, на основании анализов, хорошо известных в данной области техники, например, ELISPOT, ELISA и анализов клеточной пролиферации. В конкретном варианте осуществления иммунная функция представляет собой продукцию цитокинов (например, продукцию IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IL-10 и/или IL-13). В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой пролиферацию/размножение Т-клеток, которые могут быть оценены, например, с помощью проточной цитометрии с обнаружением числа клеток, экспрессирующих маркеры Т-клеток (например, CD3, CD4 или CD8). В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой выработку антитела, которая может быть определена, например, с помощью ELISA. В некоторых вариантах осуществления иммунная функция представляет собой эффекторную функцию, которая может быть определена, например, с помощью анализа цитотоксичности или других анализов, хорошо известных в данной области техники. В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой Th1-ответ. В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой Th2-ответ. В другом варианте осуществления иммунная функция представляет собой анамнестическую реакцию.

[00430] В конкретных вариантах осуществления неограничивающие примеры иммунных функций, которые могут быть ослаблены или ингибированы антагонистическим антителом к OX40, представляют собой пролиферацию/размножение эффекторных лимфоцитов (например, снижение числа эффекторных Т-лимфоцитов) и стимуляцию апоптоза эффекторных лимфоцитов (например, эффекторных Т-клеток). В конкретных вариантах осуществления иммунная функция, ослабленная или ингибированная антагонистическим антителом к OX40, описанным в данном документе, представляет собой пролиферацию/размножение числа или активацию CD4⁺ Т-клеток (например, Th1 и Th2 хелперных Т-клеток), CD8⁺ Т-клеток (например, цитотоксических Т-лимфоцитов, альфа/бета Т-клеток и гамма/дельта Т-клеток), В-клеток (например, плазматических клеток), Т-клеток памяти, В-клеток памяти, населяющих опухоль Т-клеток, CD122⁺ Т-клеток, клеток-естественных киллеров (NK)), макрофагов, моноцитов, дендритных клеток, тучных клеток, эозинофилов, базофилов или полиморфноядерных лейкоцитов. В одном варианте осуществления антагонистическое антитело к OX40, описанное в данном

документе, прекращает, ослабляет или ингибирует пролиферацию/размножение или обеспечивает снижение числа предшественников лимфоцитов. В некоторых вариантах осуществления антагонистическое антитело к OX40, описанное в данном документе, обеспечивает снижение числа CD4⁺ Т-клеток (например, Th1 и Th2 хелперных Т-клеток), CD8⁺ Т-клеток (например, цитотоксических Т-лимфоцитов, альфа/бета Т-клеток и гамма/дельта Т-клеток), В-клеток (например, плазматических клеток), Т-клеток памяти, В-клеток памяти, Т-клеток, населяющих опухоль, CD122⁺ Т-клеток, клеток-естественных киллеров (NK-клеток), макрофагов, моноцитов, дендритных клеток, тучных клеток, эозинофилов, базофилов или полиморфноядерных лейкоцитов примерно на по меньшей мере 99%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 20% или по меньшей мере 10% или в диапазоне от 10% до 25%, от 25% до 50%, от 50% до 75% или от 75% до 95% по сравнению с отрицательным контролем (например, числом соответствующих необработанных клеток, культивированных или приведенных в контакт с антагонистическим антителом к OX40, описанным в данном документе).

[00431] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения. В одном аспекте настоящее изобретение относится к антителу или фармацевтической композиции по настоящему изобретению для применения в способе лечения инфекционного заболевания. В предпочтительном варианте осуществления антитела или фармацевтической композиции для применения в способе лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения антитело является антагонистическим.

5.5.1.1 Пути введения и дозировка

[00432] Антитело или композиция, описанные в данном документе, могут быть доставлены субъекту различными путями, такими как парентеральный, подкожный, внутривенный, внутрикожный, трансдермальный, интраназальный, внутриопухолевый, и путем введения в дренирующий опухоль лимфатический узел. В одном варианте осуществления антитело или композиция вводят внутривенным или внутриопухолевым путем.

[00433] Количество антитела или композиции, которое будет эффективным в лечении и/или предупреждении состояния, будет зависеть от природы заболевания и может быть определено с помощью стандартных клинических методик.

[00434] Точная доза для применения в композиции будет зависеть от пути введения и тяжести заболевания, и должна определяться в соответствии с решением лечащего врача и состоянием отдельного пациента. Например, эффективные дозы могут также варьироваться в зависимости от способов введения, целевого участка, физиологического состояния пациента (в том числе возраста, веса тела и состояния здоровья), от того, является ли пациент человеком или животным, других вводимых лекарственных препаратов или от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Обычно пациентом является человек, однако также можно лечить отличных от человека млекопитающих, в том числе трансгенных млекопитающих. Лечебные дозы оптимально подбираются с целью оптимизации безопасности и эффективности.

[00435] В определенных вариантах осуществления *in vitro* анализ используется для облегчения идентификации диапазонов оптимальных доз. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых доза-ответ, полученных из *in vitro* тест-систем или тест-систем на основе животных моделей.

[00436] Как правило, антитела человека имеют более продолжительное время полужизни в организме человека, чем антитела других видов вследствие иммунного ответа на чужеродные полипептиды. Таким образом, во многих случаях возможно применение более низких доз антител человека и меньшая частота введения.

5.5.2 Выявление и варианты диагностического применения

[00437] Антитело к ОХ40, описанное в данном документе (см., например, раздел 5.2), может быть использовано для определения уровней белка ОХ40 в биологическом образце с помощью классических иммуногистологических способов, известных специалистам в данной области техники, в том числе иммунологических анализов, таких как твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), иммунопреципитация или вестерн-блоттинг. Подходящие метки для анализа антител известны в данной области техники и включают ферментные метки, такие как глюкозооксидаза; радиоизотопы, такие как йод (^{125}I , ^{121}I), углерод (^{14}C), сера (^{35}S), тритий (^3H), индий (^{121}In) и технеций (^{99}Tc); люминесцентные метки, такие как люминол; и флуоресцентные метки, такие как флуоресцеин, родамин и биотин. Такие метки могут быть использованы для мечения антитела, описанного в данном документе. Альтернативно, второе антитело, которое распознает антитело к ОХ40, описанное в данном документе, можно пометить и использовать в комбинации с антителом к ОХ40 для выявления уровней белка ОХ40.

[00438] Определение уровня экспрессии белка ОХ40 включает качественное или количественное измерение уровня белка ОХ40 в первом биологическом образце непосредственно (например, путем определения или оценки абсолютного уровня белка)

или относительно (например, путем сравнения уровня ассоциированного с заболеванием белка во втором биологическом образце). Уровень экспрессии полипептида OX40 в первом биологическом образце можно измерить или оценить и сравнить со стандартным уровнем белка OX40, при этом стандарт берут из второго биологического образца, полученного от индивидуума, не имеющего нарушения, или определяют путем усреднения уровней от группы индивидуумов, не имеющих нарушения. Как будет понятно в данной области техники, после того как "стандартный" уровень полипептида OX40 становится известен, его можно применять многократно в качестве стандарта для сравнения.

[00439] Используемый в данном документе термин "биологический образец" относится к любому биологическому образцу, полученному от субъекта, из клеточной линии, ткани или другого источника клеток, потенциально экспрессирующих OX40. Способы получения биоптатов тканей и биологических жидкостей от животных (например, человека) хорошо известны в данной области техники. Биологические образцы включают мононуклеарные клетки периферической крови.

[00440] Антитело к OX40, описанное в данном документе, может быть использовано для прогностических, диагностических, мониторинговых и скрининговых вариантов применения, в том числе *in vitro* и *in vivo* вариантов применения, хорошо известных, являющихся стандартными для специалиста в данной области техники и основанных на настоящем описании. Прогностические, диагностические, мониторинговые и скрининговые анализы и наборы для *in vitro* определения и оценки статуса иммунной системы и/или иммунного ответа могут быть использованы для прогнозирования, диагностирования и мониторинга с целью оценки образцов от пациентов, в том числе пациентов с дисфункцией иммунной системы или подозрением на дисфункцию иммунной системы, или в связи с предполагаемым или желательным иммунным ответом, ответом на антигены или ответом на вакцины. Определение и оценка статуса иммунной системы и/или иммунного ответа также является полезной при определении соответствия пациента для клинического исследования лекарственного препарата или для введения определенного химиотерапевтического средства или антитела, в том числе их комбинаций, по сравнению с другим средством или антителом. Такой тип прогностического и диагностического мониторинга и оценки уже используется в практике применения антител к белку HER2 при раке молочной железы (HerceptestTM, Dako), где анализ также используется для оценки пациентов в случае терапии антителами с применением Herceptin[®]. *In vivo* варианты применения включают целевую клеточную терапию, и модулирование иммунной системы, и визуализацию иммунных ответов с помощью радиоактивных меток.

[00441] В одном варианте осуществления антитело к OX40 может быть использовано в

иммуногистохимическом анализе образцов биоптата.

[00442] В другом варианте осуществления антитело к OX40 может быть использовано для выявления уровней OX40 или содержания клеток, которые содержат OX40 на своей мембранной поверхности, уровни которого затем могут быть связаны с симптомами определенных заболеваний. Антитела к OX40, описанные в данном документе, могут нести выявляемую или функциональную метку. В случае использования флуоресцентных меток доступные в настоящее время микроскопический анализ и анализ с использованием клеточного сортера с активацией флуоресценции (FACS) или комбинация обоих способов, известных в данной области техники, могут быть использованы для выявления и количественного определения специфичных связывающихся элементов. Антитела к OX40, описанные в данном документе, могут нести флуоресцентную метку. Иллюстративные флуоресцентные метки включают, например, реактивные или конъюгированные зонды, например, красители Aminocoumarin, Fluorescein и Texas red, красители Alexa Fluor, красители Cy и красители DyLight. Антитело к OX40 может нести радиоактивную метку, такую как изотопы ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{117}Lu , ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{198}Au , ^{211}At , ^{213}Bi , ^{225}Ac и ^{186}Re . В случае использования радиоактивных меток доступные в настоящее время процедуры подсчета, известные в данной области техники, могут быть использованы для идентификации и количественного определения специфичного связывания антитела к OX40 с OX40 (например, OX40 человека). В случае, когда метка представляет собой фермент, выявление может сопровождаться любой из используемых в настоящее время колориметрических, спектрофотометрических, амперометрических или газометрических методик, известных в данной области техники. Это может быть достигнуто при приведении образца или контрольного образца в контакт с антителом к OX40 в условиях, которые способствуют образованию комплекса между антителом и OX40. Любые комплексы, образованные между антителом и OX40, выявляются и сравниваются в образце и контроле. С учетом специфического связывания антител, описанных в данном документе, в отношении OX40, антитела к нему могут быть использованы для специфического выявления экспрессии OX40 на поверхности клеток. Антитела, описанные в данном документе, также могут быть использованы для очистки OX40 посредством иммуноаффинной очистки.

[00443] Также в данный документ включена система анализа, которая может быть разработана в форме тест-набора для количественного анализа степени присутствия, например, OX40 или комплексов OX40/OX40L. Система или тест-набор могут содержать меченый компонент, например, меченое антитело и один или несколько дополнительных иммунохимических реагентов. См., например, раздел 5.6 ниже с более детальной

информацией о наборах.

[00444] В некоторых аспектах в данном документе предусмотрены способы *in vitro* выявления ОХ40 в образце, включающие приведение указанного образца в контакт с антителом. В некоторых аспектах в данном документе предусмотрено применение антитела, предусмотренного в данном документе, для *in vitro* выявления ОХ40 в образце. В одном аспекте в данном документе предусмотрено антитело и/или фармацевтическая композиция, предусмотренные в данном документе, для применения в выявлении ОХ40 у субъекта. В одном аспекте в данном документе предусмотрено антитело и/или фармацевтическая композиция, предусмотренные в данном документе, для применения в качестве диагностического средства. В одном предпочтительном варианте осуществления антитело содержит выявляемую метку. В одном предпочтительном варианте осуществления ОХ40 представляет собой ОХ40 человека. В одном предпочтительном варианте осуществления субъектом является человек.

5.6 Наборы

[00445] В данном документе предусмотрены наборы, содержащие одно или несколько антител, описанных в данном документе, или их конъюгаты. В конкретном варианте осуществления в данном документе предусмотрен фармацевтический пакет или набор, содержащие один или несколько контейнеров, заполненных одним или несколькими из ингредиентов фармацевтических композиций, описанных в данном документе, такими как одно или несколько антител, предусмотренных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления наборы содержат фармацевтическую композицию, описанную в данном документе, и любое профилактическое или терапевтическое средство, такое как описанные в данном документе. В определенных вариантах осуществления наборы могут содержать Т-клеточный митоген, такой как, *например*, фитогемагглютинин (РНА) и/или форболмиристатацетат (РМА), или стимулирующее TCR-комплекс антитело, такое как антитело к CD3 и антитело к CD28. Необязательно, совместно с таким(такими) контейнером(контейнерами) может прилагаться уведомление в форме, предписанной государственным органом, регулирующим изготовление, применение или продажу фармацевтических или биологических продуктов, и в таком уведомлении отражено разрешение органа в отношении производства, применения или продажи для введения человеку.

[00446] В данном документе также предусмотрены наборы, которые можно использовать в вышеописанных способах. В одном варианте осуществления набор содержит антитело, описанное в данном документе, предпочтительно очищенное антитело, в одном или

нескольких контейнерах. В конкретном варианте осуществления наборы, описанные в данном документе, содержат, по сути, выделенный антиген ОХ40 (например, ОХ40 человека), который может быть использован в качестве контроля. В другом конкретном варианте осуществления наборы, описанные в данном документе, дополнительно содержат контрольное антитело, которое не реагирует с антигеном ОХ40. В другом конкретном варианте осуществления наборы, описанные в данном документе, содержат один или несколько элементов для выявления связывания антитела с антигеном ОХ40 (например, антитело может быть конъюгировано с выявляемым субстратом, таким как флуоресцентное соединение, ферментный субстрат, радиоактивное соединение или люминесцентное соединение, или второе антитело, которое распознает первое антитело, может быть конъюгировано с выявляемым субстратом). В конкретных вариантах осуществления в данном документе предусмотрен набор, который может включать полученный рекомбинантным путем или синтезированный химическим путем антиген ОХ40. Антиген ОХ40, предусмотренный в наборе, также может быть соединен с твердой подложкой. В еще одном конкретном варианте осуществления средства выявления вышеуказанного набора включают твердую подложку, к которой присоединяется антиген ОХ40. Такой набор также может включать неприсоединяемое репортерное меченое антитело к человеческому антителу или мышьиному/крысиному антителу. В этом варианте осуществления связывание антитела с антигеном ОХ40 может быть выявлено по связыванию указанного репортерного меченого антитела. Кроме того, предусмотрен набор или составной набор, содержащий (а) антитело или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению, и (b) средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, ингибитор IDO и/или вакцина.

[00447] Следующие примеры представлены в качестве иллюстрации, а не в качестве ограничения.

6. ПРИМЕРЫ

[00448] Примеры в данном разделе (т. е., разделе б) представлены для иллюстративных целей, а не для ограничения.

6.1 Пример 1. Получение новых антител к ОХ40 человека

[00449] В этом примере описывается получение и характеристика антител, которые связываются с ОХ40 человека. В частности, в этом примере описывается получение антител человека, которые специфически связываются с ОХ40 человека и оказывают костимулирующий эффект на Т-клетки.

6.1.1 Получение библиотеки

[00450] Получение библиотеки Retrocyte Display™ описано в данном документе. Для получения вставок из библиотеки полную РНК экстрагировали смесью фенол/хлороформ

из отсортированных с помощью FACS CD19-положительных В-лимфоцитов человека, происходящих из двух образцов пуповинной крови. Полную РНК каждого образца пуповинной крови (1 мкг) использовали для синтеза первой цепи кДНК с помощью набора для синтеза первой цепи кДНК RevertAid Synthesis от Fermentas (№ по кат. K1621 и K1622). Варибельные области антитела амплифицировали из кДНК с помощью ПЦР и клонировали в векторы экспрессии на основе ретровирусов (pCMA). Затем эти конструкции использовали для трансдукции пре-В-клеток для экспрессии антител на поверхности с помощью технологии Retrocyte Display™. Вектор экспрессии на основе ретровируса содержал 5'- и 3'-LTR, при этом константная область иммуноглобулина (IGHG1 или IGKC) содержала часть в качестве мембранного якоря (IGHG1) и ген маркера поверхности CD4.

[00451] Варибельные области легкой цепи (VL) амплифицировали с помощью полугнездовой ПЦР с применением специфичных в отношении серии V_κ прямых праймеров и смеси обратных праймеров. С помощью прямых праймеров вводили сайт клонирования *Hind*III и с помощью прямых праймеров вводили сайт клонирования *Eco*47III.

[00452] Варибельные области тяжелой цепи (VH) амплифицировали с помощью ПЦР с применением специфичных в отношении серии VH прямых праймеров и смеси обратных праймеров. С помощью прямых праймеров вводили сайт клонирования *Hind*III и с помощью прямых праймеров вводили сайт клонирования *Eco*47III.

[00453] Амплифицированные области VH и V_κ расщепляли при 37°C в течение ночи. После расщепления получали полосу, соответствующую размерам 400-450 п. о., и очищали на геле (Macherey&Nagel, NucleoSpin Gel and PCR clean-up).

[00454] Для клонирования варибельных областей тяжелой цепи конструкцию 3181 (pCMA-InsX Cg(iso3) loxP2-I-tr_huCD4-loxP) переваривали *Hind*III/*Eco*47III при 37°C в течение 4 часов и полосу размером 8362 п. о., очищали из геля. Для клонирования варибельных областей легкой к-цепи конструкцию 3204 (pCMA-InsX Ck-I-CD4) расщепляли с помощью *Hind*III/*Eco*47III при 37°C в течение 4 часов и полосу, соответствующую размеру 7465 п. о., очищали из геля.

[00455] Варибельные области расщепленного и очищенного антитела лигировали в рамку считывания в соответствующие векторы экспрессии с применением соотношения вектора и вставки 1:3. Каждую серию VH и V_κ по отдельности лигировали в векторы экспрессии на основе ретровирусов и концентрировали в 10 раз осаждением. Осажденные продукты реакции лигирования VH и V_κ также по отдельности переносили в клетки *E. coli* DH10B для получения библиотеки. Лигирование, осаждение и трансформация каждой серии VH и V_κ по отдельности позволили получить библиотеку, которая отражает

естественное распределение функциональных генов зародышевой линии, гарантируя, что семейства VH или Vk с большим числом функциональных генов зародышевой линии значительно представлены в конечной библиотеке по сравнению с семействами с более низким числом функциональных генов зародышевой линии. После трансформации клетки *E.coli* собирали и объединяли для получения конечной библиотеки. Качество каждой библиотеки контролировали посредством диагностического расщепления рестриктазами и анализа данных секвенирования. Разнообразие библиотеки рассчитывали на основе данных анализа последовательностей.

6.1.2 Извлечение тяжелой и легкой цепей из предварительно отобранных клонов пре-B-клеток

[00456] Материал библиотеки, полученный, как описано выше, использовали для идентификации антител с высокой аффинностью связывания с OX40. Клоны B-клеток лизировали, и переменные области тяжелой и легкой цепей амплифицировали из вставленного вектора на основе ретровируса, стабильного интегрированного в геномную ДНК, с помощью способов ПЦР, стандартных в данной области техники. Амплифицированные переменные области тяжелой и легкой цепей затем клонировали в векторы экспрессии млекопитающих, содержащие константные области тяжелой цепи и легкой цепи человека. Препараты ДНК-плазмид затем использовали для трансфекции клеток CHO и экспрессируемые антитела исследовали с помощью технологии "suspension assay". Тяжелые и легкие цепи антител секвенировали в компании Microsynth (Бальгах, Швейцария).

6.1.3 Определение биофизических характеристик антител к OX40

[00457] Антитело, обозначенное rab1949, было отобрано и охарактеризовано в ряде анализов, описанных ниже. Антитело к OX40 rab1949 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 50. Антитело rab1949 представляет собой антитело IgG₁ человека, содержащее замену T109S в константном домене легкой цепи (т. е., замену треонина на серин в положении 109 по отношению к константному домену легкой цепи дикого типа), пронумерованном по Kabat, что облегчает клонирование переменной области в рамку считывания к константной области. Эта мутация представляет собой консервативную модификацию, которая не влияет на связывание и функцию антитела. Также был получен аналог дикого типа, названный rab1949-1, который содержит треонин в положении 109, пронумерованном по Kabat. Антитело rab1949-1 представляет собой антитело IgG₁ человека, содержащее тяжелую цепь под SEQ ID NO: 60, и легкую цепь под SEQ ID NO: 20.

6.1.3.1 Измерение аффинности с помощью интерферометрии биослоя

[00458] Аффинность rab1949-1 определяли с помощью интерферометрии биослоя (BLI). Вкратце, рекомбинантный антиген OX40 человека (OX40-Fc, R&D) разводили с помощью 1xPBS с получением 1000 мкл 0,2 мкМ и добавляли в 96-луночный планшет. rab1949-1 разводили в 1xPBS до концентрации 50 нМ. Серийные разведения rab1949-1 по шести точкам осуществляли исходя из 50 нМ раствора с применением 1xPBS с получением разведений антитела в диапазоне от 50 нМ до 0,78 нМ, и добавляли 100 мкл на лунку серийных разведений соответствующего антитела в 96-луночном планшете. Сенсоры покрывали антигеном OX40 человека с помощью 16-канального режима Octet® при 25°C в течение 5 минут с пороговой величиной 1,0 нМ в соответствии с инструкциями производителя. Для блокирования 0,5 мг/мл неспецифичного антитела IgG₁ инкубировали в течение 10 минут. Планшет, содержащий серийные разведения антитела rab1949-1, помещали в прибор Octet®. Анализы проводили в соответствии с инструкциями производителя. Связывание и диссоциацию rab1949-1 в отношении антигена OX40 фиксировали в течение 3 минут и 10 минут соответственно. Данные анализировали с применением программного обеспечения для анализа данных системы Octet®, и результаты показаны в таблице 5.

[00459] Таблица 5. Измерение аффинности rab1949-1

К _a (1/Мс)	К _d (1/с)	К _D (нМ)
1,09×10 ⁶	1,26×10 ⁻⁴	0,11

6.1.3.2 Связывание антител с активированными Т-клетками человека или макака-крабоеда

[00460] Характеристики связывания антител к OX40 rab1949 и rab1949-1 с OX40 человека или макака-крабоеда анализировали с помощью проточной цитометрии.

[00461] РВМС человека, выделенные в градиенте плотности Ficoll из лейкоцитарной пленки здоровых доноров (Research Blood Components, LLC), обогащали необработанными CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетками с помощью разделения в магнитном поле (Miltenyi Biotec). Подвергнутые обогащению популяции Т-лимфоцитов затем активировали с помощью гранул для экспансии CD3-CD28 (Miltenyi Biotec) с использованием 500 ЕД. rIL-2 (R&D Systems) в течение 3 дней при рекомендованных условиях культивирования и после этого 50 ЕД. rIL-2. Рекомендованные условия культивирования определяли при культивировании клеток в среде RPMI-1640, обогащенной 10% эмбриональной телячьей сывороткой, 10 мМ HEPES и смесью 1X пенициллин/стрептомицин-глутамин при 37°C и 5% CO₂. После активации клетки инкубировали со смесью поверхностных антител, содержащей

конъюгированные антитела к CD3 (BV711, ОКТ3), CD4 (BV605, ОКТ4), CD8a (BV650, RPA-T8) и предварительно конъюгированные антитела к ОХ40 или изотипический контроль (оба Afluo488, 10 мкг/мл), разведенные в буфере для FACS (PBS с 2% FBS) в течение 30 минут при 4°C. Дополнительные образцы оставляли для окрашенных одним красителем компенсаторных контролей (CD45-BV650, CD45-Afluo488, CD45-BV605 и CD45-BV711). Клетки затем дважды промывали буфером для FACS и анализировали с помощью проточного цитометра LSRFortessa (BD Biosciences). Графики на основе данных проточной цитометрии анализировали с применением комбинации программного обеспечения FACS DIVA и WENI Weasel. Антитело к ОХ40 pab1949 связывалось с активированными CD4⁺ Т-клетками и CD8⁺ Т-клетками человека (фигура 1А).

[00462] Ряд концентраций pab1949-1 исследовали на предмет связывания с активированными Т-клетками для характеристики взаимосвязи доза-ответ. Вкратце, мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) размораживали и промывали PBS. Отрицательное выделение Т-клеток выполняли с помощью магнитных гранул (Miltenyi Biotec) и очищенные Т-клетки ресуспендировали в RPMI +10% FBS и стимулировали с использованием гранул с антителом к CD3/антителом к CD28 в течение 72 часов при 37°C и 5% CO₂. Клетки промывали и блокировали с использованием блокирующего Fc-рецепторы раствора (Trustain, Biolegend) в течение 15 минут при комнатной температуре. Клетки промывали повторно и окрашивали с помощью серийного разведения pab1949-1 (от 10 до 0,00003 мкг/мл) в течение 45 минут при 4°C в темноте. Клетки промывали и затем окрашивали антителами-маркерами клеточной линии, в том числе флуоресцеина изотиоцианатом (FITC) для антитела к CD3 (клон SP34) и бриллиантовым фиолетовым (BV) 510 для антитела к CD4 (клон ОКТ4), совместно с вторичным антителом с выявлением pab1949-1 (PE-конъюгированное антитело к каппа-цепи IgG). Клетки промывали, фиксировали 1,6% параформальдегидом и обнаруживали с применением проточного цитометра Becton Dickinson Fortessa. pab1949-1 характеризовалось связыванием только со стимулированными Т-клетками, но не с нестимулированными Т-клетками (фигура 1В). Связывание pab1949-1 с активированными CD4⁺ Т-клетками человека было дозозависимым (фигура 1С).

[00463] Затем несколько подтипов покоящихся иммунных клеток исследовали на предмет связывания с pab1949-1. PBMC человека размораживали и промывали PBS. Для окрашивания мертвых клеток краситель для оценки жизнеспособности в инфракрасном (ИК) свете добавляли и инкубировали в течение 15 минут при комнатной температуре в защищенном от света месте. Клетки промывали и окрашивали связывающимся с аминокруппой красителем для использования в инфракрасном свете (Life Technologies) в

течение 15 минут при комнатной температуре. Клетки промывали и блокировали Fc-рецепторы (Trustain FcX, Biolegend) в течение 10 минут при комнатной температуре. После промывки клетки инкубировали с 1 мкг/мл rab1949-1 или изотипическим контролем IgG₁ в течение 30 минут при 4°C в защищенном от света месте. Клетки промывали и окрашивали вторичным реагентом (конъюгированным с PE антителом к Fc F(ab'), Jackson Immune Research Laboratories), затем проводили окрашивание антителом-маркером клеточной линии, которое включало фикоэритрина цианин 7 для антитела к CD3 (PECy7, клон SP34.2), BV510 для антитела к CD8 (клон SK1), перидинин-хлорофилл-белковый комплекс (PerCP) Cy5 (клон Ly200) для антитела к CD4 и FITC для антитела к CD14 (клон TUK4). Клетки промывали, фиксировали 1,6% параформальдегидом и определяли с помощью проточного цитометра Becton Dickinson. Как показано на фигуре 1D, антитело к OX40 rab1949-1 не характеризовалось выявляемым связыванием с CD14⁺ клетками, CD4⁺ Т-клетками, CD8⁺ Т-клетками, CD20⁺ В-клетками или CD3-CD20-клетками.

[00464] Для исследования перекрестной реактивности в отношении видов выполняли анализ клеточного связывания с применением активированных РВМС макака-крабоведа (*Macaca fascicularis*). Вкратце, жизнеспособные РВМС макака-крабоведа (Worldwide Primates Inc.) активировали конкавалином А (Sigma Aldrich, 5 мкг/мл) и рекомбинантным ИЛ-2 (Miltenyi, 20 ЕД./мл) в течение 3 дней в среде RPMI, дополненной 10% термоинактивированной FBS при 37°C в 5% CO₂ увлажненной камере. После активации клетки инкубировали блокирующим Fc-рецепторы человека раствором (Biolegend) в течение 15 минут при комнатной температуре для снижения неспецифического связывания. Антитело к OX40 rab1949 или изотипический контроль IgG₁ человека (10 мкг/мл) добавляли к образцам и инкубировали в течение 30 минут при 4°C. После одной промывки буфером для FACS смесь антител, содержащую APC-конъюгированное антитело к каппа-цепи человека, а также антитела, специфичные в отношении CD4 (BV605, OKT4) и CD8a (PE, RPA-T8), все при концентрации 2,5 мкг/мл, разводили в буфере для FACS (PBS, 2 мМ EDTA, 0,5% BSA и pH 7,2), добавляли к каждому образцу и инкубировали в течение 30 минут при 4°C. Перед окрашиванием дополнительные образцы оставляли для окрашенных одним красителем компенсаторных контролей (реагирующие в случае макака-крабоведа: CD4-BV605, CD4-PE и CD4-APC). Образцы промывали дважды в буфере для FACS и анализировали с помощью проточного цитометра LSRFortessa (BD Biosciences). Как показано на фигуре 1E, rab1949 связывалось с активированными CD4⁺ Т-клетками макака-крабоведа.

6.1.3.3 Анализ избирательности антитела к OX40

[00465] Избирательность rab1949-1 в отношении OX40 оценивали по сравнению с

другими членами суперсемейства TNFR с помощью технологии "suspension array" в качестве мультиплексного анализа. Ряд членов семейства TNFR химически связывали с микросферами Luminex[®] с применением стандартного химического реагента NHS-эфир. Очищенный материал rab1949-1 разводили в буфере для анализа (Roche 11112589001) до 10 нг/мл, 100 нг/мл и 1000 нг/мл. Вкратце, 25 мкл каждого разведения инкубировали в темноте (20°C, 650 об./мин.) с 1500 микросферами Luminex[®] в 5 мкл буфера для анализа в течение 1 часа в 96-луночных фильтровальных планшетах с половинным объемом лунок (Millipore, MABVN1250). Микросферы Luminex[®] (Luminex Corp, LC10001-01, LC10005-01, LC10010-01, LC10014-01, LC10015-01, LC10018-01, LC10022-01, LC10026-01, LC10052-01, LC10053-01 и LC10055-01) связывали с рекомбинантным LTBR-Fc человека (Acros Biosystems, LTR-H5251), антителом к IgG человека (F(ab)₂-специфичным, JIR, 105-006-097), рекомбинантным OX40-Fc человека (R&D systems, 3388-OX), рекомбинантным GITR-Fc человека (R&D, 689-GR), рекомбинантным DR6-Fc человека (SinoBiological, 10175-H02H), рекомбинантным DR3-Fc человека (R&D, 943-D3), рекомбинантным GITR-His человека (SinoBiological, 13643-H08H), рекомбинантным TWEAK R-Fc человека (SinoBiological, 10431-H01H), рекомбинантным OX40-His человека (SinoBiological, 10481-H08H), рекомбинантным 4-1BB-His человека (SinoBiological, 10041-H08H) или рекомбинантным BAFFR-Fc человека (R&D, 1162-BR) посредством аминного связывания на поверхности гранул с COOH-группой. Стандартные кривые получали для двух повторов 25 мкл стандарта IgG1 человека (Sigma, I5154) при серийном разведении 1:3 (0,08-540 нг/мл). Выявление осуществляли с использованием 60 мкл антитела козы к IgG F(ab)₂ человека, меченого R-PE (2,5 мкг/мл; JIR 109-116-098, набор AbDSerotec Rapid RPE Antibody Conjugation Kit, LNK022RPE) и дополнительной инкубации в течение одного часа (20°C, 650 об./мин.). Планшеты анализировали с помощью системы Luminex[®] 200 (Millipore). Всего отсчитывали по 100 гранул на лунку в объеме образца, составляющем 48 мкл. Значения PE MFI использовали для определения специфического или неспецифического связывания с рекомбинантными белками, упомянутыми выше.

[00466] Антитело rab1949-1 характеризовалось специфичным связыванием с OX40 человека, при этом не наблюдалось специфического связывания с другими членами семейства TNFR при исследуемых концентрациях (данные не показаны).

6.2 Пример 2. Определение функциональных характеристик антител к OX40

[00467] Этот пример демонстрирует способность антител к OX40 rab1949 и rab1949-1, полученных с помощью способов, описанных выше, функционировать в качестве агонистов OX40. Антитела rab1949 и rab1949-1 анализировали для определения их способности костимулировать первичные CD4⁺ или CD8⁺ Т-клетки человека. Кроме того,

rab1949 и rab1949-1, которые представляют собой антитела IgG₁ человека, превращали в антитела IgG₄ человека, rab2044 и rab2044-1 соответственно. Антитело rab2044 имеет такую же переменную область тяжелой цепи и такую же легкую цепь, что и rab1949, однако содержит константную область IgG₄ человека. Антитело rab2044 содержит последовательность тяжелой цепи под SEQ ID NO: 61 и последовательность легкой цепи под SEQ ID NO: 50. Аналогично rab1949, rab2044 содержит одну аминокислотную замену T109S, представляющую собой консервативную модификацию в константной области легкой цепи, которая не влияет на связывание или функцию антитела, для облегчения клонирования. Аналог дикого типа, rab2044-1, содержит треонин в положении 109, пронумерованном по Kabat, и содержит последовательность тяжелой цепи под SEQ ID NO: 61 и последовательность легкой цепи под SEQ ID NO: 20. Аналогично, rab1949 и rab1949-1 также превращали в антитела IgG₂ человека, rab2193 и rab2193-1 соответственно. Антитело rab2193 содержит последовательность тяжелой цепи под SEQ ID NO: 62 и последовательность легкой цепи под SEQ ID NO: 50. Антитело rab2193-1 содержит последовательность тяжелой цепи под SEQ ID NO: 62 и последовательность легкой цепи под SEQ ID NO: 20. В некоторых анализах исследовали функциональную активность rab1949, rab1949-1, rab2044, rab2044-1, rab2193 или rab2193-1.

[00468] В некоторых из анализов агонистическую активность антител к OX40 по настоящему изобретению сравнивали с таковой эталонных антител rab1784 и rab2045. Антитело rab1784 получали на основе переменных областей антитела 11D4, представленного в патенте США № 7960515 (включенного в данный документ посредством ссылки). Тяжелая цепь rab1784 содержит аминокислотную последовательность переменной области тяжелой цепи 11D4 (SEQ ID NO: 26) и константную область IgG₁ человека под SEQ ID NO: 65. Легкая цепь rab1784 содержит аминокислотную последовательность переменной области легкой цепи 11D4 (SEQ ID NO: 24) и константную область под SEQ ID NO: 25.

[00469] Антитело rab2045 получали на основе переменных областей антитела 20E5, представленного в международной публикации № WO 13/038191 (включенной в данный документ посредством ссылки). Тяжелая цепь rab2045 содержит аминокислотную последовательность переменной области тяжелой цепи 20E5 (SEQ ID NO: 30) и константную область IgG₁ человека под SEQ ID NO: 65. Легкая цепь rab2045 содержит аминокислотную последовательность переменной области легкой цепи 20E5 (SEQ ID NO: 28) и константную область под SEQ ID NO: 41.

6.2.1 Влияние антител к OX40 на стимулированную антителом к CD3 пролиферацию CD4⁺ Т-клеток

[00470] Для исследования влияния pab1949 на пролиферацию Т-клеток, РВМС человека, выделенные в градиенте плотности Ficoll из лейкоцитарной пленки здоровых доноров (Research Blood Components, LLC), обогащали необработанными CD4⁺ Т-клетками с помощью разделения в магнитном поле (Stemcell Technologies). Клеточную пролиферацию определяли путем контроля разведения красителя, представляющего собой сукцинимидиловый сложный эфир диацетата карбоксифлуоресцеина (CFSE), для делящихся клеток (Quah BJ *et al.*, (2007) Nat Protoc, 2(9): 2049-56). Подвергнутые обогащению CD4⁺ Т-клетки метили 10 мкМ CellTrace™ CFSE (Life Technologies) в течение 7 минут при 37°C. После тщательных промывок клетки суспендировали в среде RPMI1640, дополненной 10% термоинактивированной FBS при концентрации 1 x 10⁶ клеток/мл. Всего 100 мкл (1 x 10⁵ клеток) высевали в каждую лунку 96-луночных планшетов с лунками с плоским дном, предварительно покрытых антителом к CD3 (3 мкг/мл, BD Biosciences), совместно с 5 мкг/мл pab1949, 5 мкг/мл изотипического контроля IgG1 или 2 мкг/мл антитела к CD28 (BD Biosciences) и культивировали при 37°C и 5% CO₂. В день 5 клетки окрашивали меченым PerCP-Cy5.5 антителом к CD4 в буфере для FACS (2% FBS в PBS) в концентрации 0,5 мкл/лунку при 4°C в течение 30 минут и процентную долю меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ определяли с помощью проточной цитометрии на LSRFortessa (BD Biosciences). Данные проточной цитометрии анализировали с помощью FlowJo.

[00471] Активность pab2044 определяли с помощью аналогичного анализа, как описано выше, где CD4⁺ Т-клетки, меченые CFSE, высевали в 96-луночные планшеты, предварительно покрытые антителом к CD3 (3 мкг/мл, BD Biosciences), совместно с 5 мкг/мл pab2044, 5 мкг/мл изотипического контроля IgG₄ (pab2031) или 2 мкг/мл антитела к CD28 (BD Biosciences). Процентную долю меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ определяли с помощью проточной цитометрии в день 5.

[00472] На фигурах 2A и 2B представлены гистограммы на основе данных репрезентативного анализа с применением проточной цитометрии пролиферации CD4⁺ Т-клеток, индуцированных при костимуляции антителами к OX40, на которых показано число клеток (ось Y) и уровень испускаемой флуоресценции (ось X) меченых CFSE CD4⁺ Т-клеток. Усиленная пролиферация CD4⁺ Т-клеток показана как повышенный процент клеток с уменьшенным уровнем флуоресценции, испускаемой CFSE. На гистограммах указаны процентные доли меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺. Как pab1949 (фигура 2A), так и pab2044 (фигура 2B) при связывании на планшете индуцировали пролиферацию CD4⁺ Т-клеток при добавлении к клеткам, активированным субоптимальными концентрациями антитела к CD3.

[00473] Затем измеряли дозозависимый ответ на pab1949 при индуцировании пролиферации Т-клеток. РВМС, выделенные в градиенте плотности Ficoll из лейкоцитарной пленки здоровых доноров (Research Blood Components, LLC), обогащали необработанными CD4⁺ Т-клетками с помощью разделения в магнитном поле (Stemcell Technologies). Подвергнутую обогащению популяцию CD4⁺ Т-клеток затем метили 10 мкМ CellTrace™ CFSE (Life Technologies) в течение 7 минут при 37°C. После тщательных промывок клетки суспендировали в среде RPMI1640, дополненной 10% термоинактивированной FBS при концентрации 1 x 10⁶/мл. 100 мкл (1x10⁵) клеток высевали в каждую лунку 96-луночных планшетов с лунками с плоским дном, предварительно покрытых антителом к CD3 (3 мкг/мл, BD Biosciences), совместно с различными концентрациями pab1949 или изотипического контроля IgG₁ и культивировали при 37°C и 5% CO₂. В день 4 клетки окрашивали меченым APC антителом к CD4 в буфере для FACS (2% FBS в PBS) в концентрации 0,5 мкл/лунку при 4°C в течение 30 минут и процентную долю меченых CFSE клеток с низким содержанием CD4⁺ определяли с помощью проточной цитометрии на LSRFortessa (BD Biosciences).

[00474] Как показано на фигуре 2С, антитело к OX40 pab1949 было способно поддерживать высокий уровень пролиферации Т-клеток при фармакологически приемлемых концентрациях антител. Пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляла собой возрастающую в значительной степени функцию от концентраций pab1949, составляющих от 0,2 мкг/мл до 20 мкг/мл (фигура 2С).

6.2.2 Влияние антител к OX40 на стимулированную антителом к CD3 продукцию цитокинов РВМС человека

[00475] В качестве дополнительного доказательства агонистической активности антител к OX40 pab1949 и pab1949-1 измеряли продукцию цитокинов при субоптимальной концентрации антитела к CD3.

[00476] Для эксперимента по внутриклеточному окрашиванию цитокинов РВМС человека, выделенные в градиенте плотности Ficoll из лейкоцитарной пленки здоровых доноров (Research Blood Components, LLC), хранили в жидком азоте и размораживали в день эксперимента. Клетки ресуспендировали в среде для культивирования клеток (RPMI + 10% FBS + 20 ЕД./мл IL-2) и добавляли в 96-луночные планшеты для культивирования, которые содержали связанное на планшете антитело к CD3 при различных субоптимальных концентрациях совместно с 5 мкг/мл антитела к OX40 pab1949 или антитела изотипического контроля IgG₁. Образцы инкубировали в течение 3 дней при 37°C и 5% CO₂. После активации для ингибирования транспорта внутриклеточных белков клетки обрабатывали брефелдином А (BD Biosciences) в соответствии с инструкциями

производителя и образцы инкубировали в течение 6 часов при 37°C и 5% CO₂. После инкубации клетки окрашивали связывающимся с аминогруппой красителем для оценки жизнеспособности (Life technologies) на наличие мертвых клеток. После промывки буфером для FACS (PBS, 2% FBS, pH 7,2), смесь антител, содержащую антитела, специфичные в отношении CD3 (APC Cy7, SP34.2), CD4 (PercP Cy5.5, L200) и CD8a (PE Cy7, SK1), разведенные в холодном буфере для FACS, добавляли к каждому образцу и инкубировали в течение 10 минут при 4°C. Клетки фиксировали и пермеабелизовали Cytofix-Cytoperm (BD Biosciences) для внутриклеточного окрашивания в соответствии с инструкциями производителя. PBMC окрашивали антителами, специфичными в отношении IFN γ (Alexa647, B27) и TNF α (PE, Mab11), и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Перед окрашиванием гранулы, связывающие легкие каппа-цепи антител IgG мыши окрашивали антителами, применяемыми для окрашивания клеток с использованием окрашенных одним красителем компенсаторных контролей. Образцы промывали промывочным буфером 1xPerm (BD Biosciences) и анализировали с помощью проточного цитометра FACS Canto (BD Biosciences). Графики на основе данных проточной цитометрии анализировали с помощью программного обеспечения FloJo.

[00477] Исследовали PBMC от четырех различных доноров: донора KM, донора TM, донора GS и донора SB. Для всех доноров rab1949 характеризовалось костимулирующей активностью в отношении Т-клеток человека, индуцируя IFN γ ⁺ TNF α ⁺ полифункциональные CD4⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки, и TNF α ⁺ монофункциональные CD4⁺ Т-клетки и CD8⁺ Т-клетки (фигуры 3А, 3В и 3С). В случае PBMC от донора GS rab1949 также было способно повышать процентную долю IFN γ ⁺ монофункциональных Т-клеток (фигура 3В).

[00478] Затем антитело к OX40 rab1949-1 с титрованием дозы исследовали в анализе стимуляции субоптимальными концентрациями антитела к CD3, аналогичном описанному выше с использованием клеток, происходящих из PBMC донора GS. Вкратце, PBMC инкубировали со связанным на планшете антителом к CD3 (0,8 мкг/мл) и связанным на планшете rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ (0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25, или 50 мкг/мл) в течение 4 дней при 37°C и 5% CO₂. После активации для ингибирования транспорта внутриклеточных белков клетки обрабатывали брефелдином А (BD Biosciences) в соответствии с инструкциями производителя и образцы инкубировали в течение 6 часов при 37°C и 5% CO₂. После инкубации клетки окрашивали связывающимся с аминогруппой красителем FITC для оценки жизнеспособности (Life technologies) для различения живых и мертвых клеток. После промывки холодным буфером (1xPBS + 2% FBS, pH 7,2), смесь антител, содержащую антитела к CD3 (APC Cy7, SP34.2), антитела к CD4 (PercP Cy5.5,

L200) и антитела к CD8a (PE Cy7, SK1), добавляли к каждому образцу и инкубировали в течение 10 минут при 4°C. Клетки фиксировали и пермеабелизовали Cytofix-Cytoperm (BD Biosciences) для внутриклеточного окрашивания в соответствии с инструкциями производителя. PBMC окрашивали антителами к IFN γ (Alexa647, B27) и антителами к TNF α (PE, Mab11), и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Образцы промывали промывочным буфером 1xPerm (BD Biosciences) и анализировали с помощью проточного цитометра FACScanto (BD Biosciences). Графики на основе данных проточной цитометрии анализировали с помощью программного обеспечения Flojo. Как показано на фигурах 3D-3F, антитело к OX40 rab1949-1 характеризовалось костимулирующей активностью и повышало процентную долю TNF α + CD4+ Т-клеток, IFN γ + TNF α + полифункциональных CD8+ Т-клеток и IFN γ + CD8+ Т-клеток дозозависимым образом.

[00479] Костимулирующую активность rab1949-1 при варьирующих дозах дополнительно исследовали с использованием клеток, происходящих из PBMC дополнительных доноров, в анализе стимуляции субоптимальными концентрациями антитела к CD3, описанном выше. Антитело к OX40 rab1949-1 и антитело изотипического контроля IgG₁ исследовали при концентрациях 0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл. Антитело к OX40 rab1949-1 последовательно повышало процентную долю IFN γ + и/или TNF α + Т-клеток в PBMC от нескольких доноров (фигуры 4A-4C).

[00480] Примечательно, что для PBMC от многих доноров процент IFN γ + и/или TNF α + Т-клеток, индуцированных антителом OX40 rab1949-1, представлял собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антител в широком диапазоне исследуемых концентраций антител (фигуры 3D-3F и 4A-4C).

[00481] Для дополнительного исследования агонистической активности антитела к OX40 rab1949 измеряли количество секретируемых цитокинов. PBMC человека, выделенные в градиенте плотности Ficoll из лейкоцитарной пленки здоровых доноров (Research Blood Components, LLC), хранили в жидком азоте и размораживали в день эксперимента. Клетки ресуспендировали в среде для культивирования клеток (RPMI + 10% FBS + 20 ЕД./мл IL-2) и добавляли в 96-луночные планшеты для культивирования, которые содержали связанное на планшете антитело к CD3 при различных субоптимальных концентрациях совместно с 5 мкг/мл антитела к OX40 rab1949 или антитела изотипического контроля IgG₁. Образцы инкубировали при 37°C и 5% CO₂ и супернатант клеточных культур собирали через каждые 4 дня (SB#1A) или 3 дня (SB#1B, SB#2 и GS). Образцы исследовали с использованием набора V-PLEX Proinflammatory Panel1 (для человека) (Meso Scale Discovery) на наличие продукции IL-2, TNF α , IL-10, IL-4 и IL-13 в соответствии с инструкциями производителя.

[00482] Как показано на фигуре 5A, антитело к OX40 rab1949 костимулировало

продукцию цитокинов PBMC человека от двух различных доноров: донора SB и донора GS. Продукцию цитокинов PBMC от донора SB исследовали в двух отдельных экспериментах: Для SB#1A и SB#1B показаны результаты первого эксперимента, где цитокины измеряли через 4 дня и через 3 дня после стимуляции соответственно; и для SB#2 показаны результаты второго эксперимента, где цитокины измеряли через 3 дня после стимуляции.

[00483] Затем секрецию цитокинов, индуцированную rab1949-1 с титрованием дозы, исследовали с использованием клеток, происходящих из PBMC от донора GS, в анализе стимуляции субоптимальными концентрациями антитела к CD3, аналогичном описанному выше. Вкратце, PBMC инкубировали со связанным на планшете антителом к CD3 (0,8 мкг/мл) и связанным на планшете rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ (0, 0,3, 1, 3, 6, 12, 25, или 50 мкг/мл) в течение 4 дней при 37°C и 5% CO₂. После активации супернатант клеточных культур собирали для выявления цитокинов с помощью набора Human TH1/TH2 10-Plex tissue culture kit (Meso Scale Discovery).

[00484] Как показано на фигурах 5B-5D, антитело к OX40 rab1949-1 стимулировало продукцию TNF α , IL-10 и IL-13 дозозависимым образом.

[00485] Костимулирующую активность rab1949-1 в индукции секреции цитокинов дополнительно подтверждали с использованием клеток, происходящих из PBMC дополнительных доноров. Вкратце, PBMC инкубировали со связанным на планшете антителом к CD3 (0,8 мкг/мл) и связанным на планшете rab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ (0, 0,7, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25, или 50 мкг/мл) в течение 4 дней при 37°C и 5% CO₂. После активации количество цитокинов, секретированных в супернатант, измеряли с помощью набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[00486] Для всех исследуемых доноров rab1949-1 дозозависимым образом повышало секрецию GM-CSF (фигуры 6A-6C), IL-2 (фигуры 7A-7C) и TNF β (фигуры 8A-8C).

[00487] Для PBMC от многих доноров секреция цитокинов (GM-CSF, IL-2, TNF α , TNF β , IL-10 и IL-13), индуцированных антителом OX40 rab1949-1, представляла собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антител в широком диапазоне исследуемых концентраций антитела (фигуры 5B-5D, 6A-6C, 7A-7C и 8A-8C).

6.2.3 Влияние антитела к OX40 в анализе с совместным культивированием эффекторных Т-клеток: регуляторных Т-клеток

[00488] Затем антитело к OX40 rab1949-1 исследовали на предмет его активности в анализе с совместным культивированием эффекторных Т-клеток (Teff): регуляторных Т-клеток (Treg). Вкратце, PBMC человека, выделенные в градиенте плотности Ficoll из лейкоцитарной пленки здоровых доноров (Research Blood Components, LLC), хранили в

жидком азоте и размораживали в день эксперимента. Регуляторные Т-клетки и эффекторные Т-клетки выделяли с помощью разделения с использованием магнитных гранул (набор для выделения CD4⁺CD25⁺CD127^{dim/-}-регулярных Т-клеток II и набор для выделения общих Т-клеток соответственно, Miltenyi Biotec). Затем регуляторные Т-клетки активировали в течение 2 дней путем инкубирования с гранулами с антителами к CD3/антителами к CD28/антителами к CD2 (Miltenyi Biotec) в соотношении 1:2 (Т-клетка:гранула) в среде для культивирования клеток (RPMI + 10% FBS). После активации регуляторные Т-клетки и эффекторные Т-клетки добавляли в 96-луночные планшеты для культивирования в соотношении 1:3 (Treg:Teff) в присутствии гранул с антителами к CD3/антителами к CD28/антителами к CD2, растворимыми или перекрестносшитыми (с использованием антитела к Fc F(ab')₂, Jackson ImmunoResearch) pab1949-1 или изотипического контроля IgG₁ (10 мкг/мл). Образцы инкубировали в течение 4 дней при 37°C и 5% CO₂. После активации супернатант собирали и IL-10 или IL-2 измеряли с использованием AlphaLISA® (Perkin Elmer).

[00489] В этом *in vitro* анализе с совместным культивированием Teff:Treg антитело к OX40 pab1949-1 ослабляло подавление популяций клеток Teff клетками Treg, что подтверждалось усиленной продукцией IL-2 (фигура 9А) и ослабленной продукцией IL-10 (фигура 9В) из pab1949-1-обработанных клеток по сравнению с обработанными изотипом клетками.

6.2.4 Влияние антител к OX40 на PBMC человека при стимуляции стафилококковым энтеротоксином А (SEA)

[00490] Функциональную активность антител к OX40 pab1949 и pab1949-1 на первичные PBMC человека дополнительно определяли после стимуляции стафилококковым энтеротоксином А (SEA). Замороженные PBMC (10⁵ клеток/лунка) в RPMI1640, дополненной пенициллином, стрептомицином и 10% FBS (Hyclone), добавляли в 96-луночные планшеты с поверхностью NUNCLON дельта (NUNC™). Клетки культивировали в отсутствие или в присутствии фиксированной концентрации (10 мкг/мл на фигурах 10А и 10В) или варьирующих концентраций (20, 4, 0,8, 0,16, 0,032, 0,0064 и 0,00128 мкг/мл на фигурах 10С и 10D; 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0,016 и 0,0032 мкг/мл на фигуре 10Е) антитела к OX40 или изотипического контроля и 100 нг/мл SEA (Toxin Technologies) в течение 5 дней при 37°C, 5% CO₂ и влажности 97%. Очищенный супернатант собирали и хранили при -80°C до проведения анализа. Титры цитокинов для IL-2 и IL-10 получали с помощью электрохемилюминесценции (Meso Scale Discovery).

[00491] Антитело к OX40 pab1949 характеризовалось агонистической активностью в этом анализе с использованием первичных PBMC человека, индуцируя продукцию IL-2

(фигура 10А) и подавляя продукцию IL-10 (фигура 10В). Усиление продукции IL-2 rab1949 при концентрации 10 мкг/мл было выше по сравнению с наблюдаемой в случае эталонных антител к OX40 rab1784 и rab2045 (фигура 10А). На фигурах 10С, 10D и 10Е представлены кривые доза-ответ из трех независимых экспериментов, показывающие кратность изменения продукции IL-2 после костимуляции различными концентрациями rab1949, rab1949-1 или эталонных антител rab1784 и rab2045. Антитела rab1949 и rab1949-1 характеризовались отличающейся взаимосвязью доза-ответ, относительно эталонных антител, и были способны индуцировать продукцию IL-2 на высоких уровнях при фармакологически приемлемых концентрациях антител. Продукция IL-2, индуцированная rab1949 или rab1949-1, представляла собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антитела в широком диапазоне концентраций антител (например, от 0,032 до 20 мкг/мл, как показано на фигурах 10С и 10D, или от 0,0032 до 50 мкг/мл, как показано на фигуре 10Е).

[00492] Затем функциональную активность антитела IgG₁ rab1949-1 и антитела IgG₂ rab2193-1 сравнивали в анализе с использованием первичных PBMC человека, описанном выше. Вкратце, замороженные PBMC человека (Research Blood Components) высевали в концентрации 10⁵ клеток/луночка в среду RPMI1640, дополненную Normocin™ (Invivogen, #ant-nr) и 10% термоинактивированной FBS (Gibco, Invitrogen Corporation), в 96-луночные планшеты с поверхностью NUNCLON дельта. Клетки инкубировали с возрастающими концентрациями (50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0,016 и 0,0032 мкг/мл) rab1949-1, rab2193-1, антитела изотипического контроля IgG₁ или антитела изотипического контроля IgG₂ и 100 нг/мл суперантигена SEA (Toxin Technologies) в течение 5 дней при 37°C, 5% CO₂ и 97% влажности. Очищенный супернатант собирали и хранили при -80°C до проведения анализа. Концентрации IL-2 измеряли с помощью ELISA.

[00493] Как показано на фигуре 10F, IgG₁-антитело rab1949-1 и IgG₂-антитело rab2193-1 индуцировали продукцию IL-2 PBMC человека. Аналогично rab1949-1, rab2193-1 также характеризовалось взаимосвязью доза-ответ, при которой продукция IL-2 представляла собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антител.

[00494] Кроме того, роль взаимодействия с FcγR в отношении функциональной активности антитела к OX40 rab1949-1 исследовали путем сравнения IgG₁-антитела rab1949-1 с агликозилированным вариантом rab1949-1-N297A. rab1949-1-N297A имеет переменную область тяжелой цепи и последовательности легкой цепи, общие с rab1949-1, однако содержит замену N297A в константной области тяжелой цепи, пронумерованной согласно системе нумерации EU.

[00495] PBMC человека, выделенные в градиенте плотности Ficoll из лейкоцитарной

пленки здоровых доноров (Research Blood Components, LLC), хранили в жидком азоте и размораживали в день эксперимента. Клетки ресуспендировали в среде для культивирования клеток (RPMI + 10% термоинактивированная FBS) и инкубировали с 100 нг/мл SEA (Toxin Technologies) и rab1949-1, rab1949-1-N297A с титрованием дозы или антителом изотипического контроля IgG₁ (0-50 мкг/мл) в течение 5 дней при 37°C и 5% CO₂. Супернатант собирали и затем исследовали на наличие IL-2 с применением AlphaLISA® (Perkin Elmer).

[00496] Как показано на фигуре 10G, как rab1949-1, так и rab1949-1-N297A индуцировали продукцию IL-2 дозозависимым образом клетками PBMC человека при стимуляции SEA. Наличие ключевого гликозилирования в одном N-связанном сайте гликозилирования по аспарагину в положении 297 (N297) утрачивается в случае вариантного антитела rab1949-1-N297A, приводя к потере связывания его Fc-фрагмента с FcγR. Это вариантное антитело характеризовалось сниженной агонистической активностью по сравнению с аналогом дикого типа.

6.2.5 Влияние агонистического антитела к OX40 на клеточную линию с репортерной системой NF-κB-люцифераза, экспрессирующую OX40

[00497] Способность антитела к OX40 rab1949-1 опосредовать передачу сигнала в T-клетках измеряли с использованием клеточной линии с репортерной системой NF-κB-люцифераза, экспрессирующей OX40. Клетки с репортерной системой, полученные с использованием клеточной линии Jurkat, ресуспендировали в среде для анализа (RPMI + 10% FBS + пенициллин/стрептомицин/глутамин + 1 мкг/мл пурамицина) и инкубировали с различными концентрациями растворимого rab1949-1 (0-6 мкг/мл) или антитела изотипического контроля IgG₁ в присутствии реагента антитела к Fc (в связанном в комплекс состоянии) или без него (в растворимом состоянии). Планшеты инкубировали в течение 2 часов при 37°C и 5% CO₂. После инкубации планшеты уравнивали при комнатной температуре и затем добавляли равный объем реагента Nano-Glo (Promega). Люминесценцию считывали с помощью многоканального ридера EnVision 2100.

[00498] Только перекрестносшитое rab1949-1 индуцировало значимую активацию клеточной линии с репортерной системой NF-κB-люцифераза, экспрессирующей OX40 (фигура 11B). Растворимое rab1949-1 индуцировало минимальную активацию клеточной линии с репортерной системой, и антитело изотипического контроля IgG₁ не индуцировало экспрессии люциферазы на выявляемых уровнях (фигуры 11A и 11B).

6.2.6 Влияние агонистического антитела к OX40 на репортерную клеточную линию,

экспрессирующую Fc-гамма рецептор 3A

[00499] В этом примере способность антитела IgG₁ rab1949-1 и антитела IgG₄ rab2044-1 совместно связывать OX40, и сигнал посредством активации Fc-гамма рецепторов оценивали с помощью репортерной клеточной линии, экспрессирующей Fc-гамма рецептор 3A совместно с целевыми клетками, экспрессирующими OX40 человека. Клетки Jurkat с репортерной системой NFAT-люцифераза, сверхэкспрессирующие FcγR3A (полиморфизм 158 V/V) (Promega) использовали в качестве эффекторных клеток. Связывание комплекса антитело/антиген в случае, если антиген расположен на поверхности клеток-мишеней, с FcγR3A на эффекторных клетках способствует передаче сигнала к конструкции промотор/репортер и приводит к экспрессии гена люциферазы.

[00500] OX40-сверхэкспрессирующие клетки (РНА-активированные клетки Hut102) совместно культивировали с репортерными клетками, экспрессирующими FcγR3A в присутствии растворимого rab1949-1, rab2044-1, изотипического контроля IgG₁ или изотипического контроля IgG₂ с титрованием дозы (0-10 мкг/мл). Активацию репортерных клеток определяли в соответствии с инструкциями производителями и фиксировали относительные световые единицы (RLU). Δ RLU рассчитывали как разницу RLU антитела к OX40 и RLU изотипического контроля. Как показано на фигуре 12A, при связывании с OX40-сверхэкспрессирующими клетками только IgG₁-антитело rab1949-1 активировало репортерные клетки, экспрессирующие FcγR3A.

6.2.7 Влияние агонистического антитела к OX40 на репортерную клеточную линию, экспрессирующую Fc-гамма рецептор 3A

[00501] Затем способность антител IgG₁ rab1949-1 и rab1949-1-S267E/L328F, а также антитела IgG₂ rab2193-1 совместно связывать OX40 и сигнал посредством FcγR3A оценивали с использованием репортерной клеточной линии, экспрессирующей FcγR3A (Promega), совместно с целевыми клетками (клетками Jurkat, экспрессирующими OX40 человека). rab1949-1-S267E/L328F имеет последовательности тяжелой цепи и легкой цепи, общие с rab1949-1, однако содержит замены S267E и L328F в константной области тяжелой цепи, пронумерованной согласно системе нумерации EU.

[00502] Клетки Jurkat, экспрессирующие FcγR3A с полиморфизмом высокой аффинности 131 Н/Н и NFAT-отвечающим элементом, управляющим экспрессией люциферазы светлячка, использовали в качестве эффекторных клеток. Вкратце, 25 мкл целевых клеток (6×10^6 клеток/мл) смешивали с 25 мкл серийно разведенных антител в лунках с двумя повторами 96-луночных планшетов для анализа. Исследуемыми антителами были rab1949-1, rab1949-1-S267E/L328F, rab2193-1, антитело изотипического контроля IgG₁ и антитело изотипического контроля IgG₂. Затем 25 мкл эффекторных клеток (6×10^6

клеток/мл) добавляли в каждую лунку, с получением соотношения эффектора и мишени 1:1. Планшеты инкубировали в течение 20 часов при 37°C и 5% CO₂. После этой инкубации реагент для анализа экспрессии люциферазы Bio-Glo (Promega) размораживали при комнатной температуре и 75 мкл добавляли в каждую лунку. Через 5-10 минут измеряли люминесценцию с помощью многоканального планшетного ридера EnVision (PerkinElmer). Фоновую люминесценцию вычитали из показателей для каждого образца и фиксировали откорректированные относительные световые единицы (RLU).

[00503] Как показано на фигуре 12В в случае связывания с клетками, экспрессирующими OX40, IgG₂-антитело rab2193-1 характеризовалось наиболее сильной активацией FcγRIIA^{H131}, за которой следовали rab1949-1-S267E/L328F и rab1949-1.

6.2.8 Взаимодействие антитела к OX40 с регуляторными Т-клетками или эффекторными Т-клетками

[00504] В этом примере исследовали экспрессию OX40 человека активированными естественными регуляторными Т-клетками (nTreg) и эффекторными Т-клетками (Teff). РВМС, выделенные от здоровых доноров, обогащали необработанными CD3⁺ Т-клетками (Teff) или CD4⁺ CD25⁺ CD45RA⁺ Т-клетками (nTreg) с помощью магнитного разделения. Т-лимфоциты активировали гранулами, связанными с антителом к CD3/антителом к CD28, с использованием 500 ЕД rIL-2 в течение 4 дней и 50 ЕД rIL-2 еще в течение 4 дней. Через 8 дней после активации Т-клетки собирали и окрашивали красителем для мертвых клеток для оценки живых/мертвых клеток, фиксированных в диапазоне ближней ИК-области в PBS в течение 20 минут при 4°C. Смесь поверхностных антител, содержащую конъюгированные антитела к CD4 (BV605, OKT4), CD8a (BV650, RPA-T8), CD127 (BV421, AO1905), CD25 (APC, M-A251) и OX-40 (PE, ACT35), разведенные в буфере (PBS с 2% FBS), добавляли к каждому образцу и инкубировали в течение 30 минут при 4°C. Затем клетки промывали буфером, фиксировали и окрашивали смесью внутриклеточных антител, содержащей конъюгированные антитела к CD3 (BV711, OKT3) и Foxp3 (AF488, PCH101), разведенные в буфере. Один образец из каждой популяции Т-клеток также окрашивали флуоресцентным контролем флуоресценции с комбинацией выявляемых меток без одной (FMO) на наличие OX40 с использованием PE-конъюгированного изотипического контроля мышиного антитела к IgG1 человека. Образцы анализировали с помощью проточной цитометрии. PE-конъюгированные гранулы Quantibrite пропускали одновременно и использовали для количественного анализа плотности рецепторов OX40, согласно инструкциям производителя.

[00505] Как показано на фигуре 13А, поверхностная экспрессия OX40 человека на активированных nTreg клетках была выше, чем на активированных CD4⁺ или CD8⁺ Т-

эффекторных клетках.

[00506] В аналогичном исследовании активированные nTreg и Teff от двух доноров окрашивали коммерческим антителом к OX40 (клон BER-ACT35) или антителом изотипического контроля и анализировали с помощью проточной цитометрии. Дельта средней интенсивности флуоресценции (Δ MFI) представляет собой разницу MFI антитела к OX40 и MFI изотипического контроля. Результаты показаны на фигуре 13B.

[00507] Затем способность антитела к OX40 pab1949 совместно связывать OX40 и сигнал посредством активации Fc-гамма рецепторов оценивали с использованием репортерной линии клеток, экспрессирующей Fc-гамма рецептор IIIA (Fc γ RIIIA), описанный выше, совместно с активированными эффекторными Т-клетками (Teff) или nTreg клетками, полученными, как описано выше. Антитело к OX40 pab1949 или изотипический контроль IgG₁ серийно разводили с 3-кратными разведениями, начиная с конечной концентрации 10 мкг/мл. В лунки с двумя повторами 25 мкл разведения каждого антитела добавляли к Teff клеткам или nTreg клеткам. Клетки Jurkat с репортерной системой NFAT-люцифераза, сверхэкспрессирующие Fc γ RIIIA (полиморфизм 158 V/V) добавляли в соотношении эффектора и мишени 1:1. Планшеты инкубировали в течение 20 часов и затем анализировали с использованием реагента для анализа экспрессии люциферазы Bio-Glo (Promega). Фооновую люминесценцию (контрольные наружные лунки) вычитали из показателей каждого образца и фиксировали откорректированные относительные световые единицы (RLU). Δ RLU показаны на фигуре 13C, отображающие разницу RLU антитела к OX40 и RLU изотипического контроля.

[00508] Исследование, показанное на фигуре 13C, повторяли с использованием несколько модифицированного протокола. Вкратце, лейкоцитарную пленку от здорового добровольца (Research Blood Components) использовали для выделения первичных регуляторных Т-клеток и эффекторных Т-клеток. Обе субпопуляции Т-клеток очищали с помощью разделения с использованием магнитных гранул (набор для выделения CD4⁺CD25⁺CD127^{dim/-}регулярных Т-клеток II и набор для выделения общих Т-клеток соответственно, Miltenyi Biotec) и затем активировали в течение 7 дней путем инкубирования клеток с гранулами с антителами к CD3/антителами к CD28/антителами к CD2 (Miltenyi Biotec) в соотношении 1:4 (Т-клетка:гранула) в среде для культивирования клеток (RPMI + 10% FBS). Активированные клетки Treg или клетки Teff совместно культивировали с Fc γ RIIIA-экспрессирующими клетками Jurkat с репортерной системой NFAT-люцифераза (Promega), описанными выше, в присутствии растворимого pab1949-1 или антитела изотипического контроля IgG₁ с титрованием дозы (0-10 мкг/мл). Активацию репортерных клеток определяли в соответствии с инструкциями производителями и Δ RLU

показаны на фигуре 13D.

[00509] В соответствии с дифференциальной экспрессией поверхностного OX40 между активированными nTreg и активированными CD4⁺ или CD8⁺ эффекторными Т-клетками (фигуры 13А и 13В), антитела к OX40 rab1949 (фигура 13С) и rab1949-1 (фигура 13D), предпочтительно меченые, активировали nTreg клетки, индуцируя FcγRIIIА-зависимую передачу сигнала в репортерной линии клеток.

[00510] Для оценки того, являлась ли сверхэкспрессия OX40 характеристикой регуляторных Т-клеток, локализованных в опухолевом микроокружении, экспрессию OX40 сравнивали для Т-клеток, выделенных из крови здоровых доноров-людей (фигура 14А, а-с, n=3) или из опухолевых тканей пациентов с немелкоклеточным раком легких (NSCLC) (фигура 14А, d-f, n=3). Для исключения фонового связывания антител с иммунными популяциями все клетки инкубировали с очищенным антителом к CD16/32 (10 мкг/мл, 20 минут при комнатной температуре) перед добавлением антител к антигенам клеточной поверхности и внутриклеточных антител. После блокирования FcR все образцы инкубировали с APC-конъюгированным антителом к OX40 (клон Ber-ACT35) или изотипическим контролем и смесью линий антител к антигенам клеточной поверхности (CD3-FITC, CD25-PECy7, CD4-BV650 и CD8a-PE) в течение 45 минут на льду (1 мкг/мл каждого), промывали три раза буфером для FACS (PBS, EDTA и 0,5% BSA), за которым следовала фиксация/пермеабиллизация и инкубация с Pacific Blue-конъюгированным FOXP3 (фиксация/пермеабиллизация и инкубация каждого в течение 45 минут на льду, 1 мкг/мл). Затем окрашенные образцы анализировали с помощью проточного цитометра LSRFortessa (BD Biosciences). Популяции клеток на фигуре 14А определяли как: Tconv (CD3⁺, CD4⁺, CD8a⁻, CD25^{low}, FOXP3⁻) или Treg (CD3⁺, CD4⁺, CD8a⁻, CD25^{high}, FOXP3⁺).

[00511] Как показано на фигуре 14А, поверхностная экспрессия OX40 была наибольшей на регуляторных Т-клетках, выделенных из опухолевых тканей пациентов с NSCLC, с незначительным уровнем или невыявляемым уровнем на Treg клетках или обычных Т-клетках от здоровых доноров.

[00512] Аналогичные анализы проводили для всех видов опухолей. Вкратце, замороженные диссоциированные образцы опухоли (Conversant) или PBMC размораживали в смачивающей жидкости AutoMACS (промывочном буфере, Miltenyi Biotec) и блокировали Fc клеток (Trustain FcX, Biolegend) перед окрашиванием клеточной поверхности. Клетки промывали промывочным буфером и окрашивали в течение 45 минут при 4°C антителами-маркерами клеточной линии, которые включали: антитело к CD3 (клон SP34), антитело к CD4 (клон OKT4), антитело к CD8 (клон SK1), антитело к CD25 (клон MA-251) и антитело к OX40 (клон BER-ACT35). Клетки промывали и пермеабилizовали с

помощью набора буферов для окрашивания по транскрипционным факторам forkhead box P3 (FOXP3) (eBioscience) в соответствии с инструкциями производителя. После пермеабелизации клетки окрашивали меченым eFluor450 антителом к FOXP3 (клон PCH101, eBioscience). Окрашенные образцы определяли с помощью проточного цитометра BD Biosciences Fortessa и данные анализировали с помощью программного обеспечения Flojo.

[00513] Образцы из нескольких типов опухолей, в том числе рака яичников, колоректальной карциномы (CRC), карциномы эндометрия, почечно-клеточной карциномы (RCC), немелкоклеточной карциномы (NSCLC) и рака молочной железы, характеризовались более высокой экспрессией OX40 на опухоль-ассоциированных регуляторных Т-клетках по сравнению с опухоль-ассоциированными эффекторными Т-клетками (фигуры 14B, 14C и 14D).

6.2.9 Влияние антител к OX40 на стимулированную антителом к CD3 продукцию цитокинов PBMC макака-крабоеда

[00514] Затем агонистическую активность антитела к OX40 pab1949-1 на PBMC макака-крабоеда исследовали с помощью анализа субоптимальной стимуляции антителом к CD3. Вкратце, замороженные PBMC макака-крабоеда (World Wide Primates) хранили в жидком азоте и размораживали в день эксперимента. Клетки ресуспендировали в среде для культивирования клеток (RPMI + 10% FBS + 20 ЕД./мл IL-2) и инкубировали со связанным на планшете антителом к CD3 (0,8 мкг/мл) и связанным на планшете pab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ (0, 0,8, 1,6, 3,1, 6,3, 12,5, 25, или 50 мкг/мл) в течение 4 дней при 37°C и 5% CO₂. Супернатант клеточных культур собирали и секретируемые цитокины исследовали с помощью набора для анализа приматов помимо человека (NHP) V-Plex (Meso Scale Discovery).

[00515] Антитело к OX40 pab1949-1 дозозависимо усиливало продукцию GM-CSF (фигуры 15A и 15B), IL-17 (фигуры 16A и 16B), TNF β (фигуры 17A и 17B), IL-5 (фигуры 18A и 18B) и IL-10 (фигуры 19A и 19B) в PBMC нескольких макак-крабоедов.

6.2.10 Влияние антител к OX40 на PBMC макака-крабоеда при стимуляции стафилококковым энтеротоксином А (SEA)

[00516] Далее анализировали способность pab1949-1 костимулировать PBMC макака-крабоеда после стимуляции стафилококковым энтеротоксином А (SEA). Замороженные PBMC макака-крабоеда (World Wide Primates) хранили в жидком азоте и размораживали в день эксперимента. Клетки ресуспендировали в среде для культивирования клеток (RPMI + 10% термоинактивированная FBS) и инкубировали с антигеном SEA (100 нг/мл), а также титрованием дозы pab1949-1 или антителом изотипического контроля IgG₁ (0, 0,8, 1,6, 3,1,

6,3, 12,5, 25 или 50 мкг/мл) в течение 5 дней при 37°C и 5% CO₂. После активации супернатант клеточных культур собирали и секретируемые цитокины исследовали с помощью набора Non-human primate (NHP) V-Plex assay kit (Meso Scale Discovery).

[00517] Как показано на фигурах 20А и 20В, антитело к OX40 pab1949-1 повышало продуцирование IL-2 РВМС макака-крабоеда от двух доноров.

6.3 Пример 3. Картирование эпитопов антител к OX40

[00518] В этом примере эпитопы pab1949 и эталонного антитела к OX40 pab1928 анализировали с помощью аланин-сканирования. Антитело pab1928 получали на основе переменных областей антитела Hu106-122, предусмотренного в патентной публикации США 2013/0280275 (включенной в данный документ посредством ссылки). Тяжелая цепь pab1928 содержит аминокислотную последовательность переменной области тяжелой цепи Hu106-122 (SEQ ID NO: 56) и константную область IgG1 человека под SEQ ID NO: 65. Легкая цепь pab1928 содержит аминокислотную последовательность переменной области легкой цепи Hu106-122 (SEQ ID NO: 57) и константную область под SEQ ID NO: 25. Таким образом, тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:72 и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:59.

6.3.1 Картирование эпитопов – аланин-сканирование

[00519] Характеристики связывания pab1949-1 и эталонного антитела pab1928 определяли с помощью аланин-сканирования. Вкратце, систему конструирования белков QuikChange НТ от компании Agilent Technologies (G5901A) использовали для получения мутантов OX40 человека с аланиновыми заменами во внеклеточном домене. Мутантов OX40 человека экспрессировали на поверхности клеток 1624-5 с помощью стандартных методик трансфекции с последующей трансдукцией, как описано выше.

[00520] Клетки, экспрессирующие надлежащие образом уложенные мутанты OX40 человека, о чем свидетельствовало связывание с поликлональным антителом к OX40 при проточной цитометрии, дополнительно отбирали на наличие субпопуляций, которые экспрессировали мутанты OX40 человека, которые не связывались с моноклональным антителом к OX40 pab1949-1 или pab1928. Клетки, которые характеризовались специфичным связыванием с антителом, отделяли от популяции несвязывающихся клеток, с помощью препаративного высокоскоростного FACS (FACSAriaII, BD Biosciences). Популяции клеток, реактивные и нереактивные в отношении антителам, размножали повторно в культуре тканей, и благодаря фенотипу стабильной экспрессии трансдуцированных с помощью ретровирусов клеток, циклы направленных на антитела клеточной сортировки и экспансии культуры тканей повторяли, до момента включительно, когда получали отчетливо выявляемую популяцию клеток, нереактивных в отношении

антителу OX40 (rab1949-1 или rab1928). Такую популяцию клеток, неактивную в отношении OX40, подвергали конечной стадии сортировки отдельных клеток. Через несколько дней после экспансии клеток отдельные отсортированные клетки снова исследовали на предмет связывания с поликлональным антителом к OX40 и несвязывания с моноклональным антителом rab1949-1 или rab1928 с помощью проточной цитометрии. Вкратце, клетки 1624-5, экспрессирующие отдельные мутанты OX40 человека по аланину, инкубировали с моноклональным антителом к OX40 rab1949-1 или rab1928. Для каждого антитела исследовали две концентрации антител (rab1949-1: 2 мкг/мл и 0,5 мкг/мл; rab1928: 1,1 мкг/мл и 0,4 мкг/мл). Поликлональное антитело к OX40 (AF3388, R&D systems), конъюгированное с APC, разводили в соотношении 1:2000. Добавляли Fc-рецепторный блокирующий раствор (1:200; № по каталогу BD 553142) и образцы инкубировали в течение 20 минут при 4°C. После промывания клетки инкубировали с вторичным антителом к IgG при необходимости в выявлении (конъюгированным с PE; № по каталогу BD 109-116-097) в течение 20 минут при 4°C. Затем клетки промывали и определяли с помощью проточной цитометрии (BD Biosciences).

[00521] Для связывания фенотипа (поликлональное антитело к OX40 +, моноклональное антитело к OX40) с генотипом выполняли секвенирование мутантов OX40 человека из отдельных отсортированных клеток. На фигуре 21 представлена таблица, показывающая мутанты OX40 человека по аланину, которые по-прежнему связываются с поликлональным антителом к OX40 человека, но не связываются с моноклональным антителом к OX40 rab1949-1 или rab1928. Все остатки пронумерованы в соответствии со зрелой аминокислотной последовательностью OX40 человека (SEQ ID NO: 55). «+» указывает на связывание и «-» указывает на отсутствие связывания на основе анализа проточной цитометрии.

* * *

[00522] Настоящее изобретение не предполагает ограничения в объеме конкретными вариантами осуществления, описанными в данном документе. Действительно, различные модификации настоящего изобретения, кроме описанных, будут очевидны специалистам в данной области из вышеизложенного описания и сопровождающих фигур. Предполагается, что такие модификации находятся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.

[00523] Все источники литературы (например, публикации, или патенты, или патентные заявки), цитируемые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте и для всех целей в той же степени, как если бы каждый отдельно взятый источник литературы (например, публикация, или патент, или патентная заявка) был специально и отдельно указан для включения посредством ссылки во всей

своей полноте для всех целей.

[00524] Другие варианты осуществления представлены в следующей формуле изобретения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> АГЕНУС ИНК.
ЛЮДВИГ ИНСТИТЮТ ФОР КАНСЕР РЕСЁРЧ ЛТД.; МЕМОРИАЛ СЛОАН-КЕТТЕРИНГ КАНСЕР
СЕНТЕР

<120> АНТИТЕЛА К ОХ40 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

<130> 3617.003PC04/EKS/CLD

<150> 62/323,458

<151> 2016-04-15

<150> 62/262,373

<151> 2015-12-02

<150> 62/161,198

<151> 2015-05-13

<150> 62/158,515

<151> 2015-05-07

<160> 72

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 16

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 1

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 2

<211> 7

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 2

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 3

<211> 9

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 3

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 4
<211> 5
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 4

Gly Ser Ala Met His
1 5

<210> 5
<211> 19
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 5

Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 6
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 6

Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 7
<211> 23
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 7

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys

<210> 8
 <211> 15
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 8

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 32
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 9

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 10
 <211> 10
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 10

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 11
 <211> 30
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20

25

30

<210> 12
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 12

Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly
1 5 10

<210> 13
<211> 32
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 13

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ser
20 25 30

<210> 14
<211> 11
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 14

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 15
<211> 112
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 15

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20

25

30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 16

<211> 121

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 17
<211> 277
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val
20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro
35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys
50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro
65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys
85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly
100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys
115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp
130 135 140

Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn
145 150 155 160

Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro
165 170 175

Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr
180 185 190

Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu
195 200 205

Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val
210 215 220

Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu
225 230 235 240

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
260 265 270

Thr Leu Ala Lys Ile
275

<210> 18

<211> 100

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 18

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro
100

<210> 19

<211> 100

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 19

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg
100

<210> 20

<211> 219

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 20

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 21

<211> 451

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys
 450

<210> 22

<400> 22
 000

<210> 23
 <211> 448
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 23

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85

90

95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340

345

350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 24

<211> 107

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 24

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 25
<211> 107
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 25

Arg Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 26
<211> 118
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Ser Gly Trp Tyr Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 27

<400> 27
000

<210> 28

<211> 107

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 29

<400> 29
000

<210> 30
<211> 119
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 30

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Leu Ser Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 31

<400> 31
000

<210> 32
<211> 330
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
<222> (97)..(97)
<223> Может представлять собой лизин или аргинин

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК

<222> (239)..(239)
 <223> Может представлять собой аспарагиновую кислоту или глутаминовую кислоту

 <220>
 <221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
 <222> (241)..(241)
 <223> Может представлять собой лейцин или метионин

 <220>
 <221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
 <222> (314)..(314)
 <223> Может представлять собой глицин или аланин

 <400> 32

 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

 Xaa Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195

200

205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Xaa Glu
 225 230 235 240

Xaa Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Xaa Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 33

<211> 330

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 33

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 34
<211> 330
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 34

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210

215

220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 35

<211> 330

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 35

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 36
<211> 327
<212> БЕЖОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 36

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Ser Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 38
<211> 107
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
<222> (46)..(46)
<223> Может представлять собой валин или аланин

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
<222> (84)..(84)
<223> Может представлять собой лейцин или валин

<400> 38

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Xaa Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Xaa Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 39
<211> 107
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 39

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Val Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 40

<211> 107

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 40

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 41

<211> 107

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 41

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 42
<211> 183
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 42

Met Glu Arg Val Gln Pro Leu Glu Glu Asn Val Gly Asn Ala Ala Arg
1 5 10 15

Pro Arg Phe Glu Arg Asn Lys Leu Leu Leu Val Ala Ser Val Ile Gln
20 25 30

Gly Leu Gly Leu Leu Leu Cys Phe Thr Tyr Ile Cys Leu His Phe Ser
35 40 45

Ala Leu Gln Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val
50 55 60

Gln Phe Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln
65 70 75 80

Lys Glu Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn
85 90 95

Cys Asp Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu
100 105 110

Val Asn Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln

115

120

125

Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr
130 135 140

Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu
145 150 155 160

Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn
165 170 175

Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu
180

<210> 43
<211> 133
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<400> 43

Met Val Ser His Arg Tyr Pro Arg Ile Gln Ser Ile Lys Val Gln Phe
1 5 10 15

Thr Glu Tyr Lys Lys Glu Lys Gly Phe Ile Leu Thr Ser Gln Lys Glu
20 25 30

Asp Glu Ile Met Lys Val Gln Asn Asn Ser Val Ile Ile Asn Cys Asp
35 40 45

Gly Phe Tyr Leu Ile Ser Leu Lys Gly Tyr Phe Ser Gln Glu Val Asn
50 55 60

Ile Ser Leu His Tyr Gln Lys Asp Glu Glu Pro Leu Phe Gln Leu Lys
65 70 75 80

Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr Tyr Lys
85 90 95

Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu Asp Asp
100 105 110

Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn Pro Gly
115 120 125

Glu Phe Cys Val Leu
130

<210> 44
<211> 11

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 44

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 45
<211> 3
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 45

Leu Gly Ser
1

<210> 46
<211> 9
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 46

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 47
<211> 8
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 47

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser Ala
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 48

Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr
1 5 10

<210> 49
<211> 12
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 49

Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 50
<211> 219
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 50

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 51
 <211> 447
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 51

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 52

<211> 447

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 53

<211> 326

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 53

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 54
<211> 326
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 54

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 55

<211> 249

<212> BEJOK

<213> Homo sapiens

<400> 55

Leu His Cys Val Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His
1 5 10 15

Glu Cys Arg Pro Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln
20 25 30

Asn Thr Val Cys Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val
35 40 45

Ser Ser Lys Pro Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly
50 55 60

Ser Glu Arg Lys Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg
65 70 75 80

Cys Arg Ala Gly Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp
85 90 95

Cys Ala Pro Cys Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala
100 105 110

Cys Lys Pro Trp Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln
115 120 125

Pro Ala Ser Asn Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro
130 135 140

Ala Thr Gln Pro Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr
145 150 155 160

Val Gln Pro Thr Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr
165 170 175

Arg Pro Val Glu Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly
180 185 190

Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala
195 200 205

Leu Tyr Leu Leu Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys

210

215

220

Pro Pro Gly Gly Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala
225 230 235 240

Asp Ala His Ser Thr Leu Ala Lys Ile
245

<210> 56

<211> 122

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 56

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Asn Pro Tyr Tyr Asp Tyr Val Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 57

<211> 107

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 57

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 59

<211> 214

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Leu Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ser Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115

120

125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 60

<211> 450

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 60

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly
450

<210> 61
<211> 447
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 61

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115

120

125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370

375

380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

<210> 62

<211> 446

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 62

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 63

<211> 446

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 63

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Ala Asn Ser Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Ser Gly Ile Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165

170

175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
 210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 64
<211> 329
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
<222> (97)..(97)
<223> X представляет собой K или R

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
<222> (239)..(239)
<223> X представляет собой D или E

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
<222> (241)..(241)
<223> X представляет собой L или M

<220>
<221> ДРУГОЙ_ПРИЗНАК
<222> (314)..(314)
<223> X представляет собой G или A

<400> 64

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Xaa Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Xaa Glu
225 230 235 240

Xaa Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Xaa Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 65

<211> 329

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 65

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 66

<211> 329

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 66

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 67
<211> 329
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический пептид

<400> 67

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 325

<210> 68
 <211> 326
 <212> БЕЛОК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический пептид

<400> 68

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Ser Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 69

<211> 326

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 69

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 70

<211> 325

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 70

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 71

<211> 325

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 71

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
 165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 72

<211> 451

<212> БЕЛОК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический пептид

<400> 72

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Val Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Asn Pro Tyr Tyr Asp Tyr Val Ser Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly
450

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, содержащее
 - (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющую комплементарность область 1 (CDR1) тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO: 4), CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO: 5), и CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO: 6); и
 - (b) переменную область легкой цепи, содержащую CDR1 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO: 1), CDR2 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO: 2), и CDR3 легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO: 3).
2. Антитело по п. 1, где переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.
3. Антитело по п. 1 или п. 2, где антитело содержит последовательность тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 60-63.
4. Антитело по любому из пп. 1-3, где переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15.
5. Антитело по любому из пп. 1-4, где антитело содержит последовательность легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.
6. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную

последовательность под SEQ ID NO: 16.

7. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15.
8. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, содержащее
 - (a) переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16; и
 - (b) переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15.
9. Антитело по п. 8, где антитело содержит
 - (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60; и
 - (b) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.
10. Антитело по п. 8, где антитело содержит
 - (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 61; и
 - (b) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.
11. Антитело по п. 8, где антитело содержит
 - (a) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62 или 63; и
 - (b) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.
12. Антитело по любому из пп. 1-2, п. 4 или пп. 6-8, дополнительно содержащее константные области тяжелой и/или легкой цепей.
13. Антитело по п. 12, где константная область тяжелой цепи выбрана из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂ человека.

14. Антитело по п. 13, где IgG₁ представляет собой нефукозилированный IgG₁.
15. Антитело по п. 13, где аминокислотная последовательность IgG₁ содержит мутацию N297A или мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.
16. Антитело по п. 13, где аминокислотная последовательность IgG₁ содержит мутацию N297Q.
17. Антитело по п. 13, где аминокислотная последовательность IgG₄ содержит мутацию S228P.
18. Антитело по п. 13, где аминокислотная последовательность IgG₂ содержит мутацию C127S.
19. Антитело по п. 13, где константная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 64-71.
20. Антитело по любому из пп. 12-19, где константная область легкой цепи выбрана из группы, состоящей из иммуноглобулинов IgG_κ и IgG_λ человека.
21. Антитело по любому из пп. 1-20, где антитело представляет собой антитело человека.
22. Выделенное антитело, которое связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело по любому из пп. 1-21.
23. Антитело по любому из пп. 1-22, где антитело является агонистическим.
24. Антитело по любому из пп. 1-23, где антитело запускает, усиливает или индуцирует активность OX40 человека.
25. Антитело по любому из пп. 1-24, где антитело индуцирует пролиферацию CD4⁺ Т-клеток.
26. Антитело по п. 25, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток представляет собой возрастающую

в значительной степени функцию от концентрации антитела.

27. Антитело по п. 25, где пролиферация CD4⁺ Т-клеток характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ.
28. Антитело по любому из пп. 1-27, где антитело индуцирует продуцирование TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-4, IL-10, IL-13 или их комбинации стимулированными антителом к CD3 мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC).
29. Антитело по любому из пп. 1-28, где антитело индуцирует продуцирование TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 стимулированными антителом к CD3 PBMC, где продуцирование TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антитела.
30. Антитело по любому из пп. 1-28, где антитело индуцирует продуцирование TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 стимулированными антителом к CD3 PBMC, где продуцирование TNF α , TNF β , IFN γ , GM-CSF, IL-2, IL-10 или IL-13 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ.
31. Антитело по любому из пп. 1-30, где антитело индуцирует продуцирование IL-2 стимулированными SEA мононуклеарными клетками периферической крови (PBMC) и подавляет продуцирование IL-10 стимулированными SEA PBMC.
32. Антитело по любому из пп. 1-31, где антитело индуцирует продуцирование IL-2 стимулированными SEA PBMC, где продуцирование IL-2 представляет собой возрастающую в значительной степени функцию от концентрации антитела.
33. Антитело по любому из пп. 1-31, где антитело индуцирует продуцирование IL-2 стимулированными SEA PBMC, где продуцирование IL-2 характеризуется сигмоидальной кривой доза-ответ.
34. Антитело по любому из пп. 1-33, где антитело ослабляет подавление эффекторных Т-клеток, обусловленное регуляторными Т-клетками.
35. Антитело по любому из пп. 1-34, где антитело индуцирует продуцирование IL-2 при

совместном культивировании эффекторных Т-клеток и регуляторных Т-клеток и подавляет продуцирование IL-10 при совместном культивировании эффекторных Т-клеток и регуляторных Т-клеток.

36. Антитело по любому из пп. 1-35, дополнительно содержащее выявляемую метку.
37. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи или тяжелую цепь антитела по любому из пп. 1-36.
38. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область легкой цепи или легкую цепь антитела по любому из пп. 1-36.
39. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи или тяжелую цепь антитела по любому из пп. 1-36 и вариабельную область легкой цепи или легкую цепь антитела по любому из пп. 1-36.
40. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 37 или п. 39, где молекула нуклеиновой кислоты кодирует вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 16.
41. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 38 или п. 39, где молекула нуклеиновой кислоты кодирует вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 15.
42. Выделенный вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41.
43. Клетка-хозяин, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41, вектор по п. 42 или первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 37 или п. 40, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 38 или п. 41.
44. Клетка-хозяин по п. 43, которая выбрана из группы, состоящей из клетки *E. coli*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, дрожжевой клетки, CHO, YB/20, NS0, PER-C6, HEK-293T, NIH-3T3, HeLa, BHK, Hep G2, SP2/0, R1.1, B-W, L-M, COS 1, COS 7, BSC1, BSC40, BMT10, клетки растения, клетки насекомого и клетки человека в культуре

тканей.

45. Способ получения антитела, которое связывается с ОХ40 человека, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 43 или п. 44 таким образом, что обеспечивается экспрессия молекулы нуклеиновой кислоты и выработка антитела.
46. Выделенное антитело, которое специфически связывается с ОХ40 человека и кодируется выделенной молекулой нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41.
47. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
48. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46, молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41, вектор по п. 42 или клетку-хозяина по п. 43 или п. 44 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
49. Способ модулирования иммунного ответа у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества антитела по любому из пп. 1-36 или п. 46, молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41, вектора по п. 42, клетки-хозяина по п. 43 или п. 44 или фармацевтической композиции по п. 47 или п. 48.
50. Способ по п. 49, где модулирование иммунного ответа включает усиление или индукцию иммунного ответа субъекта.
51. Способ усиления размножения Т-клеток и эффекторной функции Т-клеток у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества антитела по любому из пп. 1-36 или п. 46, молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41, вектора по п. 42, клетки-хозяина по п. 43 или п. 44 или фармацевтической композиции по п. 47 или п. 48.
52. Способ лечения рака у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества антитела по любому из пп. 1-36 или п. 46, молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41, вектора по п. 42, клетки-хозяина по п. 43 или п. 44 или фармацевтической композиции по п. 47 или п. 48.
53. Способ по п. 52, где рак выбран из группы, состоящей из меланомы, рака почки, рака

предстательной железы, рака толстой кишки и рака легкого.

54. Способ по п. 52 или п. 53, дополнительно включающий введение субъекту ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO).
55. Способ по п. 54, где ингибитор выбран из группы, состоящей из эпакадостата, F001287, индоксимода и NLG919.
56. Способ по п. 55, где ингибитором является эпакадостат.
57. Способ по п. 55, где ингибитором является F001287.
58. Способ по п. 55, где ингибитором является индоксимод.
59. Способ по п. 55, где ингибитором является NLG919.
60. Способ по п. 52 или п. 53, дополнительно включающий введение субъекту вакцины.
61. Способ по п. 60, где вакцина содержит комплекс белка теплового шока с пептидами (HSPPC), содержащий белок теплового шока, образующий комплекс с антигенным пептидом.
62. Способ по п. 61, где белок теплового шока представляет собой белок gp96 и он образует комплекс с опухоль-ассоциированным антигенным пептидом, где HSPPC происходит из опухоли, полученной от субъекта.
63. Способ по п. 61, где белок теплового шока представляет собой белок hsp70 или hsc70 и он образует комплекс с опухоль-ассоциированным антигенным пептидом.
64. Способ по любому из пп. 49-63, где субъектом является человек.
65. Способ выявления OX40 в образце, включающий приведение указанного образца в контакт с антителом по любому из пп. 1-36 или п. 46.
66. Набор, содержащий антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46, молекулу нуклеиновой

кислоты по любому из пп. 37-41, вектор по п. 42, клетку-хозяина по п. 43 или п. 44 или фармацевтическую композицию по п. 47 или п. 48 и а) реагент для выявления, б) антиген OX40, с) уведомление, в котором отражено разрешение на применение или продажу для введения человеку, или d) их комбинацию.

67. Антитело по любому из пп. 12-13, пп. 20-22, п. 36 или п. 46, где антитело содержит константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₁ человека, и где аминокислотная последовательность константой области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации, или мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.
68. Антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46, где связывание между антителом и вариантным OX40 значительно ослаблено по сравнению со связыванием между антителом и последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, и где вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации.
69. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где связывание между антителом и вариантным OX40 значительно ослаблено по сравнению со связыванием между антителом и последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, и где вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации.
70. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где связывание между антителом и вариантным OX40 значительно ослаблено по сравнению со связыванием между антителом и последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, и где вариантный OX40 содержит последовательность под SEQ ID NO: 55, за исключением аминокислотной мутации W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A.
71. Антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46, где антитело характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO: 55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID

- NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним.
72. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO: 55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним.
73. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO: 55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO: 55, за исключением наличия аминокислотной мутации W58A, N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A и P115A, или не связывается с ним.
74. Антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46, где антитело специфически связывается с эпитопом последовательности OX40 человека, содержащей остаток SEQ ID NO: 55, выбранный из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации.
75. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело специфически связывается с эпитопом последовательности OX40 человека, содержащей остаток SEQ ID NO: 55, выбранный из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации.
76. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело специфически связывается с эпитопом последовательности OX40 человека, содержащей остатки 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO 55.
77. Антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46, где антитело специфически связывается по меньшей мере с одним остатком SEQ ID NO: 55, выбранным из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации.

78. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело специфически связывается по меньшей мере с одним остатком SEQ ID NO: 55, выбранным из группы, состоящей из 60, 62, 80, 88, 93, 99, 115 и их комбинации.
79. Антитело по любому из пп. 1-36 или п. 46, где антитело специфически связывается с остатками 58, 60, 62, 80, 88, 93, 99 и 115 SEQ ID NO: 55.
80. Антитело по любому из пп. 68-79, где антитело содержит константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₁ человека, и где аминокислотная последовательность константой области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации, или мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.
81. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи и последовательность вариабельной области легкой цепи по любому из пп. 1-2, п. 4, пп. 6-8, пп. 21-22 или пп. 68-79, где антитело выбрано из группы, состоящей из Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и scFv-фрагмента.
82. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, содержащее одну тяжелую цепь и одну легкую цепь, где тяжелая цепь и легкая цепь содержат соответственно последовательность вариабельной области тяжелой цепи и последовательность вариабельной области легкой цепи по любому из пп. 1-2, 4, 6-8, 21-22 или пп. 68-79.
83. Антитело по п. 82, дополнительно содержащее константную область тяжелой цепи иммуноглобулина IgG₁ человека, где аминокислотная последовательность константой области тяжелой цепи IgG₁ содержит мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации, или мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.
84. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40 человека, где антитело содержит
- (а) первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека; и

- (b) второй антигенсвязывающий домен, который не связывается специфически с антигеном, экспрессируемым иммунной клеткой человека.
85. Антитело по п. 84, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит
- (a) первый переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) 1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO:4); VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO:5); и VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO:6); и
- (b) первый переменный домен легкой цепи (VL), содержащий VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:1); VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO:2); и VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ ID NO:3).
86. Антитело по п. 84, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, специфически связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело, содержащее VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16, и VL, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15.
87. Антитело по п. 84, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO:55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним.
88. Антитело по п. 84, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16.

89. Антитело по п. 84, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15.
90. Антитело по любому из пп. 84-89, где второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с антигеном, не являющимся человеческим.
91. Антитело по любому из пп. 84-89, где второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с вирусным антигеном.
92. Антитело по п. 91, где вирусный антиген представляет собой антиген HIV.
93. Антитело по любому из пп. 84-90, где второй антигенсвязывающий домен специфически связывается с альбумином курицы или лизоцимом куриного яйца.
94. Выделенное антитело, которое специфически связывается с OX40, где антитело содержит
- (a) антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержащий первую тяжелую цепь и легкую цепь; и
 - (b) вторую тяжелую цепь или ее фрагмент.
95. Антитело по п. 94, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит
- (a) первый переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющую комплементарность область (CDR) 1 VH, содержащую аминокислотную последовательность GSAMH (SEQ ID NO:4); VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность RIRSKANSYATAYAASVKG (SEQ ID NO:5); и VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность GIYDSSGYDY (SEQ ID NO:6); и
 - (b) первый переменный домен легкой цепи (VL), содержащий VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:1); VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность LGSNRAS (SEQ ID NO:2); и VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность MQALQTPLT (SEQ

ID NO:3).

96. Антитело по п. 94, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, специфически связывается с тем же эпитопом OX40 человека, что и антитело, содержащее VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16, и VL, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15.
97. Антитело по п. 94, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, характеризуется, по сравнению со связыванием с последовательностью OX40 человека под SEQ ID NO:55, пониженной способностью к связыванию с белком, идентичным последовательности под SEQ ID NO:55, за исключением наличия аминокислотной мутации, выбранной из группы, состоящей из N60A, R62A, R80A, L88A, P93A, P99A, P115A и их комбинации, или не связывается с ним.
98. Антитело по п. 94, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VH содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16.
99. Антитело по п. 94, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH и VL, где VL содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15.
100. Антитело по любому из пп. 94-99, где фрагмент второй тяжелой цепи представляет собой Fc-фрагмент.
101. Антитело по любому из пп. 84-100, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:16.
102. Антитело по любому из пп. 84-101, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:16.

103. Антитело по любому из пп. 84-101, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VH, содержащий аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевой линии человека IGHV3-73.
104. Антитело по любому из пп. 84-103, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентична аминокислотной последовательности под SEQ ID NO:15.
105. Антитело по любому из пп. 84-104, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:3.
106. Антитело по любому из пп. 84-105, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:15.
107. Антитело по любому из пп. 84-106, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:20.
108. Антитело по любому из пп. 84-107, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO:50.
109. Антитело по любому из пп. 84-103, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит VL, содержащий аминокислотную последовательность, полученную из последовательности зародышевой линии человека IGKV2-28.
110. Антитело по любому из пп. 84-102, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит последовательности VH и VL, изложенные в SEQ ID NO: 16 и 15 соответственно.

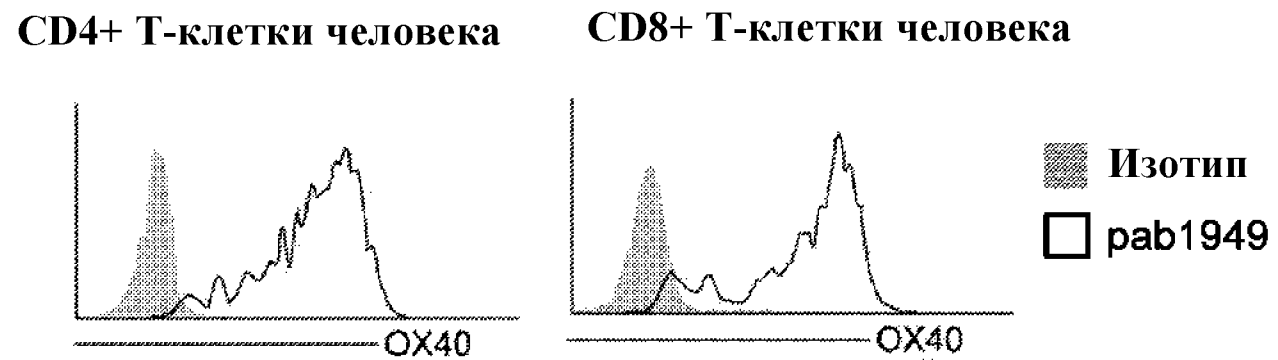
111. Антитело по любому из пп. 84-110, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 60.
112. Антитело по любому из пп. 84-93 или пп. 101-111, где первый антигенсвязывающий домен и второй антигенсвязывающий домен содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации, или идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.
113. Антитело по любому из пп. 94-111, где антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с OX40 человека, и вторая тяжелая цепь или ее фрагмент содержат идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из N297A, N297Q, D265A и их комбинации, или идентичную мутацию, выбранную из группы, состоящей из D265A, P329A и их комбинации.
114. Антитело по любому из п. 67 или пп. 80-113, где антитело является антагонистическим в отношении OX40 человека.
115. Антитело по любому из п. 67 или пп. 80-114, где антитело прекращает, снижает или ингибирует активность OX40 человека.
116. Антитело по любому из п. 67 или пп. 80-115, где антитело ингибирует или ослабляет связывание OX40 человека с лигандом OX40 человека.
117. Антитело по любому из п. 67 или пп. 80-116, где антитело ингибирует или ослабляет передачу сигнала с участием OX40 человека.
118. Антитело по любому из п. 67 или пп. 80-117, где антитело ингибирует или ослабляет передачу сигнала с участием OX40 человека, индуцированную лигандом OX40 человека.
119. Антитело по любому из пп. 67 или пп. 80-118, дополнительно содержащее выявляемую метку.

120. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из п. 67 или пп. 80-119 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
121. Способ модулирования иммунного ответа у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества антитела по любому из пп. 1-36 или п. 46, п. 67 или пп. 80-119 или фармацевтической композиции по п. 120.
122. Способ по п. 120, где модулирование иммунного ответа включает ослабление или ингибирование иммунного ответа у субъекта.
123. Способ лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания или нарушения у субъекта, при этом способ включает введение субъекту эффективного количества антитела по любому из пп. 1-36 или п. 46, п. 67 или пп. 80-119 или фармацевтической композиции по п. 118.
124. Способ по п. 123, где заболевание или нарушение выбрано из группы, состоящей из отторжения трансплантата, васкулита, астмы, ревматоидного артрита, дерматита, воспалительного заболевания кишечника, увеита и волчанки.
125. Способ по любому из пп. 121-124, где субъектом является человек.
126. Способ лечения инфекционного заболевания у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества антитела по любому из пп. 1-36 или п. 46, п. 67 или пп. 80-119, молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп. 37-41, вектора по п. 42, клетки-хозяина по п. 43 или п. 44 или фармацевтической композиции по любому из пп. 47-48 или п. 120.
127. Способ по п. 52 или п. 53, дополнительно включающий введение субъекту средства, целенаправленно воздействующего на контрольные точки.
128. Способ по п. 127, где средство, целенаправленно воздействующее на контрольные точки, выбрано из группы, состоящей из антагонистического антитела к PD-1, антагонистического антитела к PD-L1, антагонистического антитела к PD-L2, антагонистического антитела к CTLA-4, антагонистического антитела к TIM-3, антагонистического антитела к LAG-3, антагонистического антитела к CEACAM1,

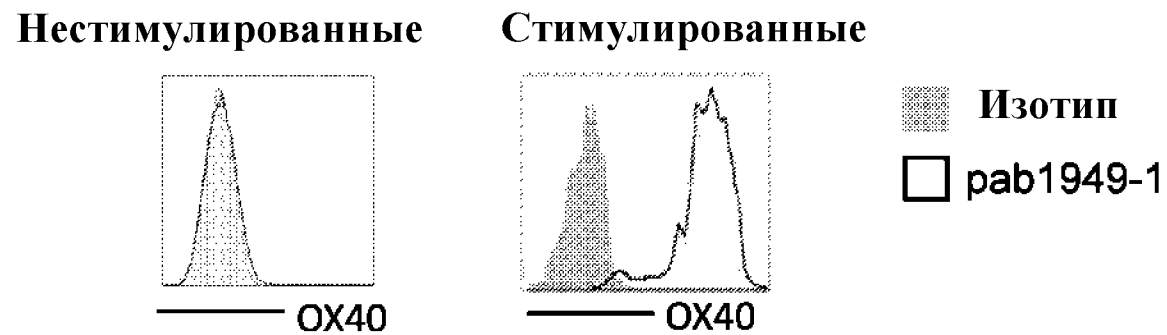
агонистического антитела к GITR, агонистического антитела к CD137 и агонистического антитела к OX40.

129. Способ выявления OX40 в образце, включающий приведение образца в контакт с антителом по любому из п. 67 или пп. 80-119.
130. Набор, содержащий антитело по любому из п. 67 или пп. 80-119 или фармацевтическую композицию по п. 118 и а) реагент для выявления, б) антиген OX40, в) уведомление, в котором отражено разрешение на применение или продажу для введения человеку, или д) их комбинацию.

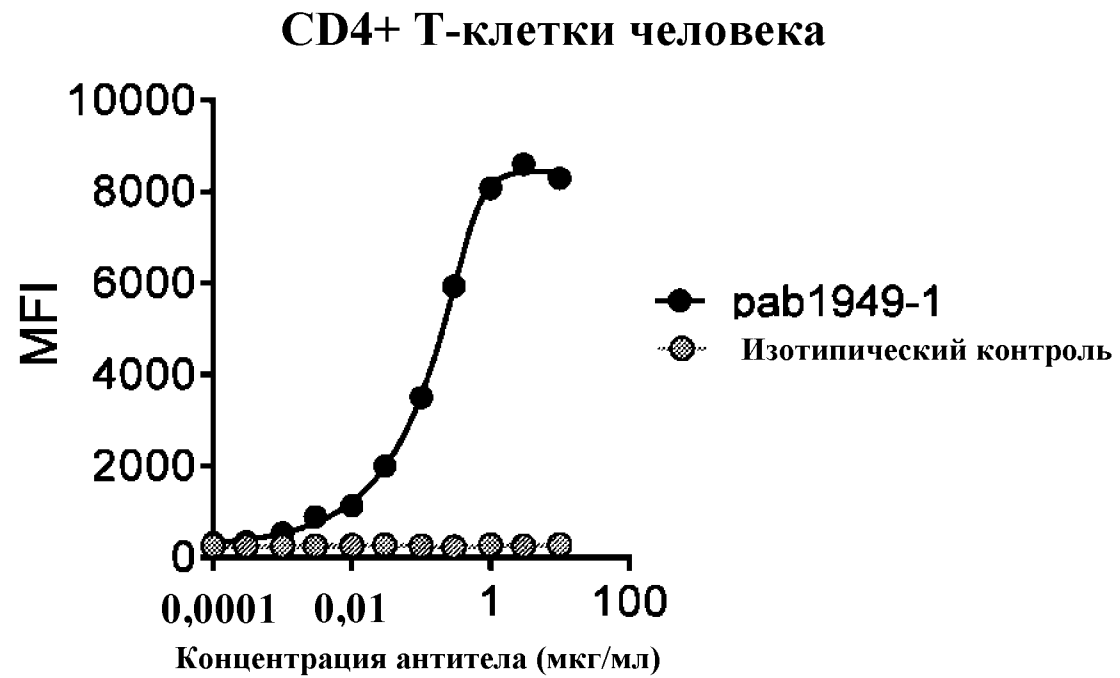
Фигура 1А



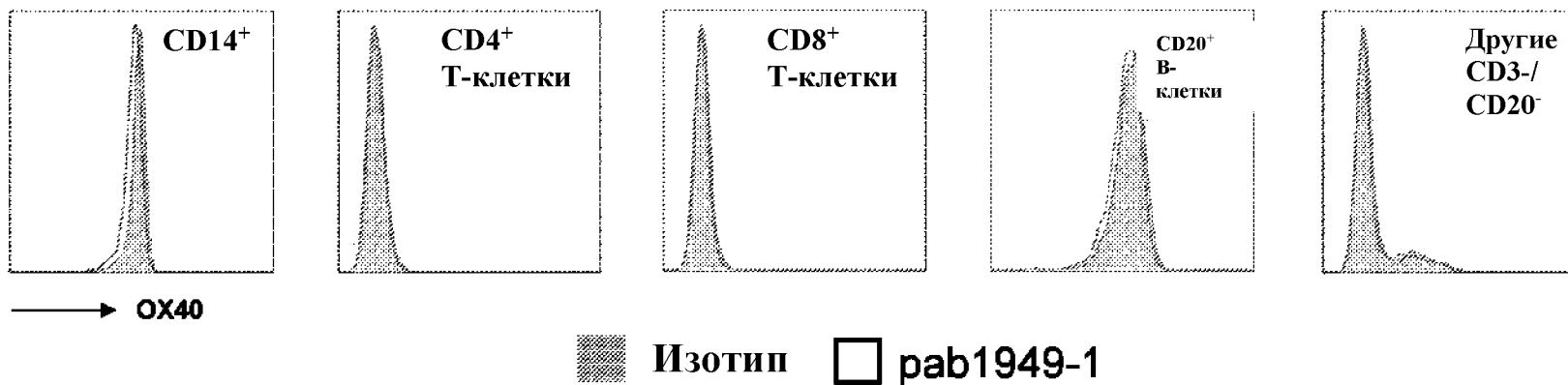
Фигура 1В



Фигура 1С

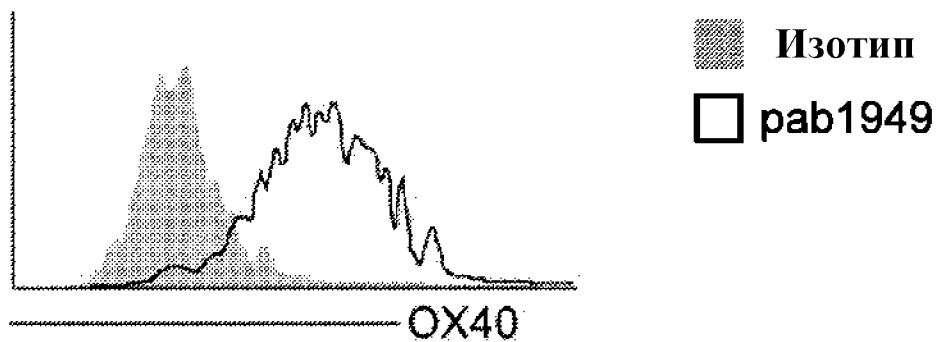


Фигура 1D

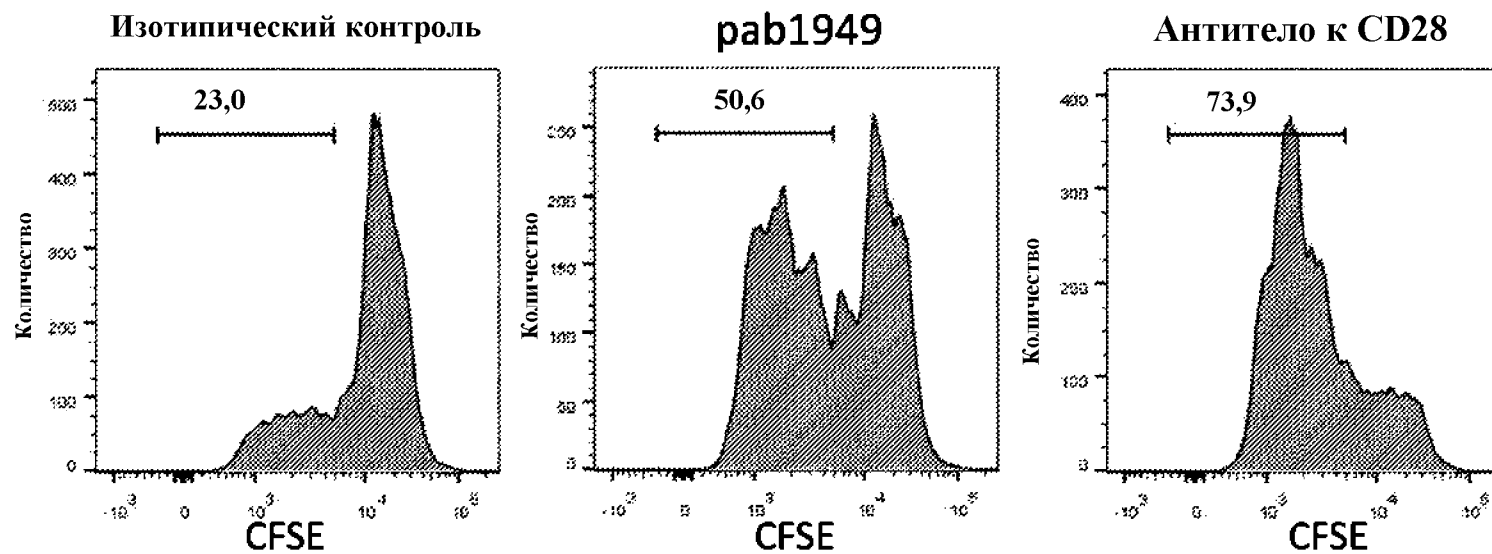


Фигура 1E

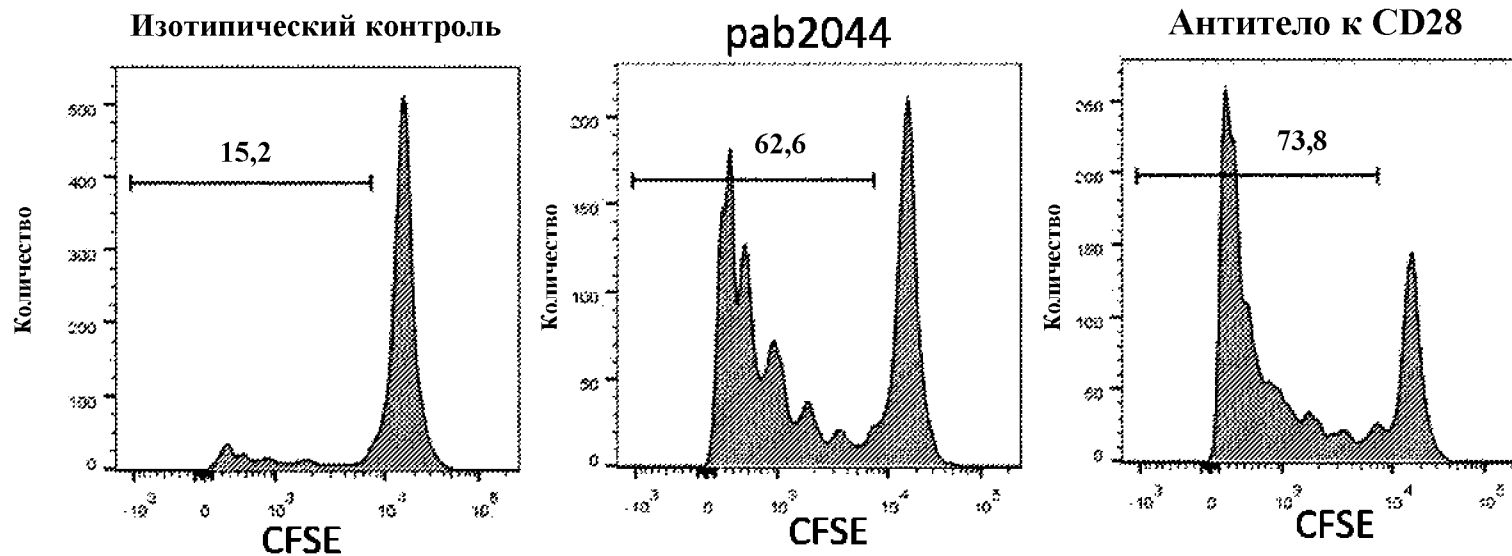
CD4⁺ Т-клетки макака-крабоеда



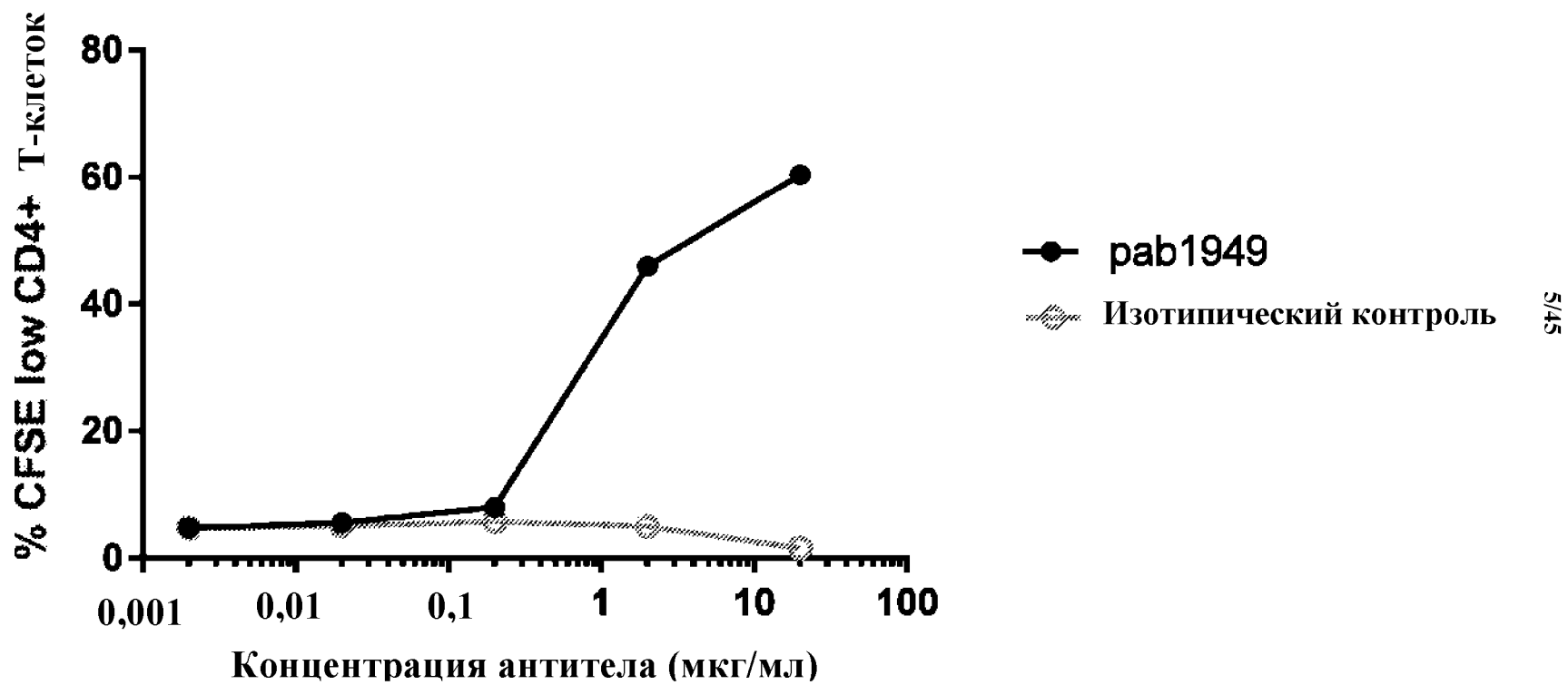
Фигура 2А



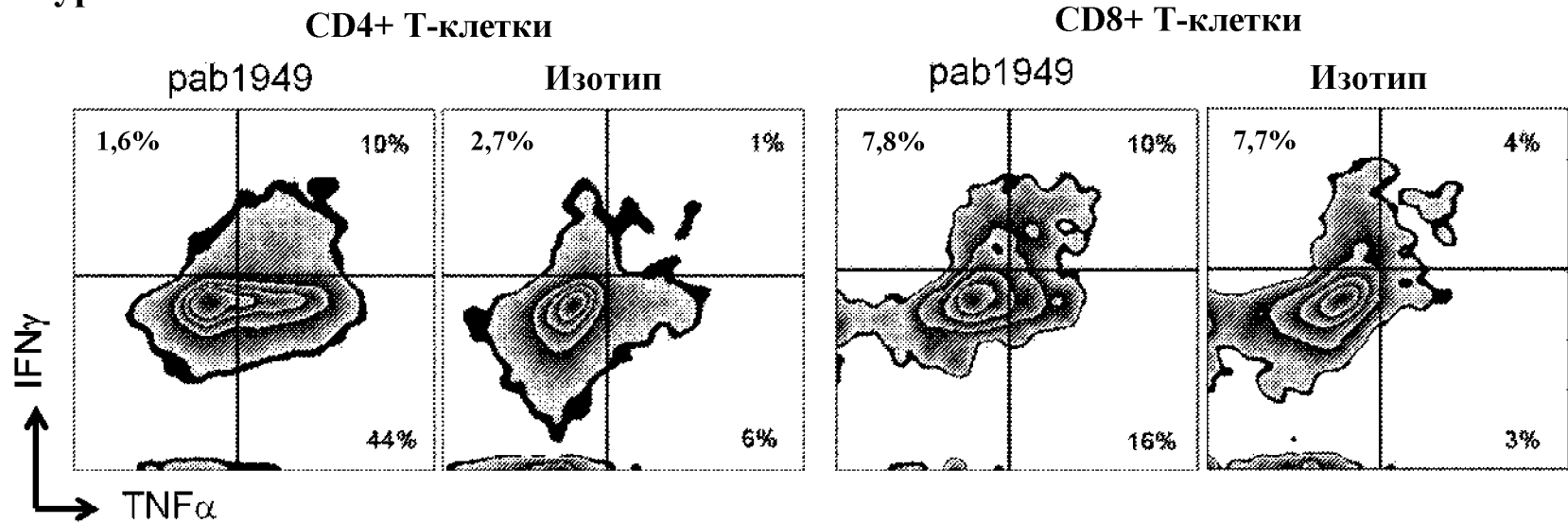
Фигура 2В



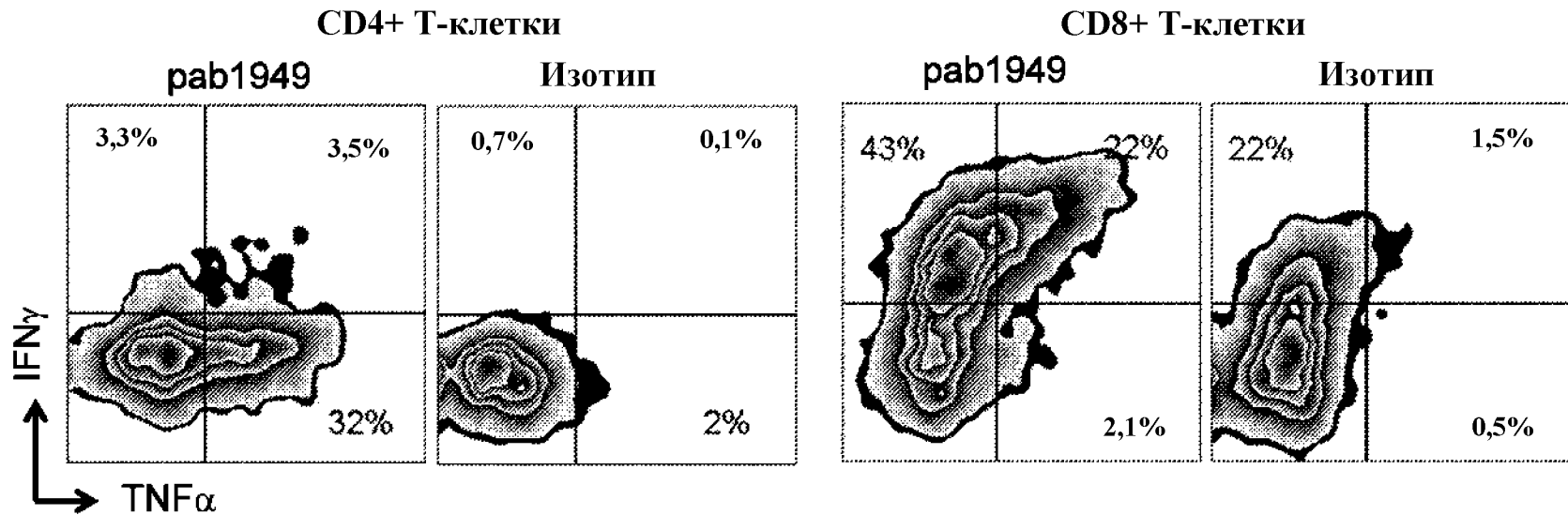
Фигура 2С



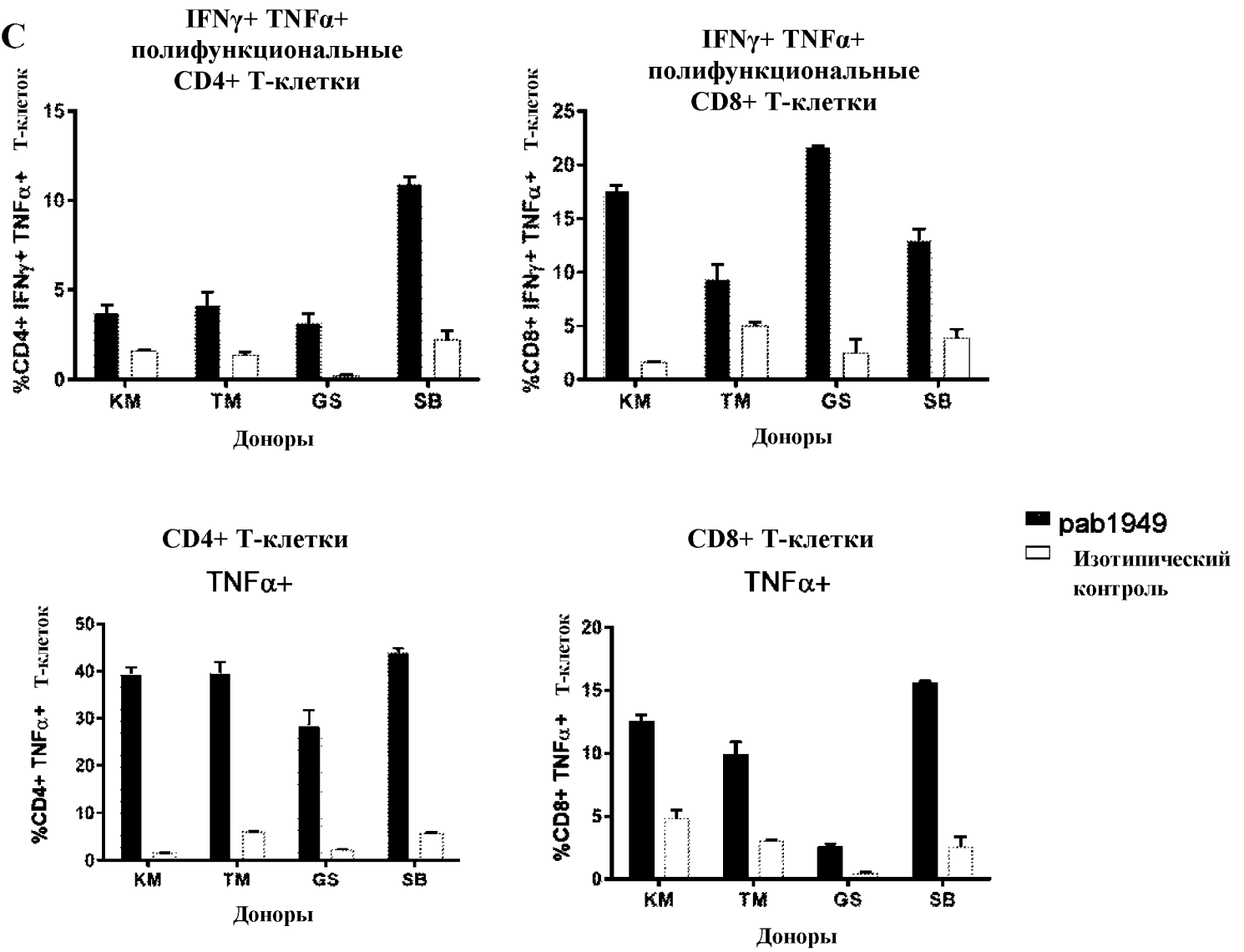
Фигура 3А



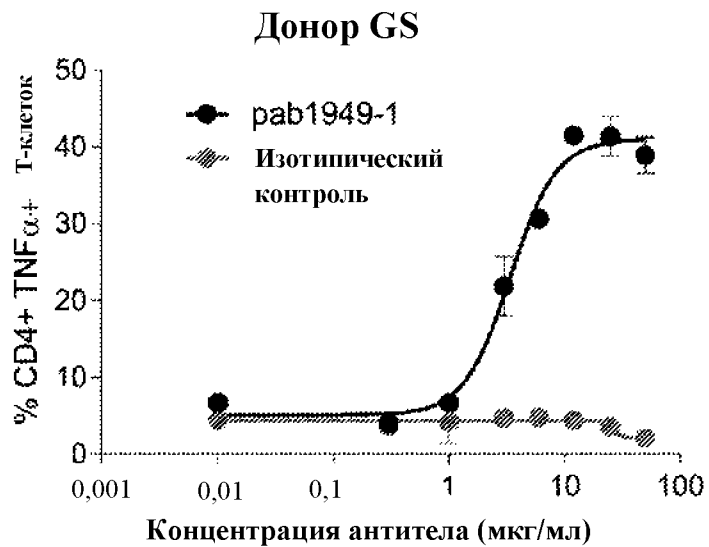
Фигура 3В



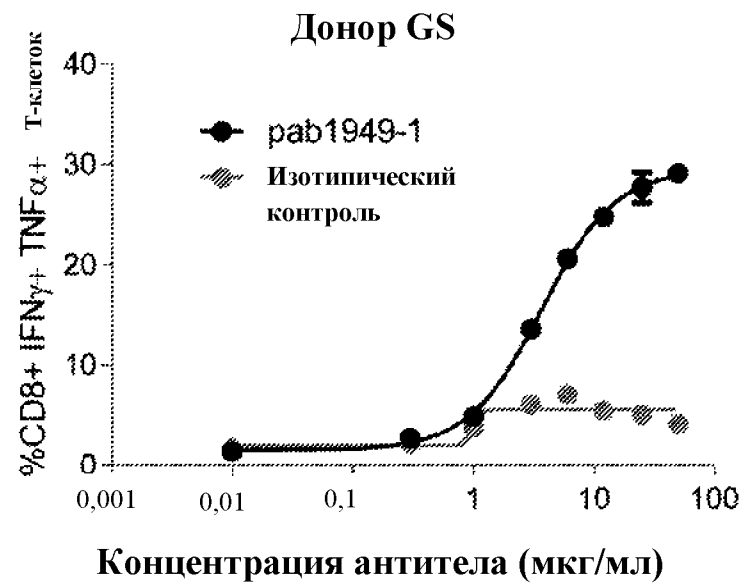
Фигура 3С



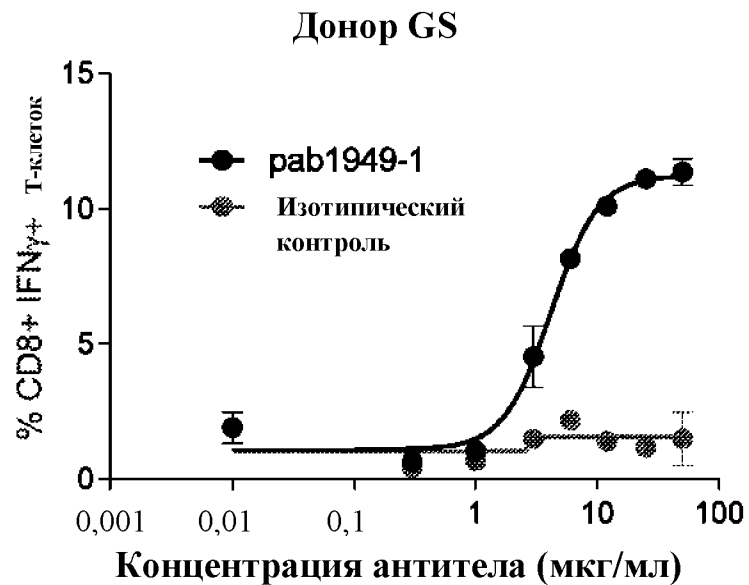
Фигура 3D



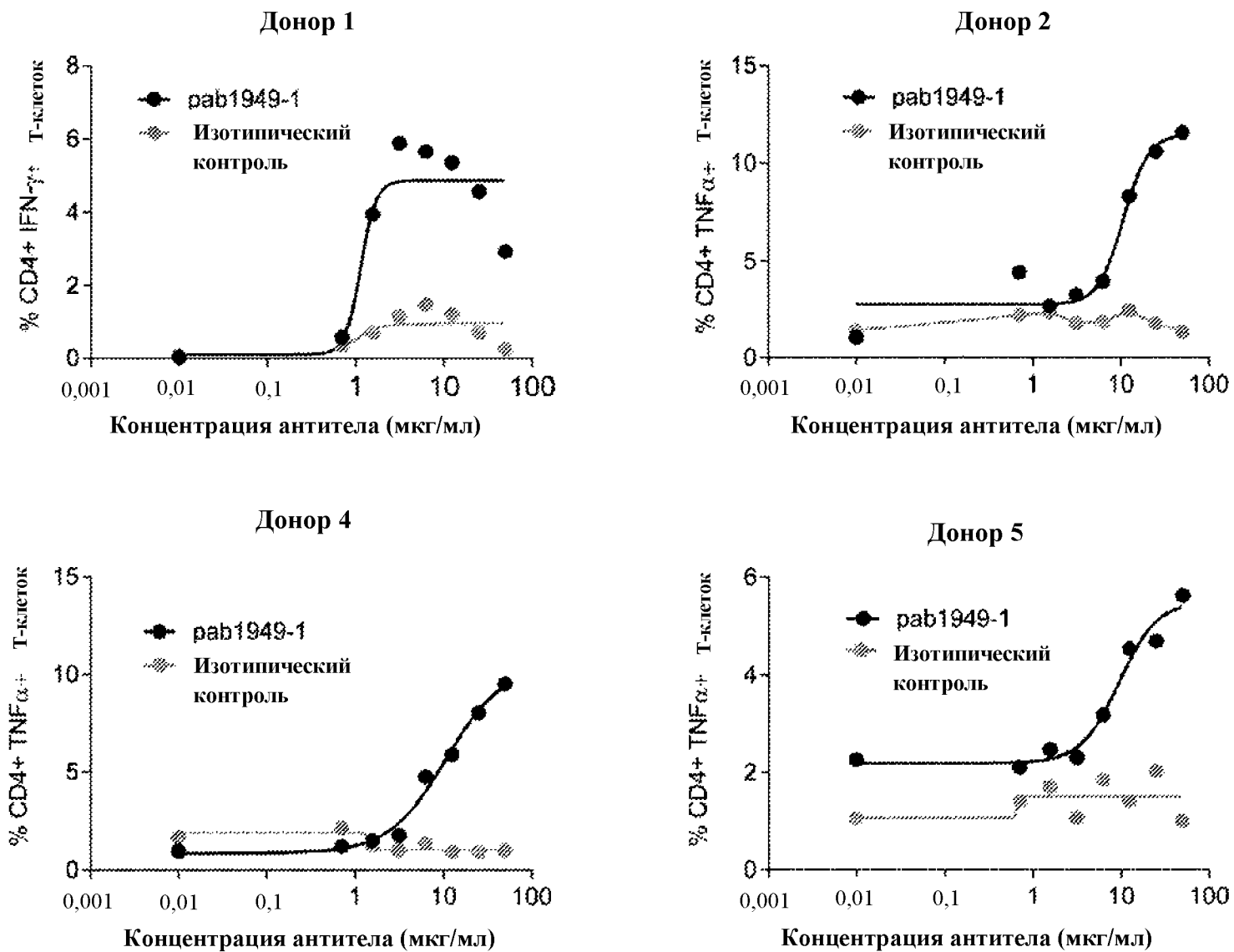
Фигура 3E



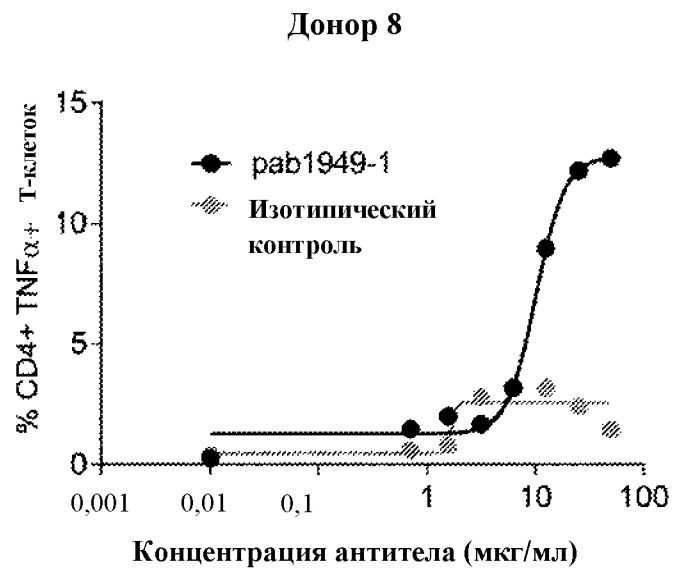
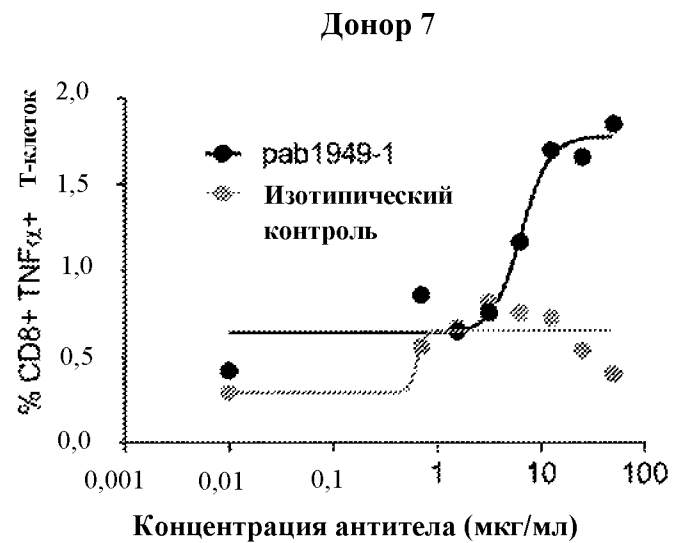
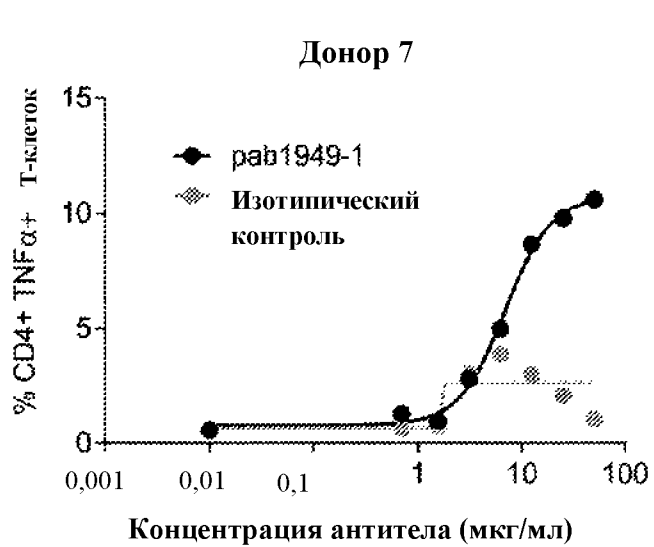
Фигура 3F



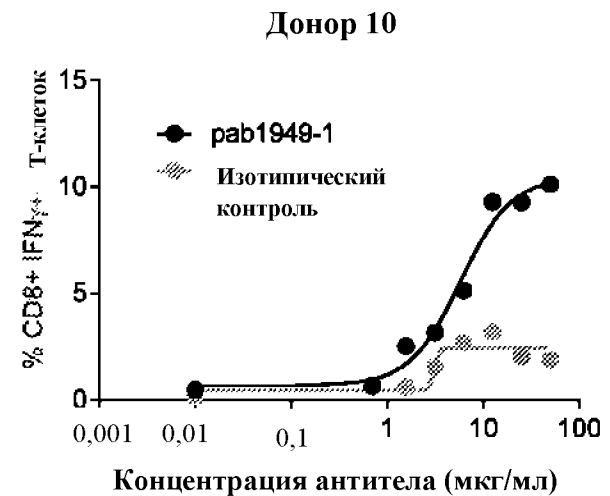
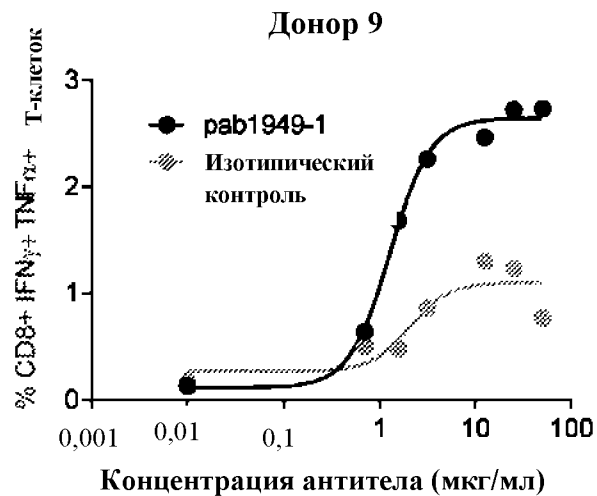
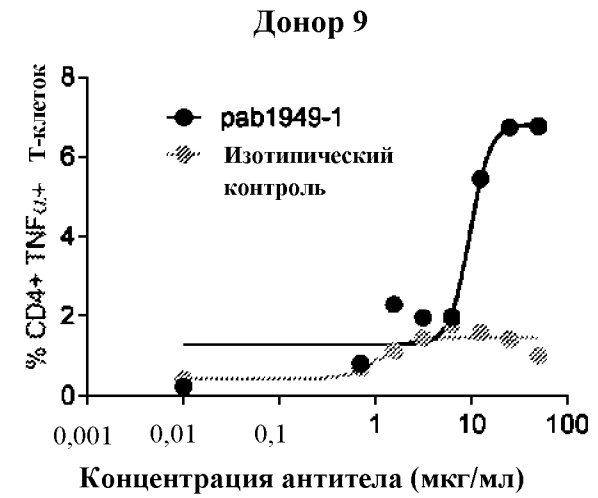
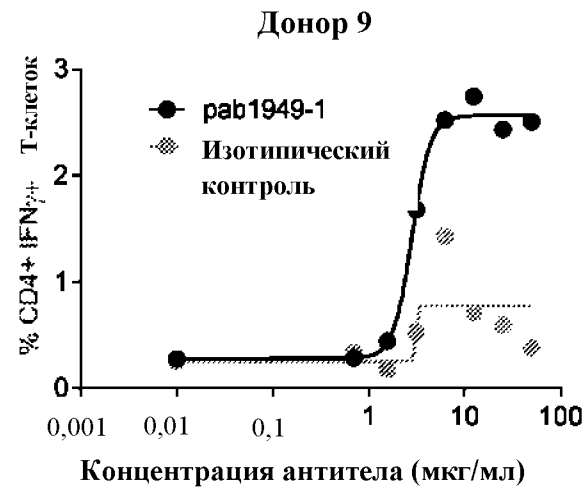
Фигура 4А



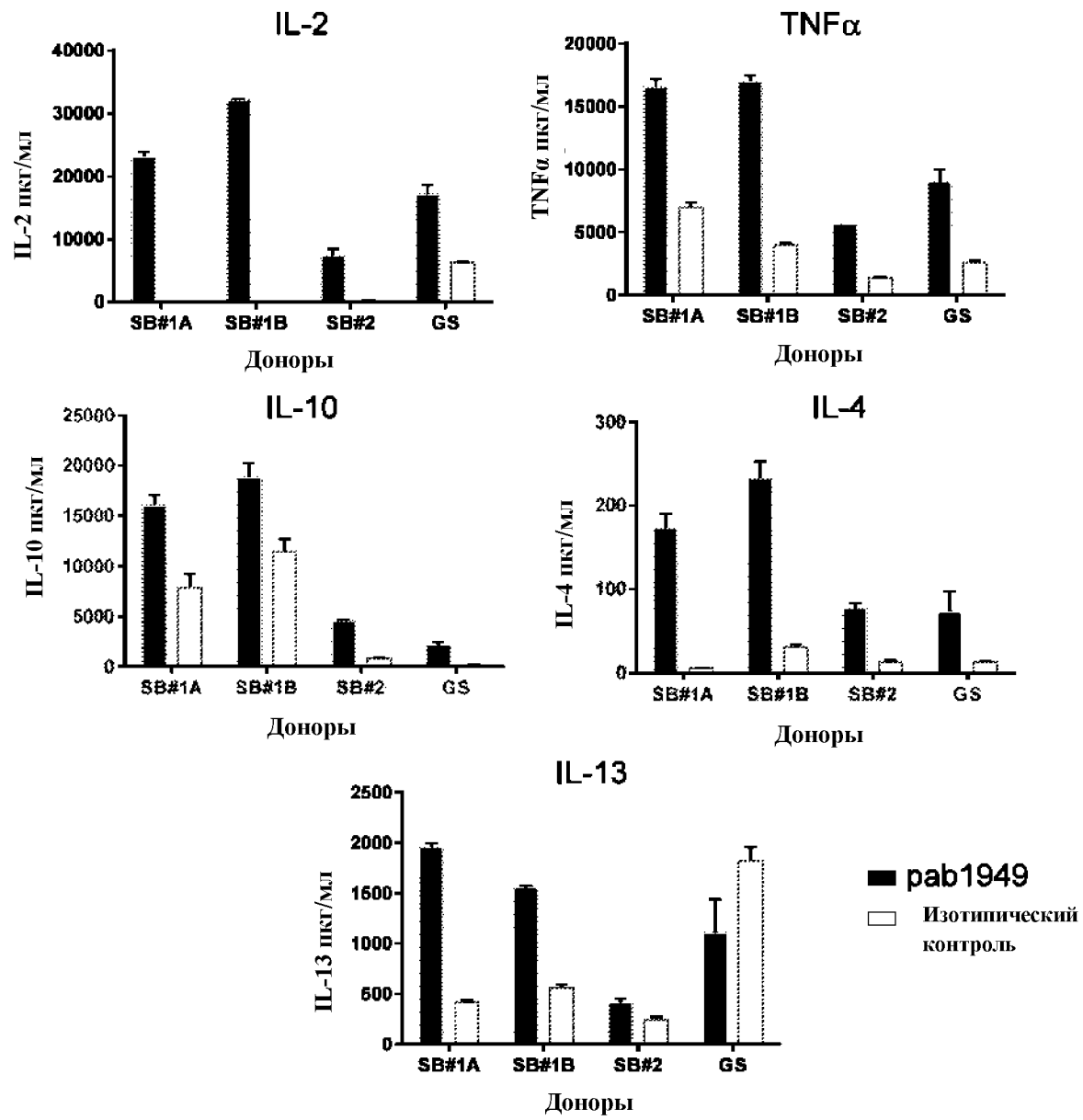
Фигура 4В



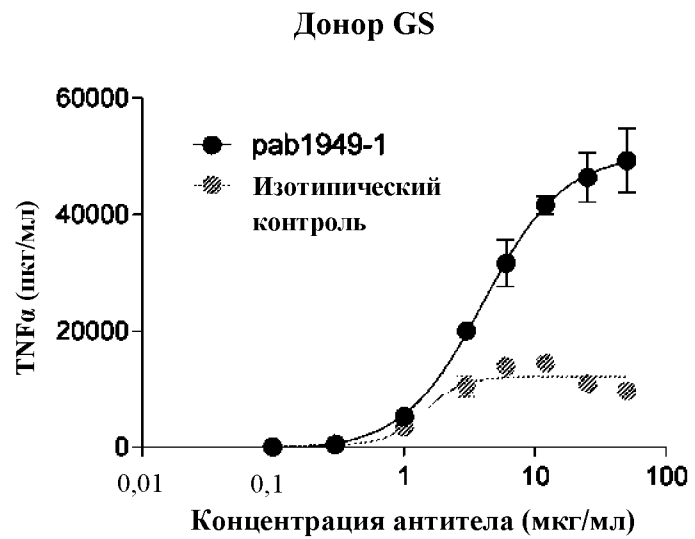
Фигура 4С



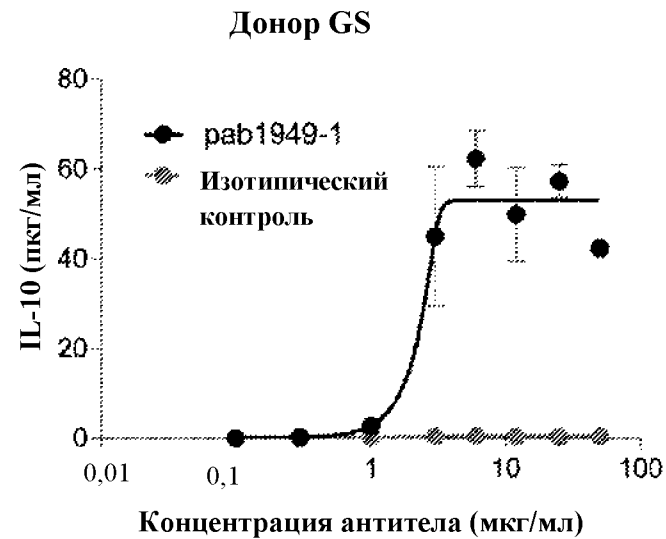
Фигура 5А



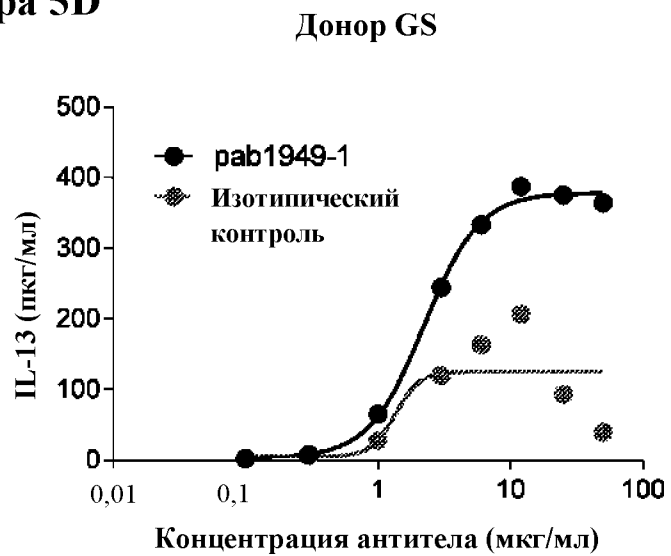
Фигура 5В



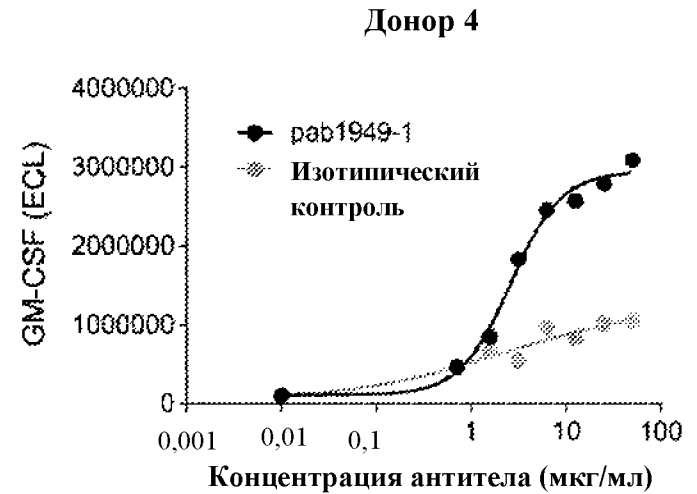
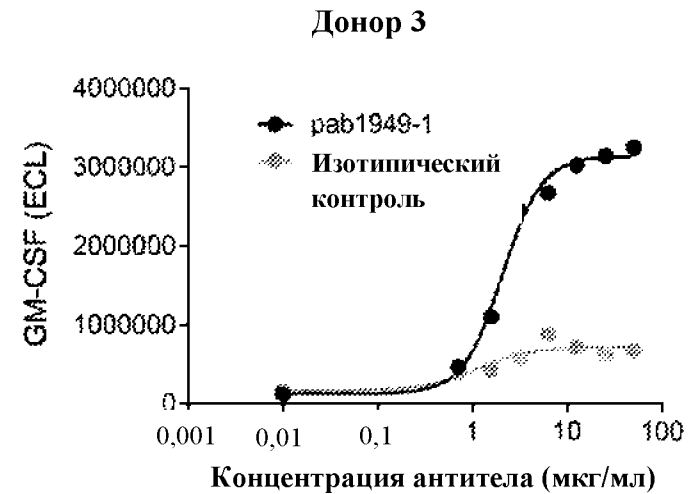
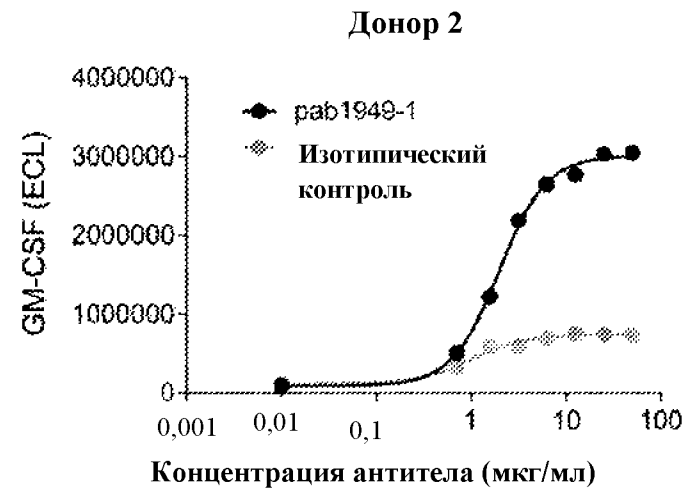
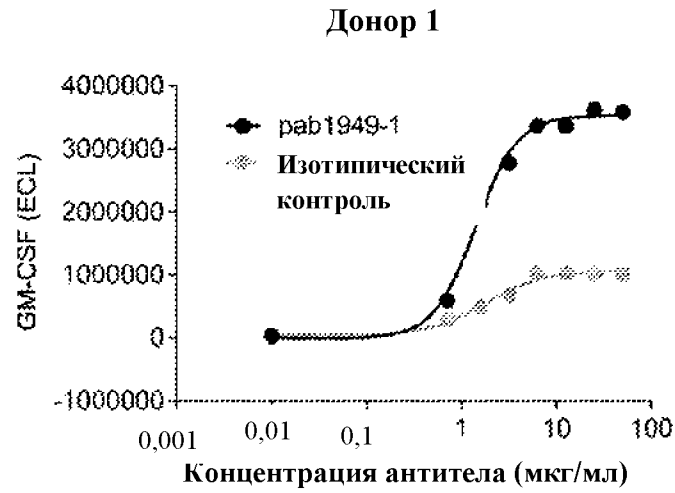
Фигура 5С



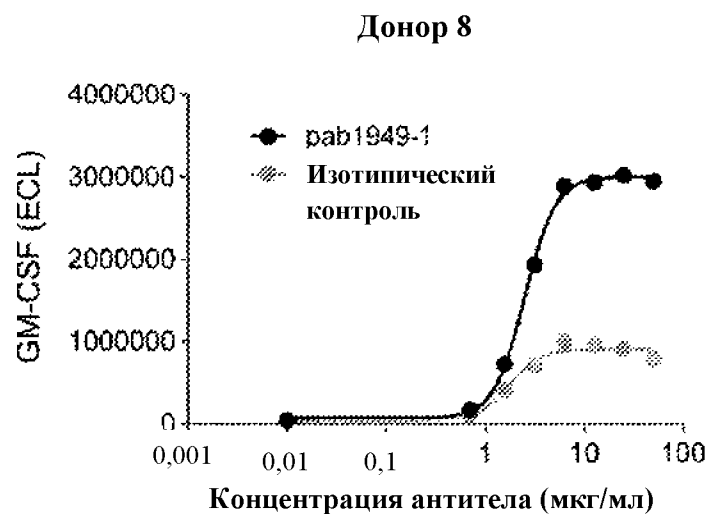
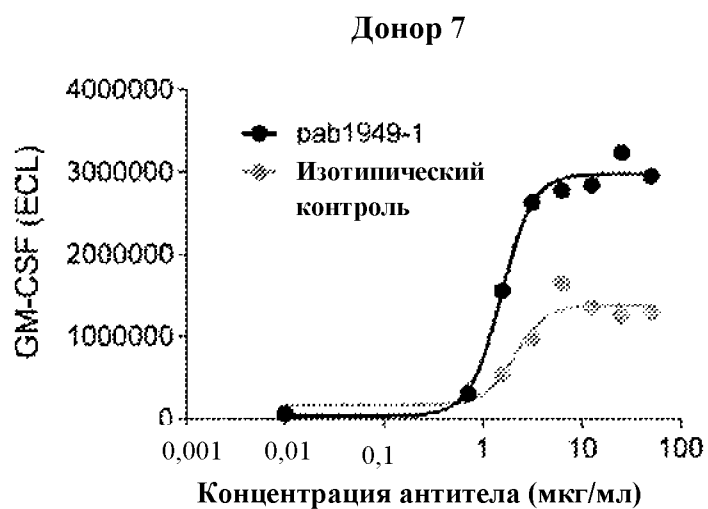
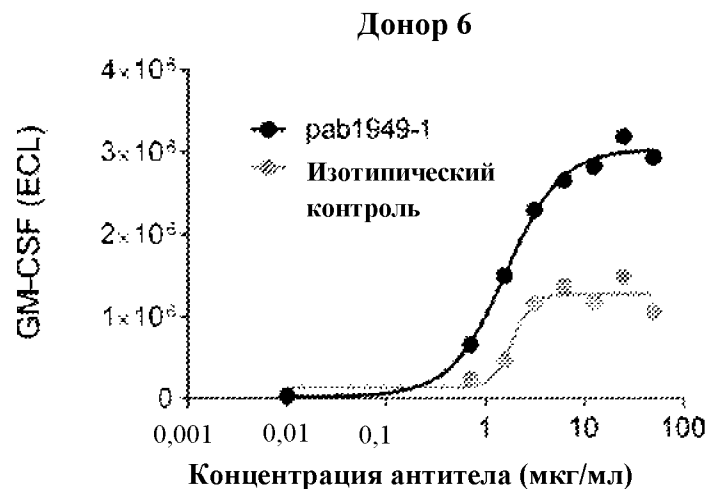
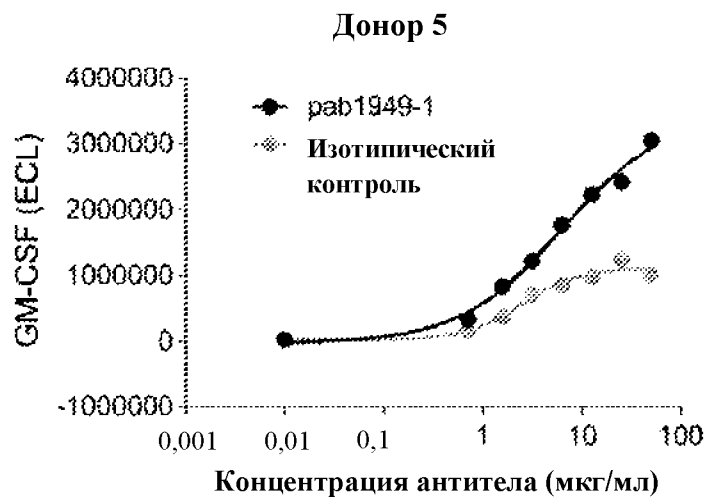
Фигура 5D



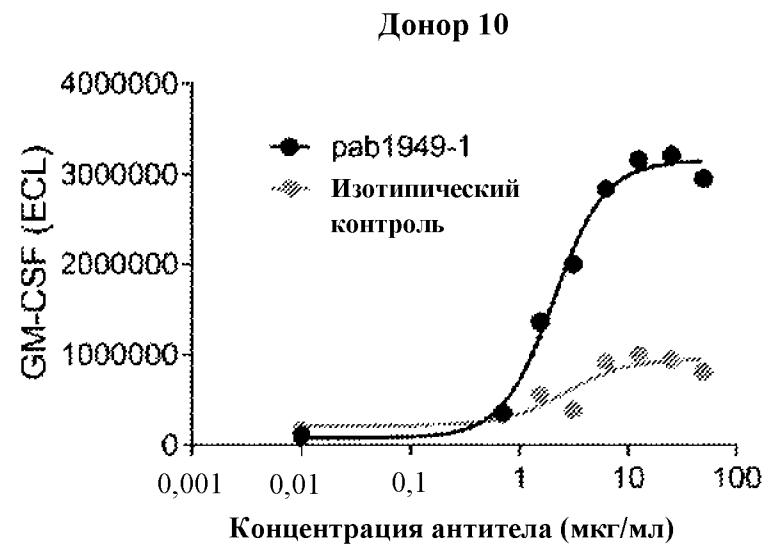
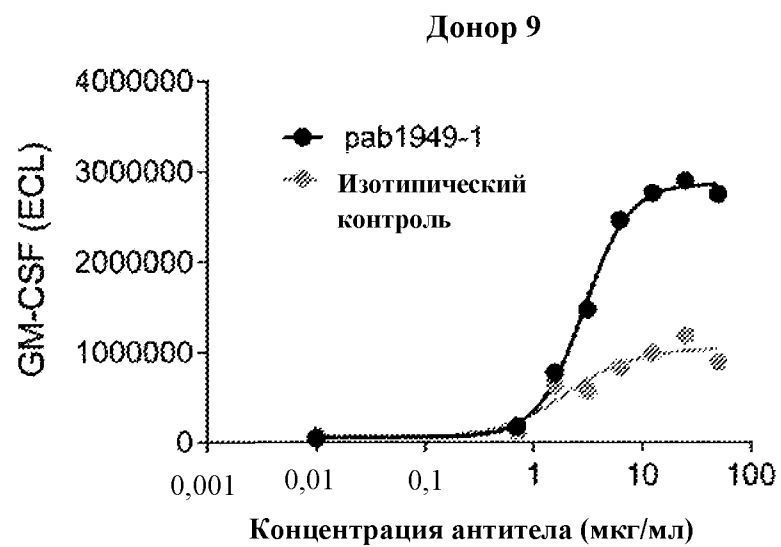
Фигура 6А



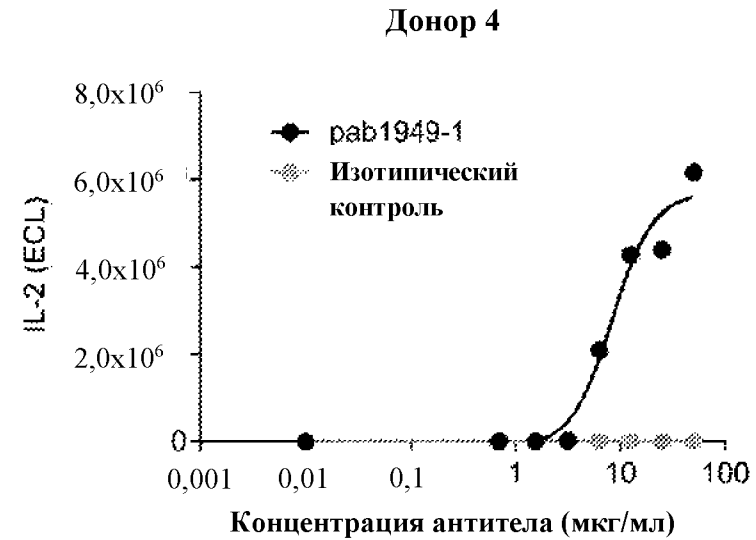
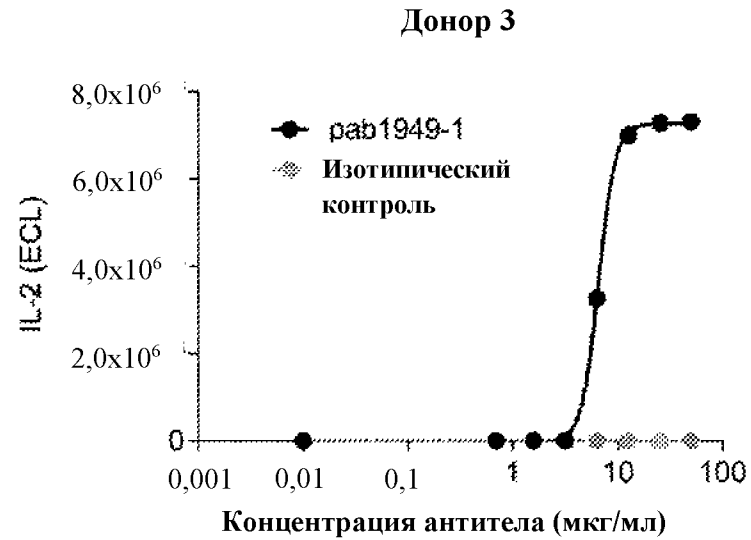
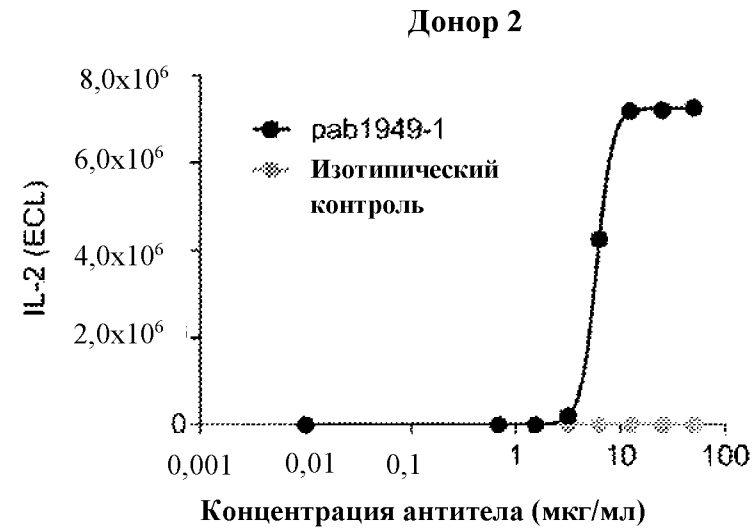
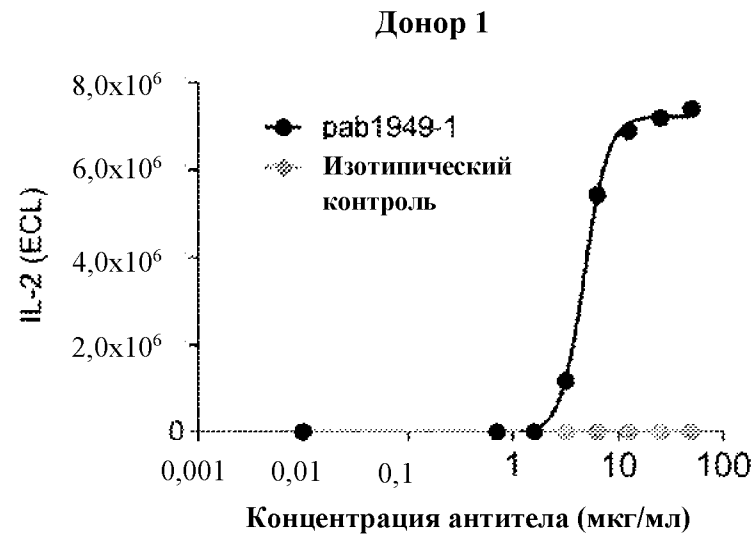
Фигура 6В



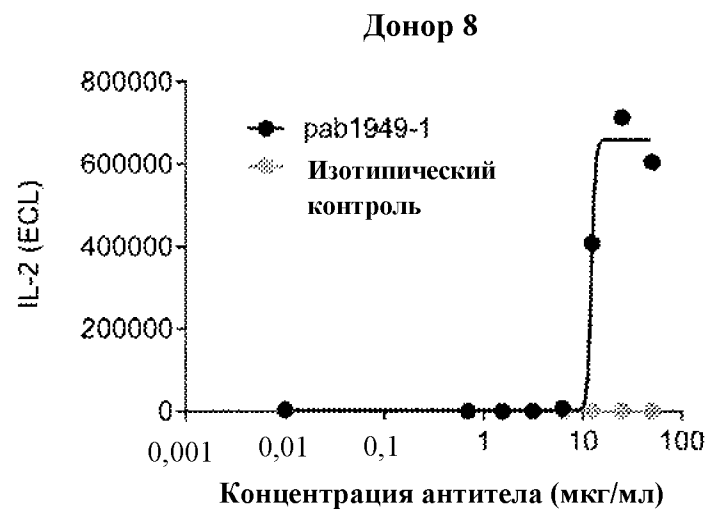
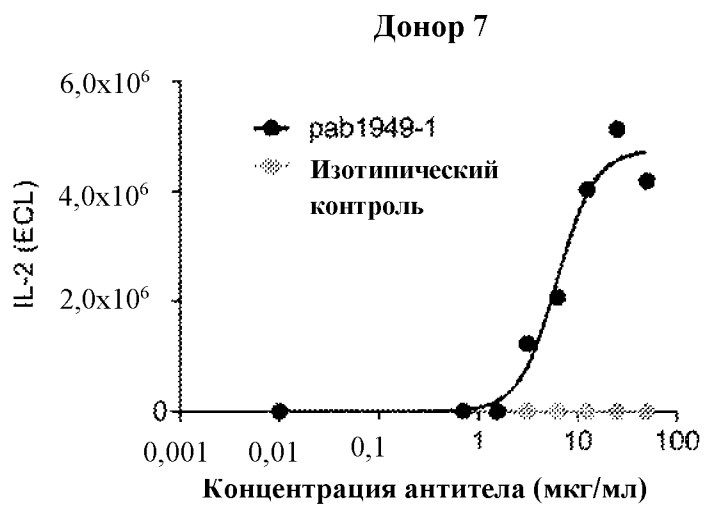
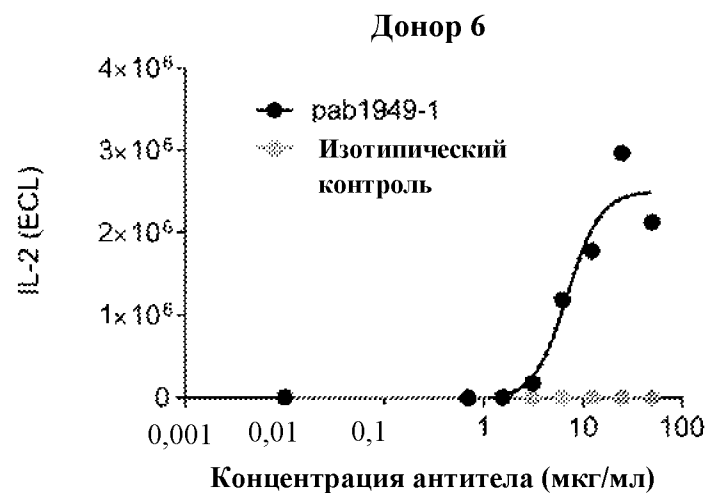
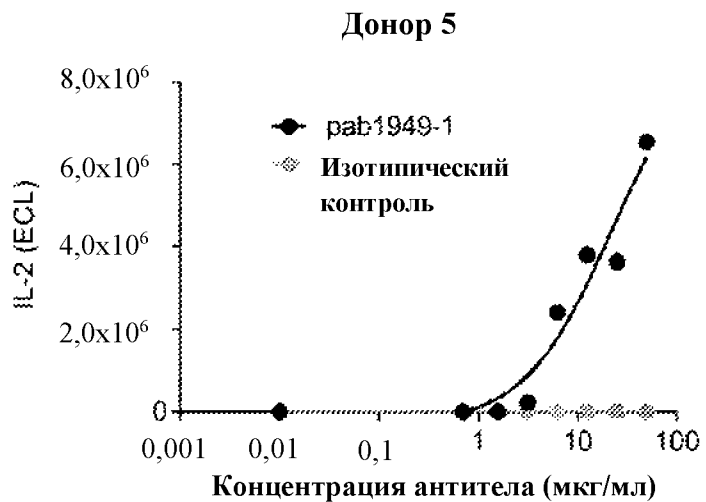
Фигура 6С



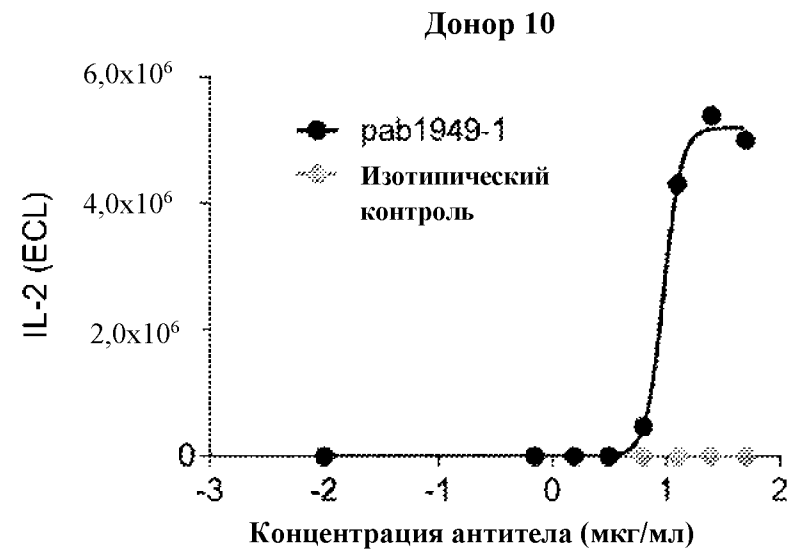
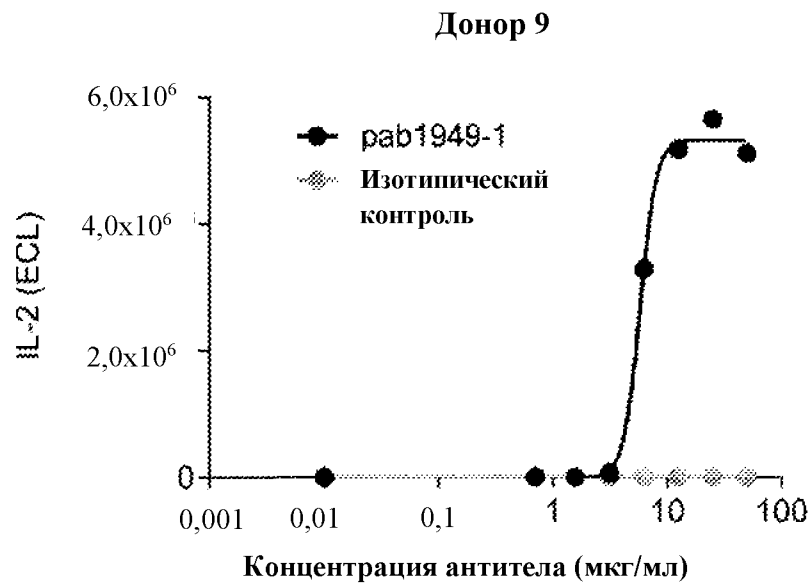
Фигура 7А



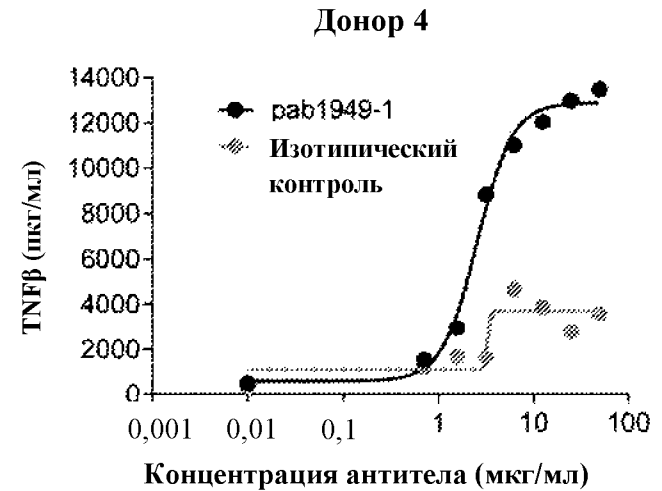
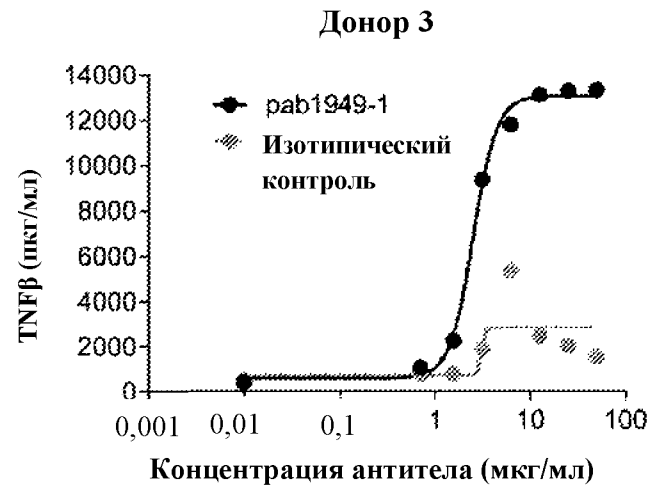
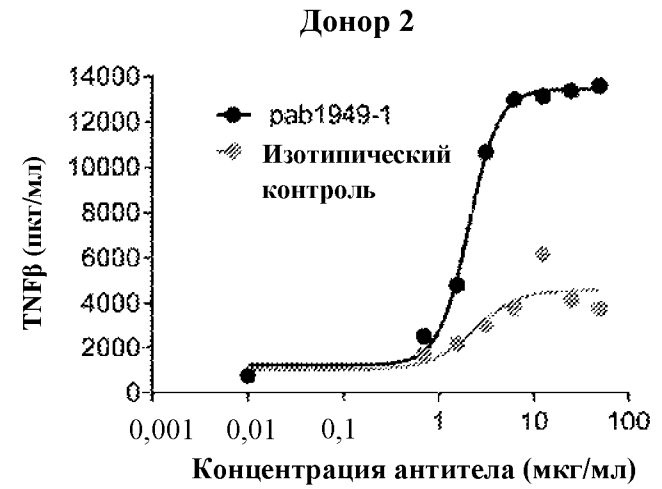
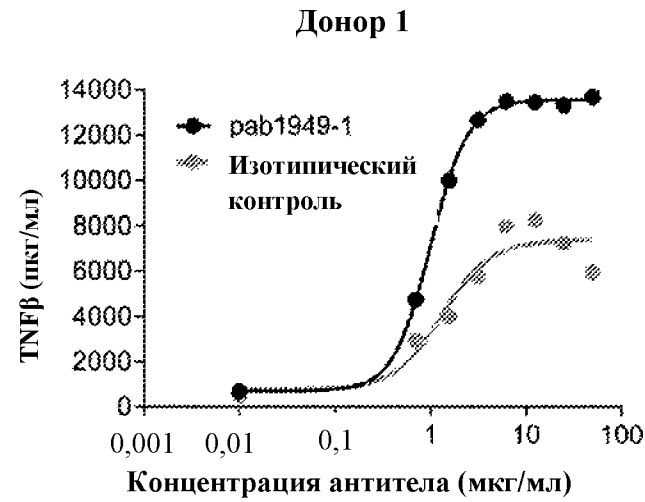
Фигура 7В



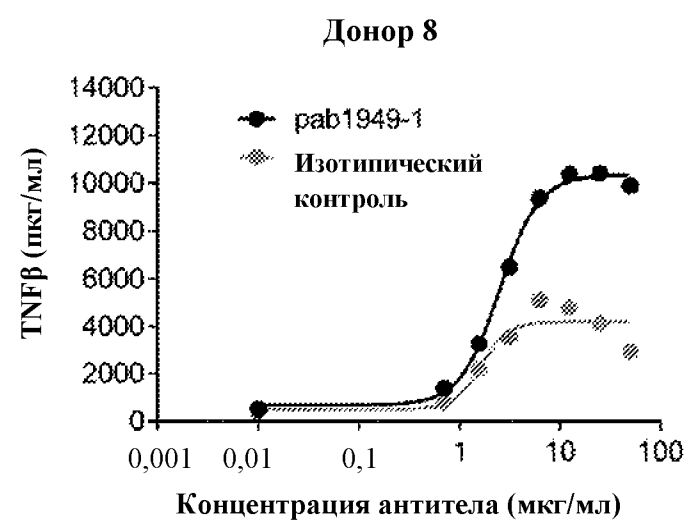
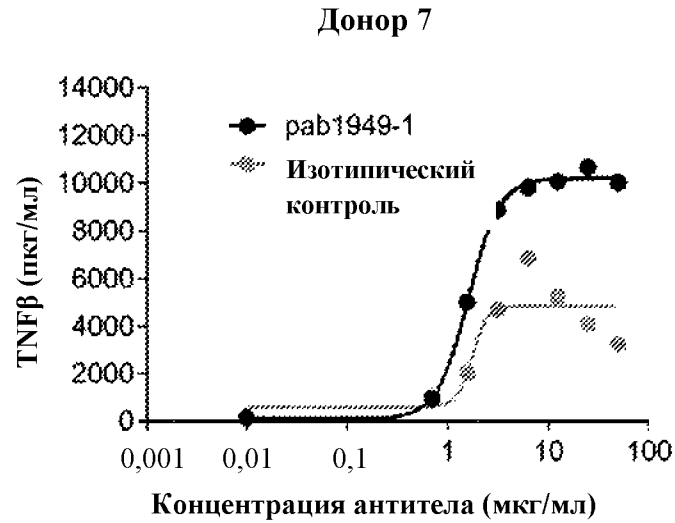
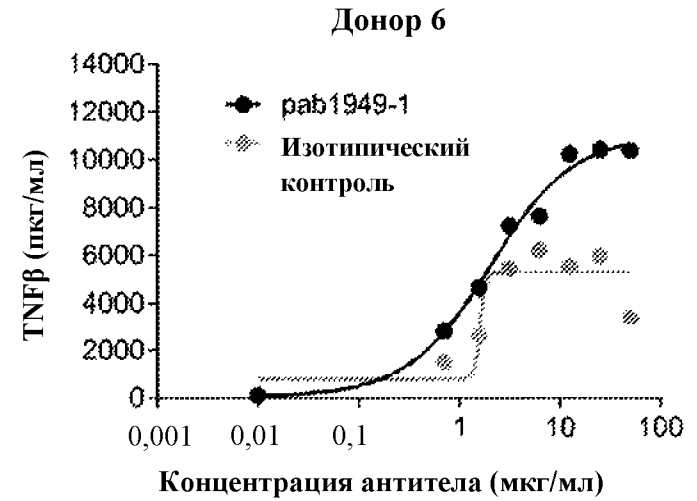
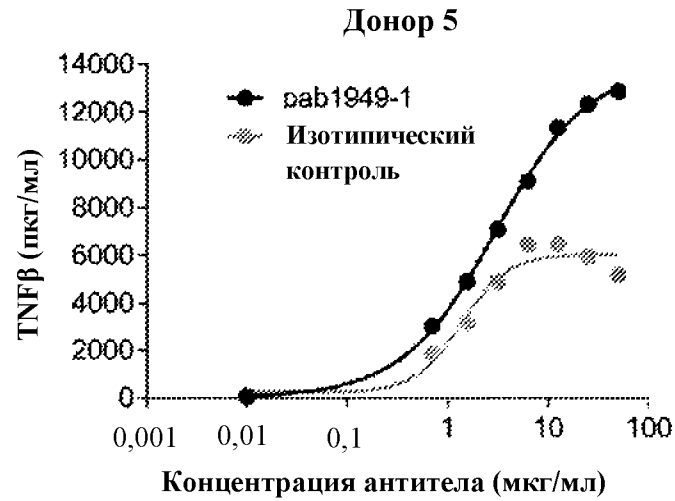
Фигура 7С



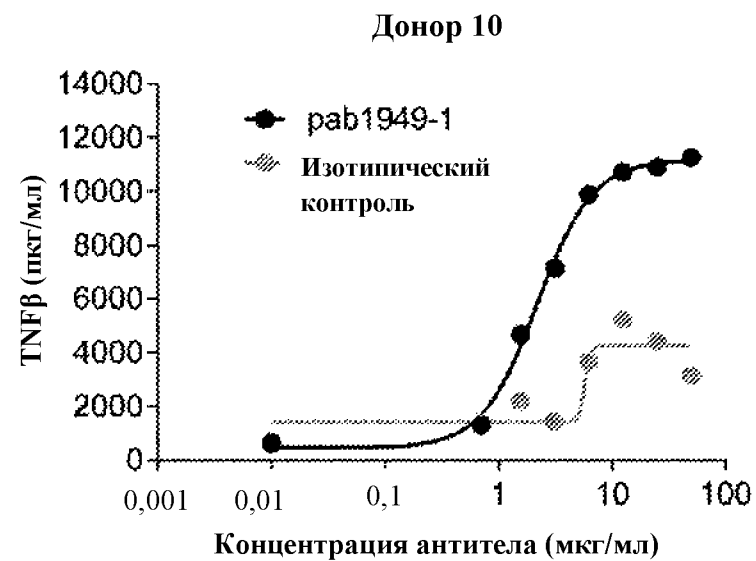
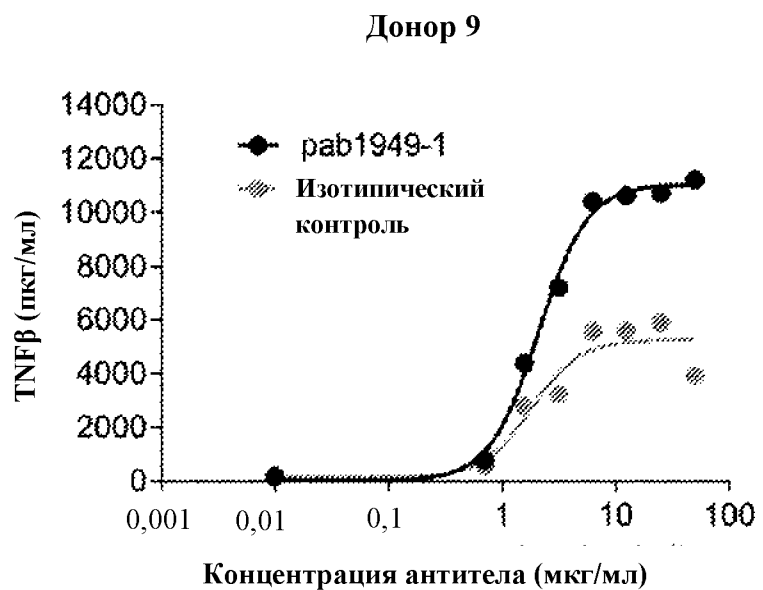
Фигура 8А



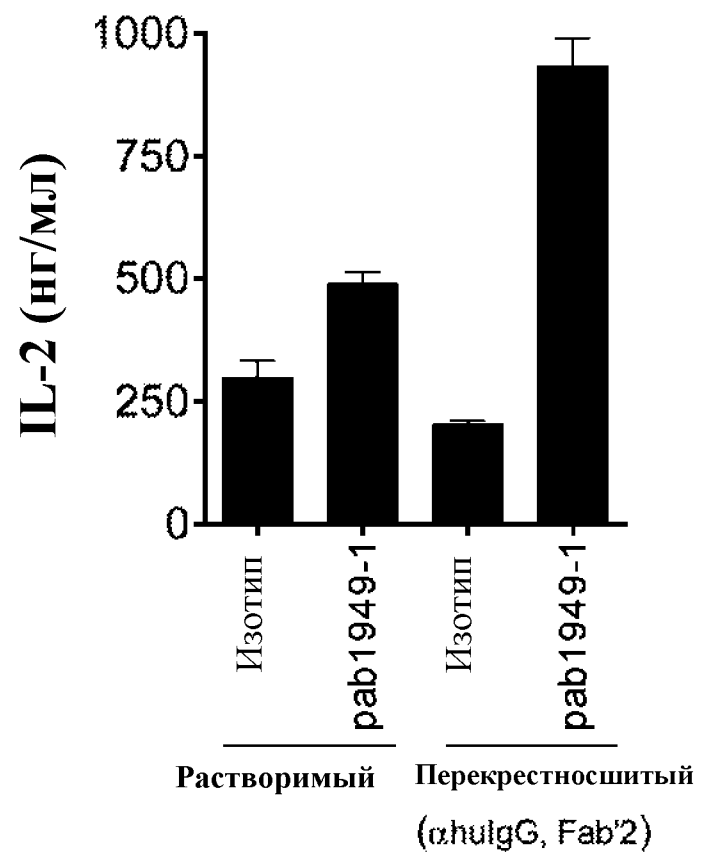
Фигура 8В



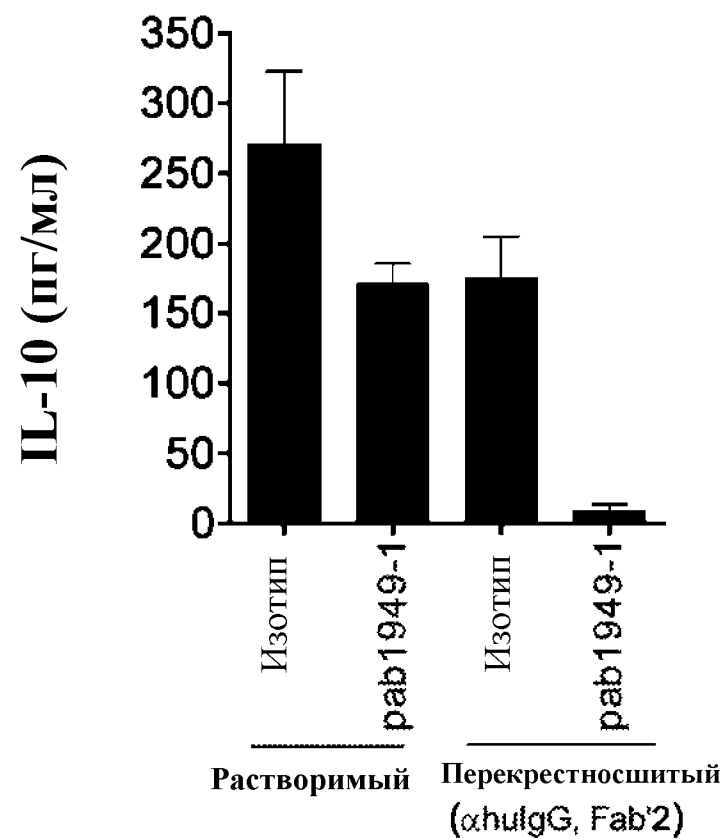
Фигура 8С



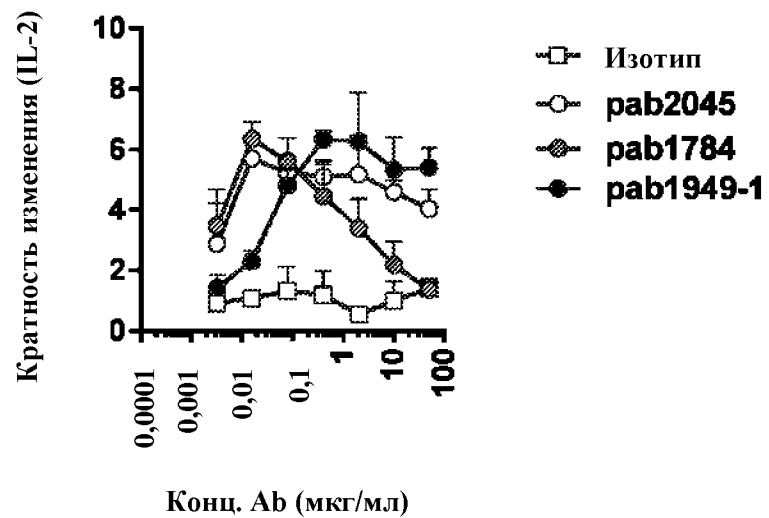
Фигура 9А



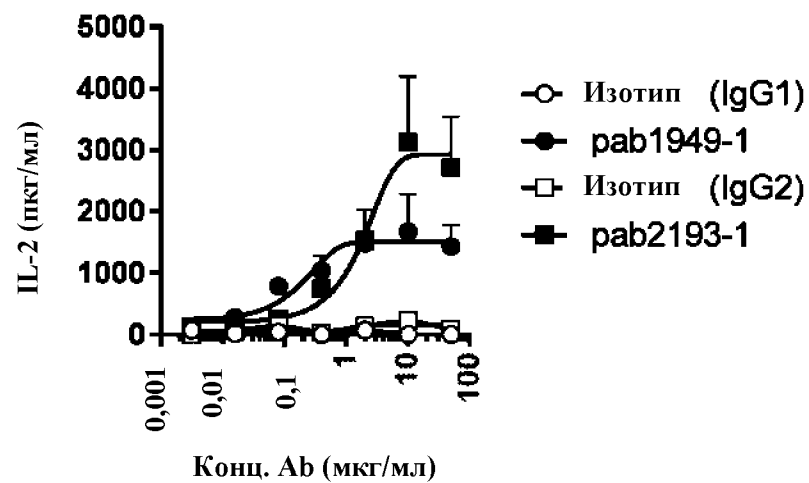
Фигура 9В



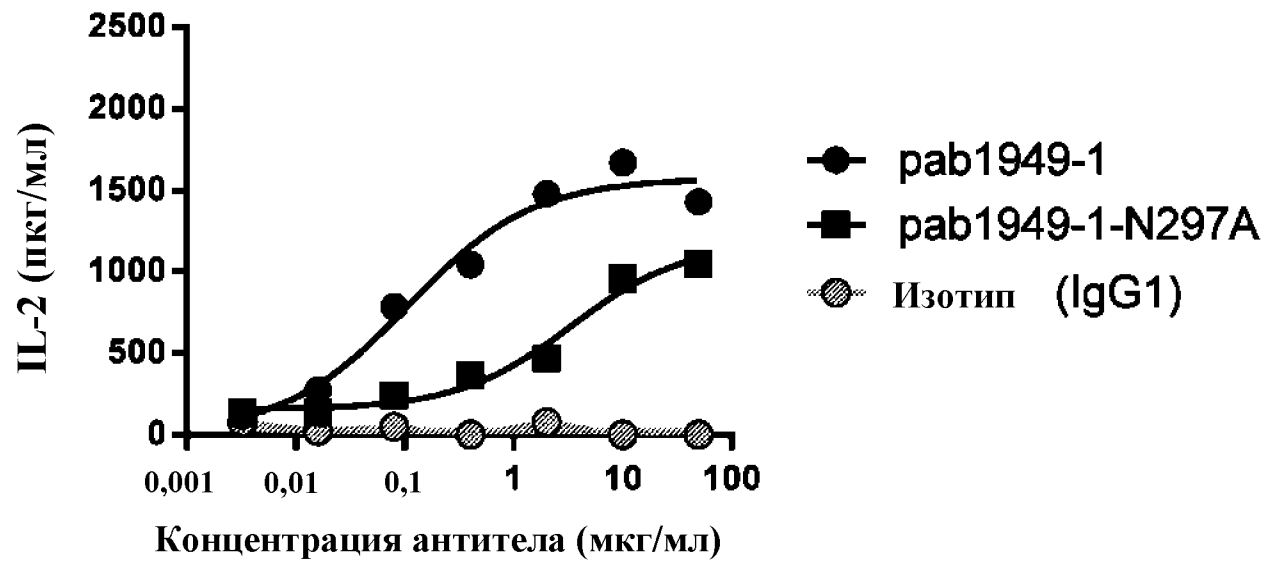
Фигура 10Е



Фигура 10F

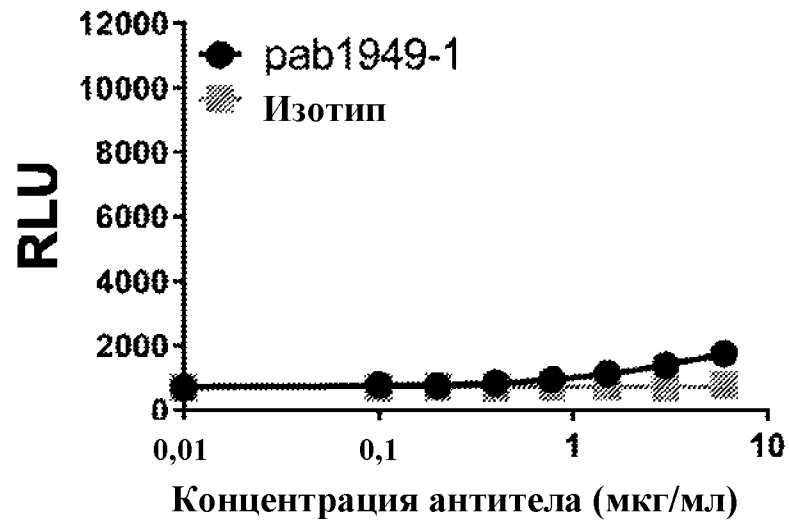


Фигура 10G



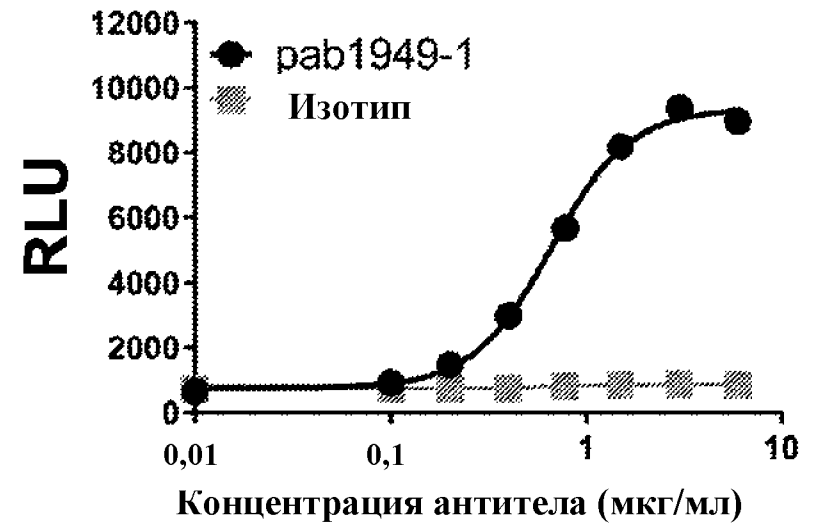
Фигура 11А

В растворимом состоянии



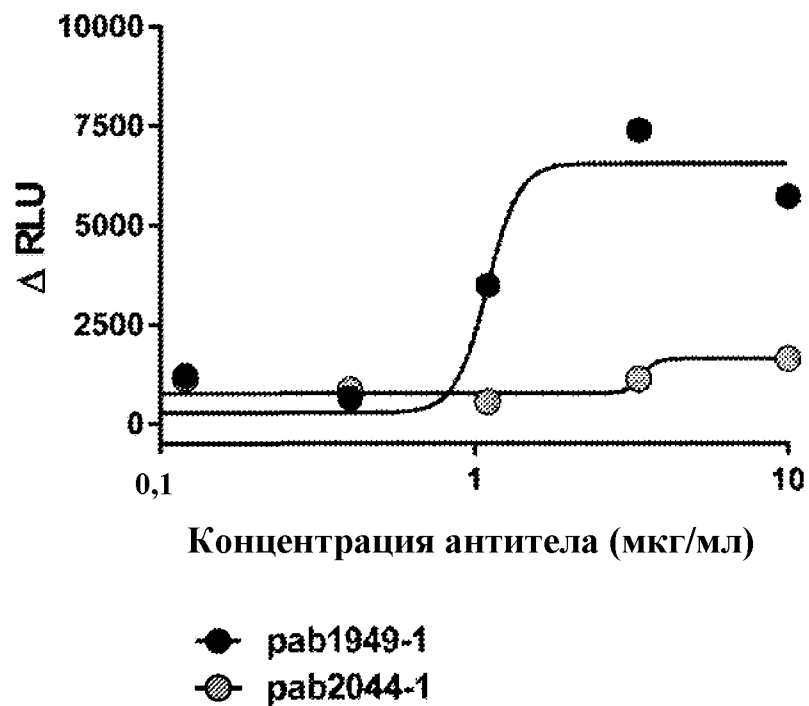
Фигура 11В

В связанном в комплекс состоянии



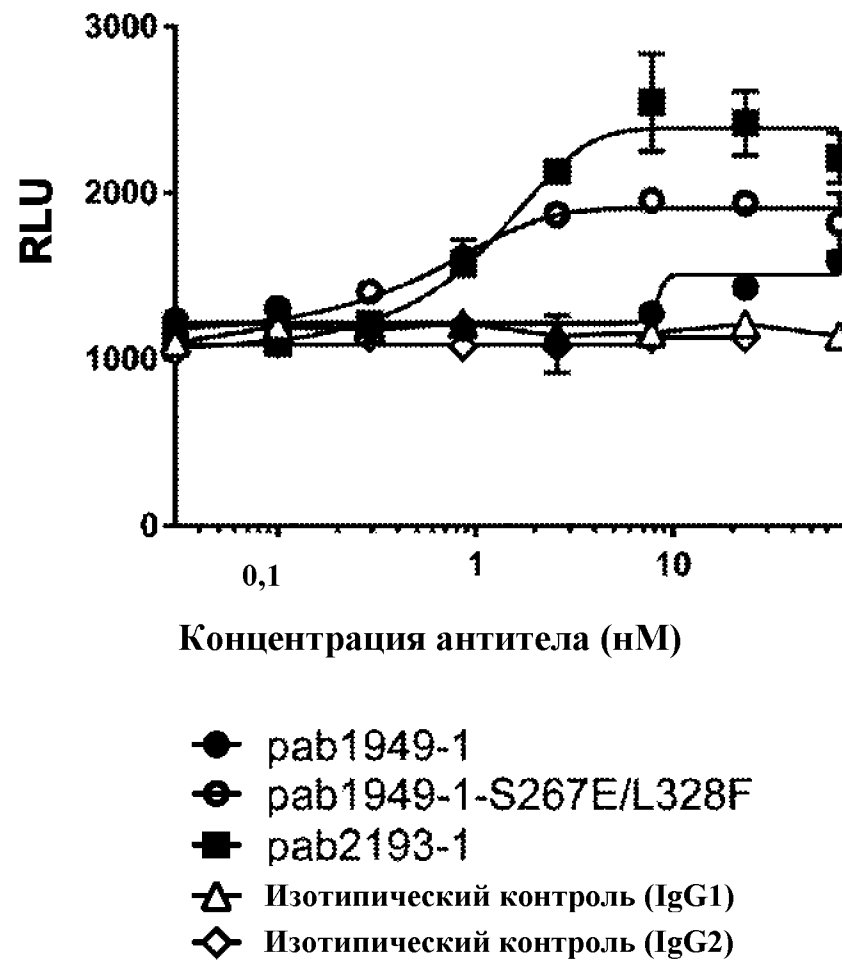
Фигура 12А

FcγRIIIA

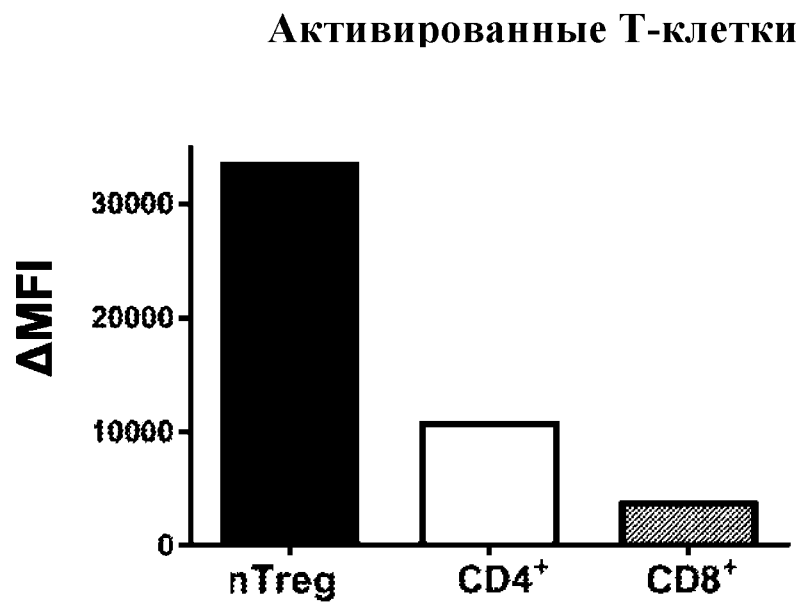


Фигура 12В

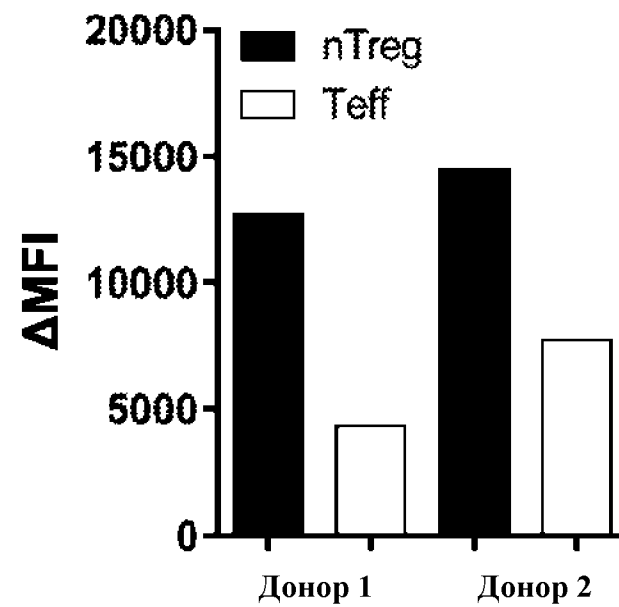
Вариант FcγRIIAH131



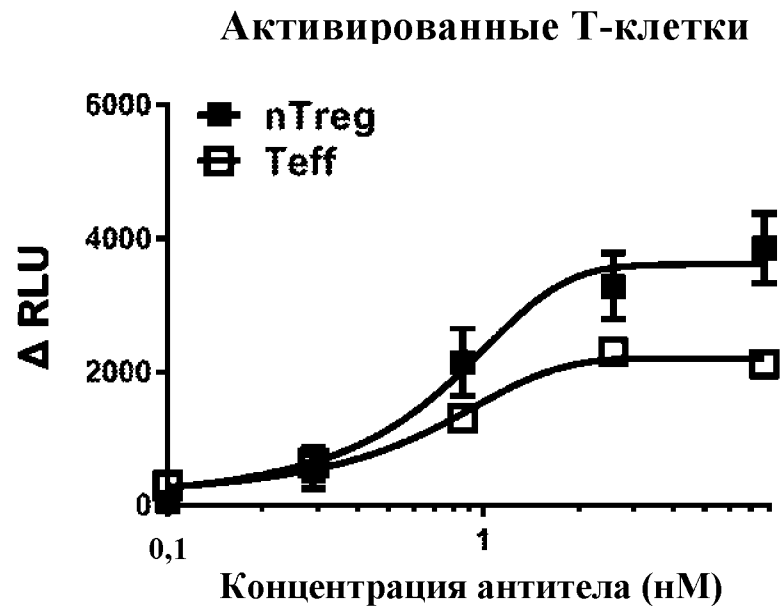
Фигура 13А



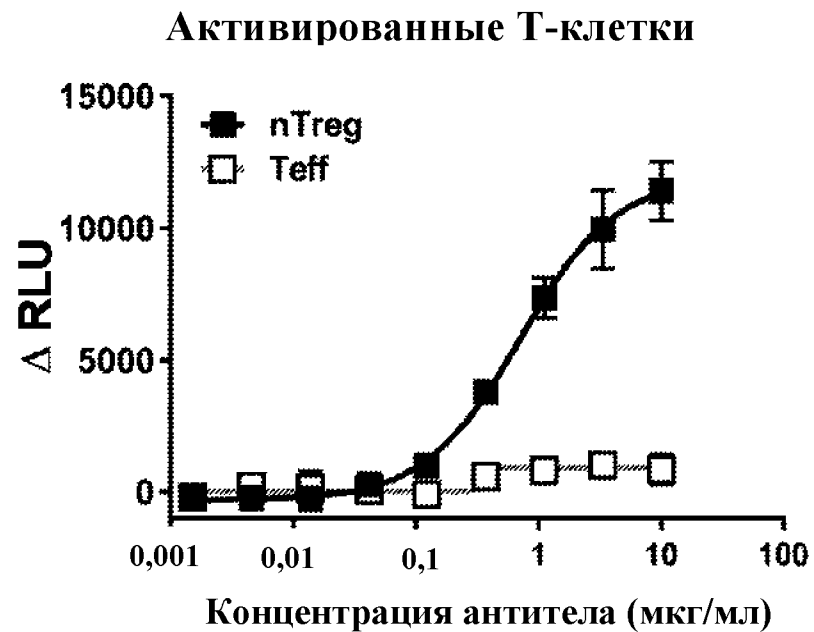
Фигура 13В



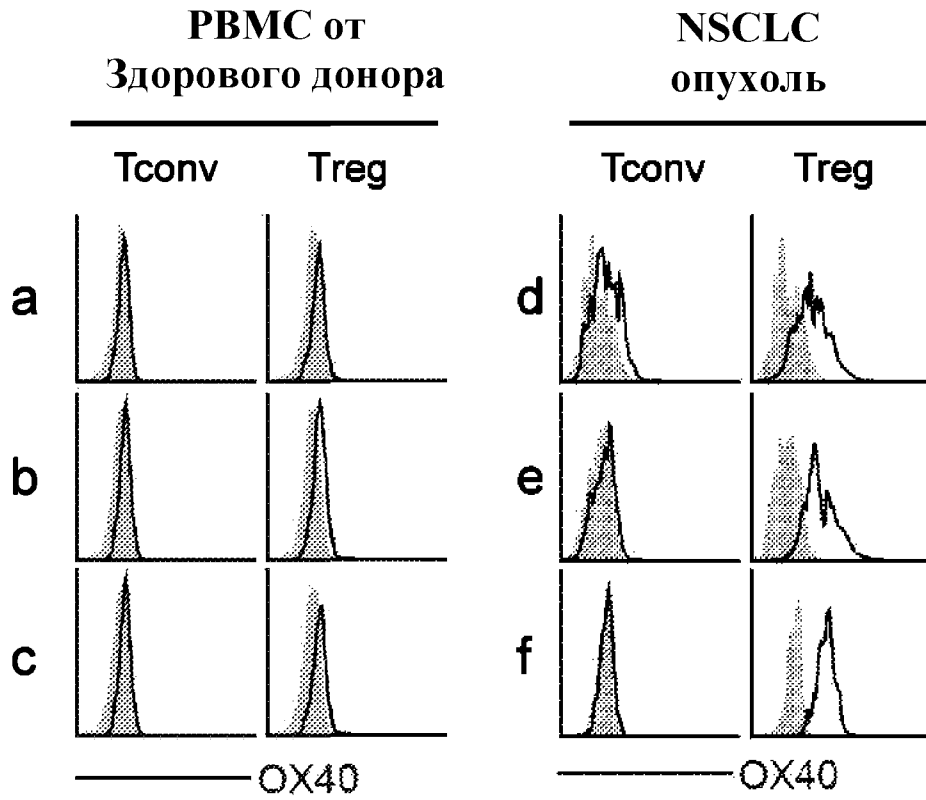
Фигура 13С



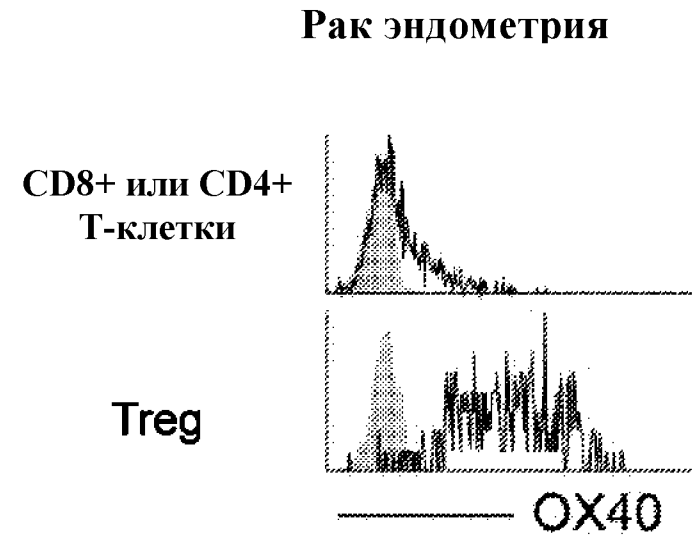
Фигура 13D



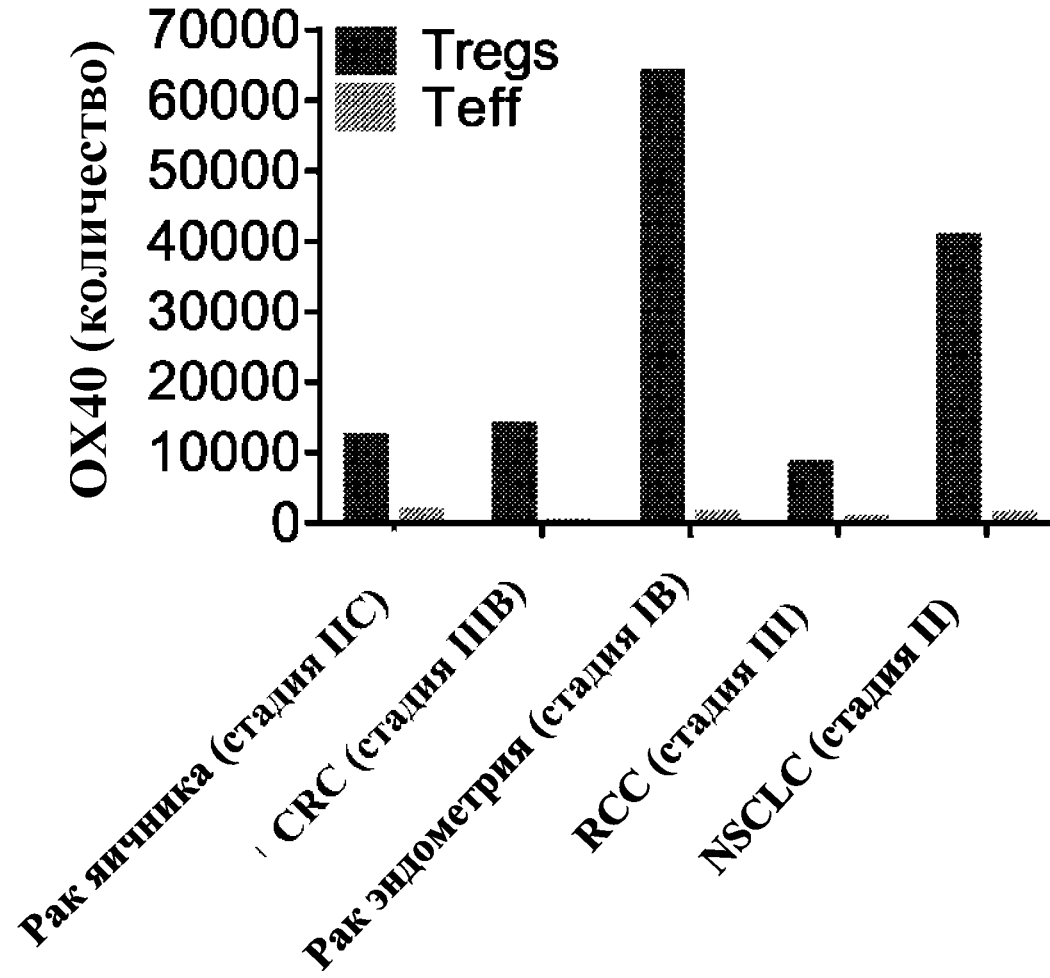
Фигура 14А



Фигура 14В



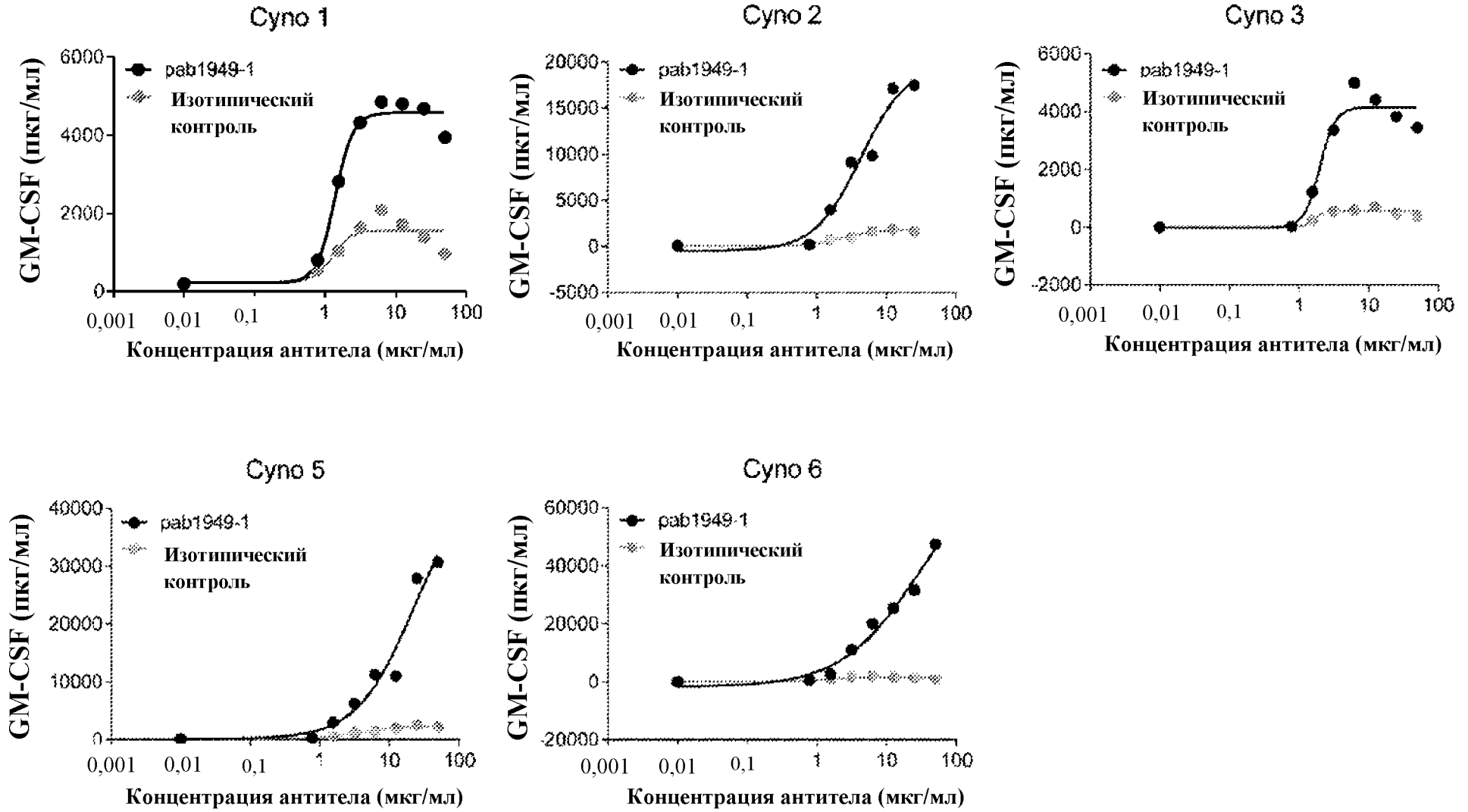
Фигура 14С



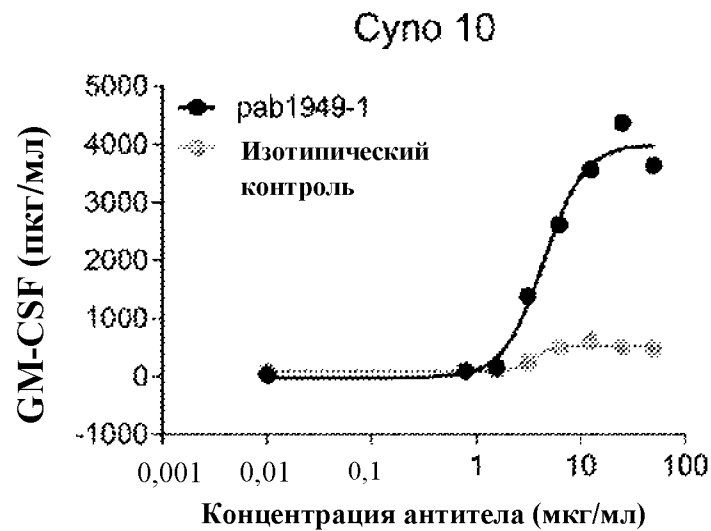
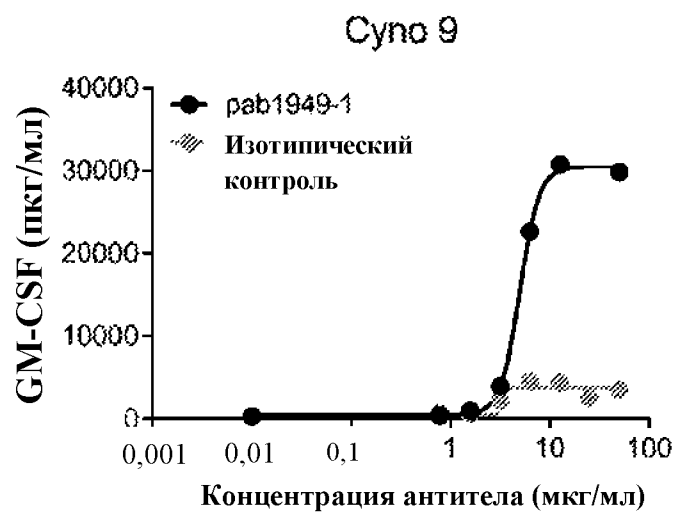
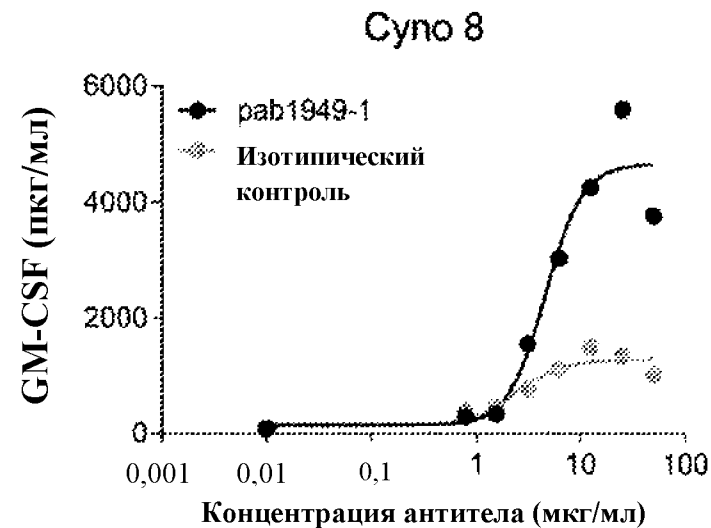
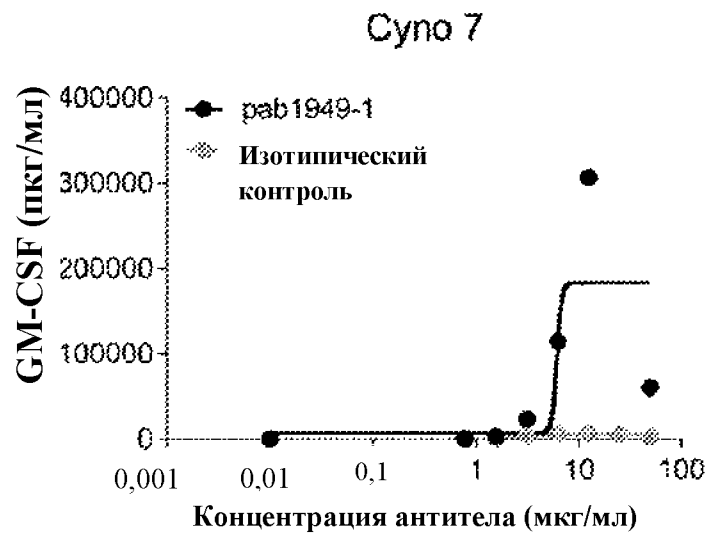
Фигура 14D

Признак	Образцы (n)	CD4⁺ клетки	Регуляторные Т-клетки
NSCLC	4	+/-	+++
Рак эндометрия	2	+/-	+++
Колоректальный рак	2	-	+
Рак молочной железы	2	-	+
Рак яичника	1	-	++
Почек	1	-	+

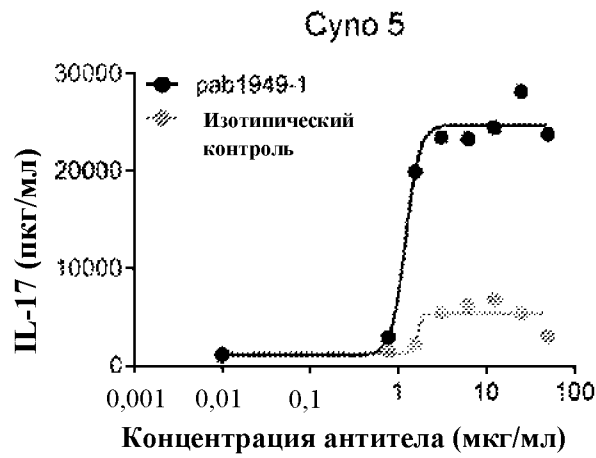
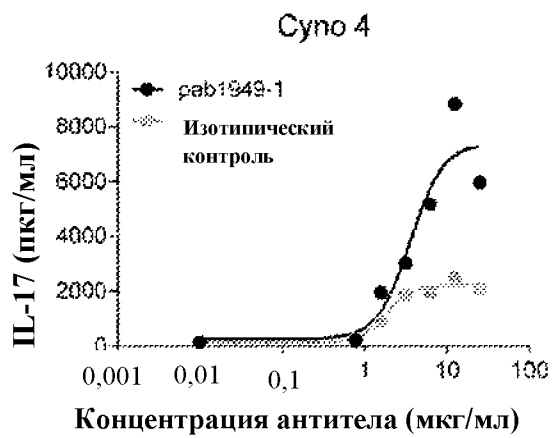
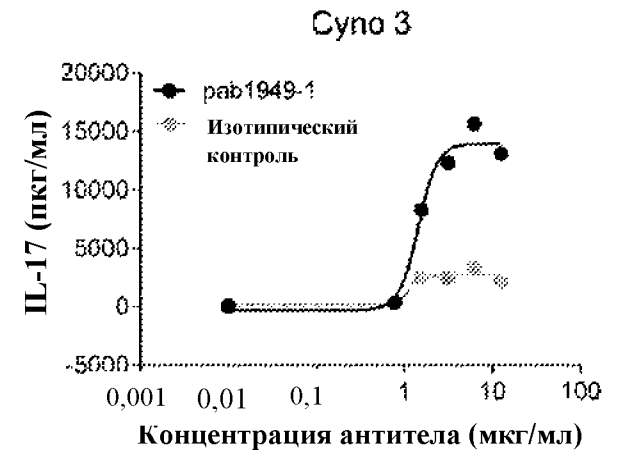
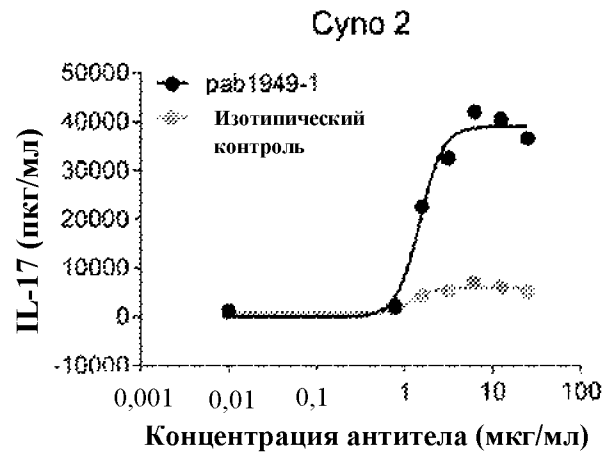
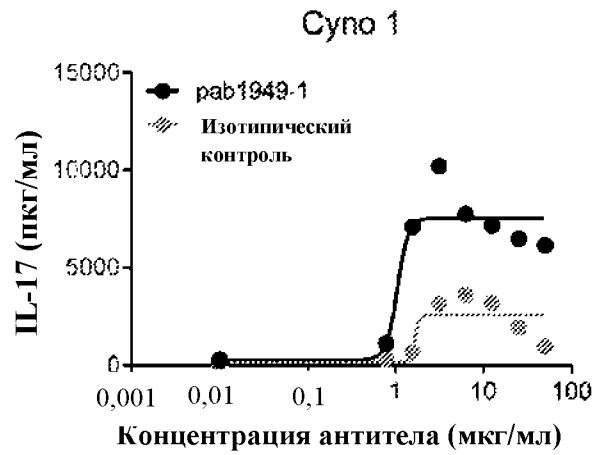
Фигура 15А



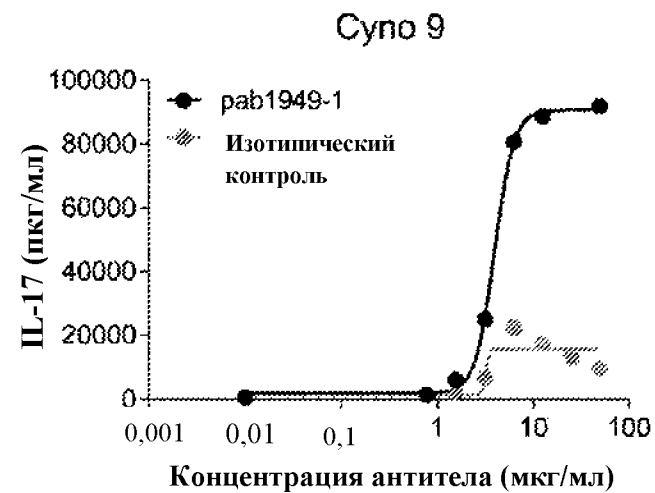
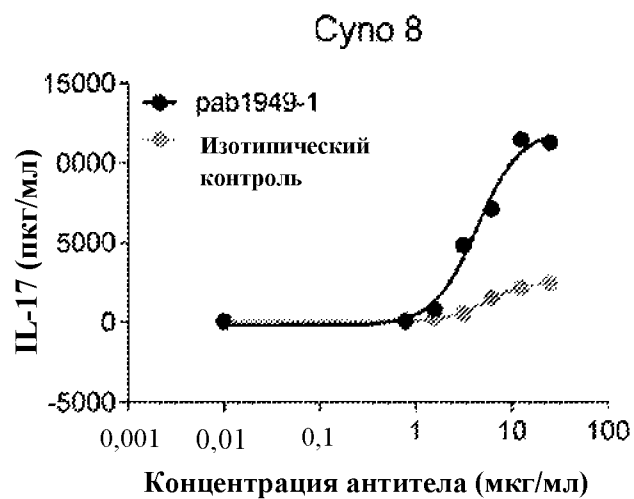
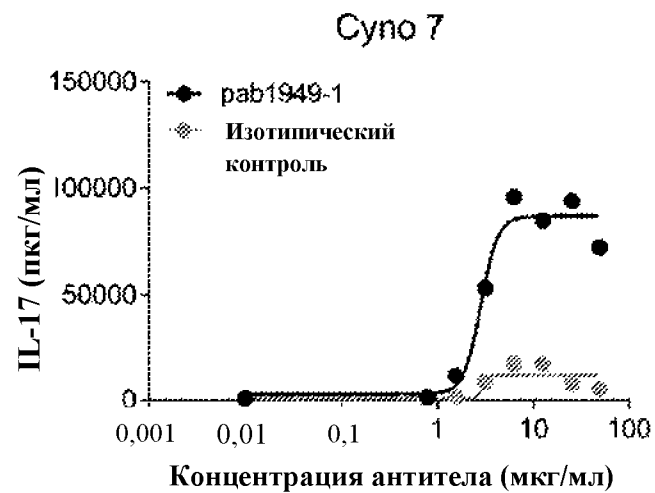
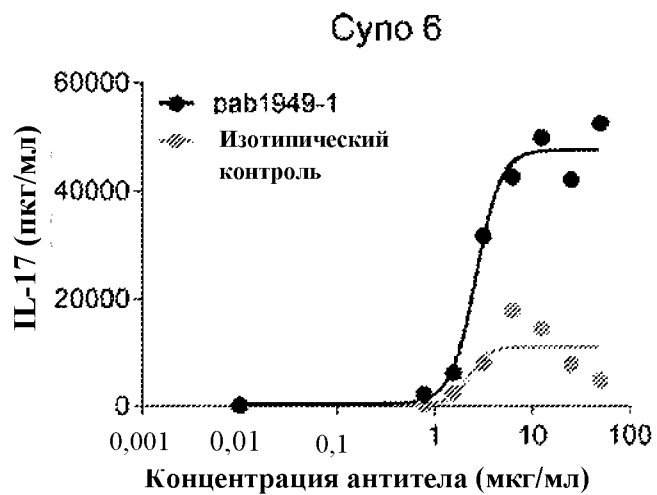
Фигура 15В



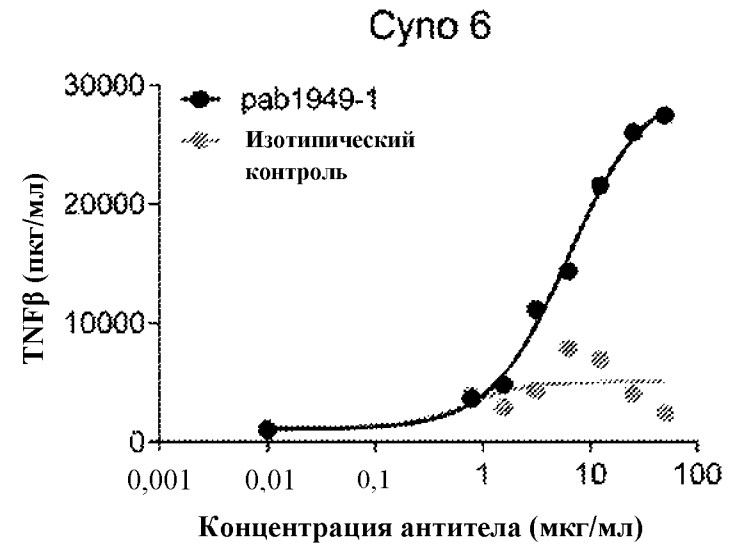
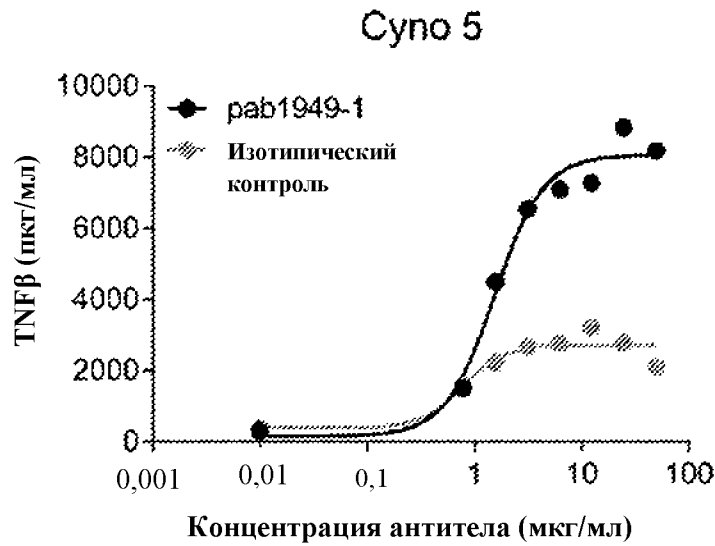
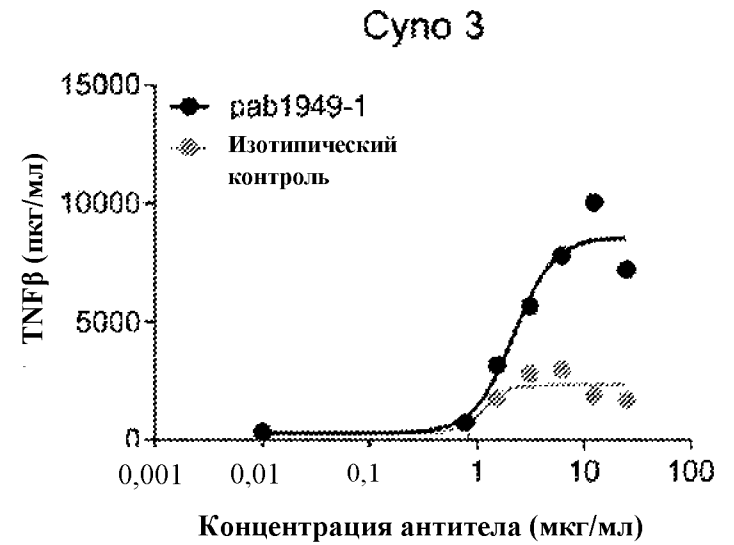
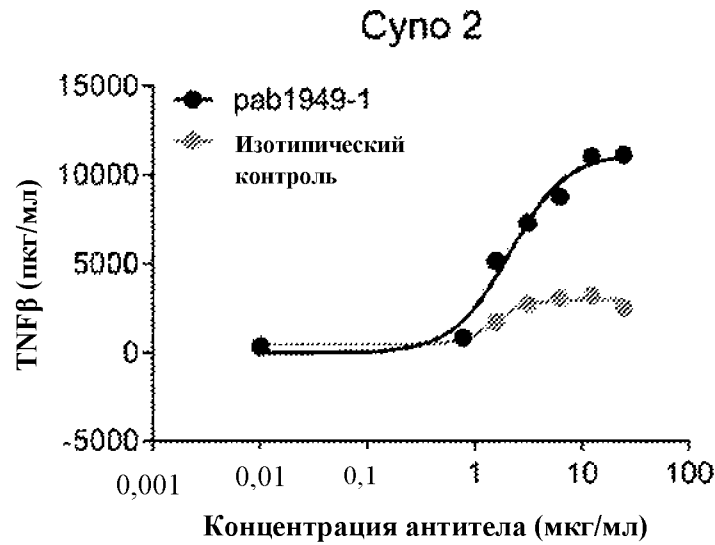
Фигура 16А



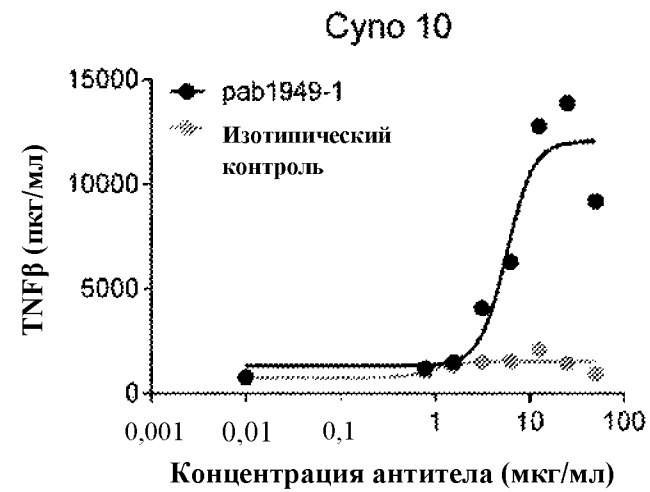
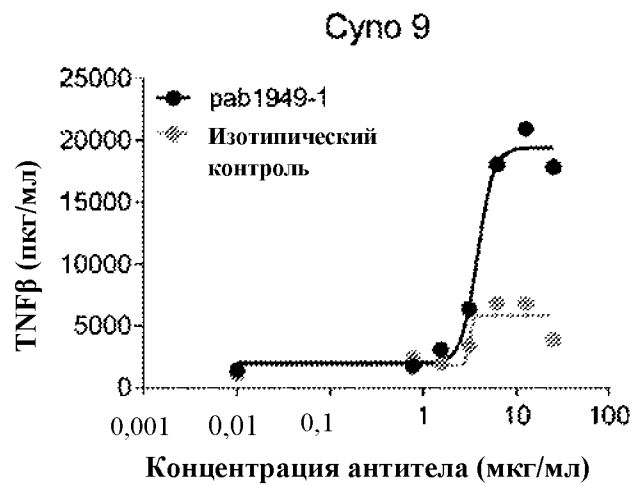
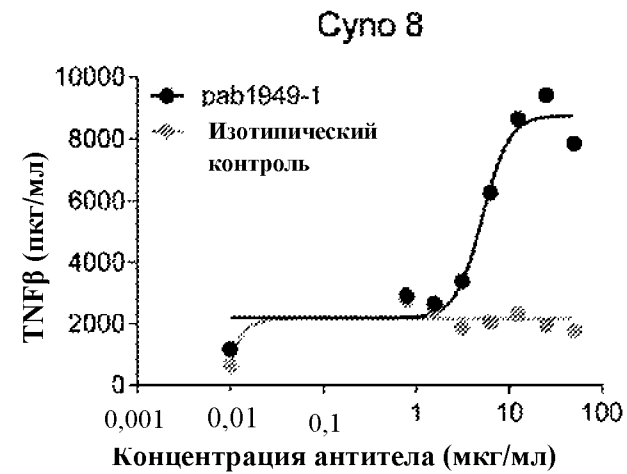
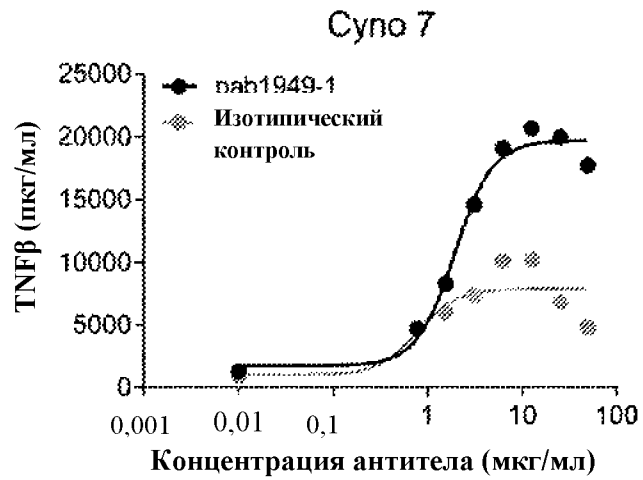
Фигура 16В



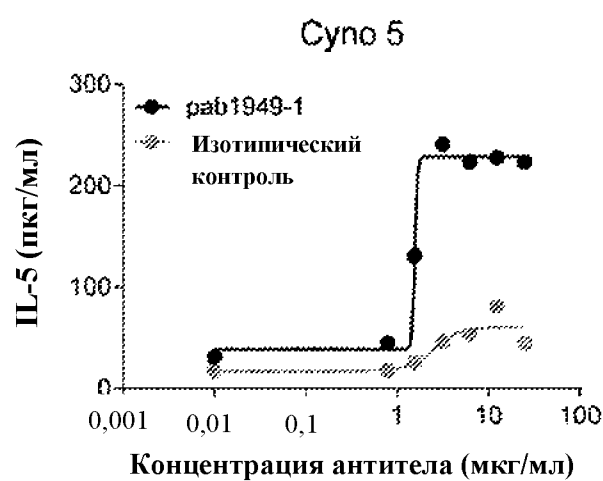
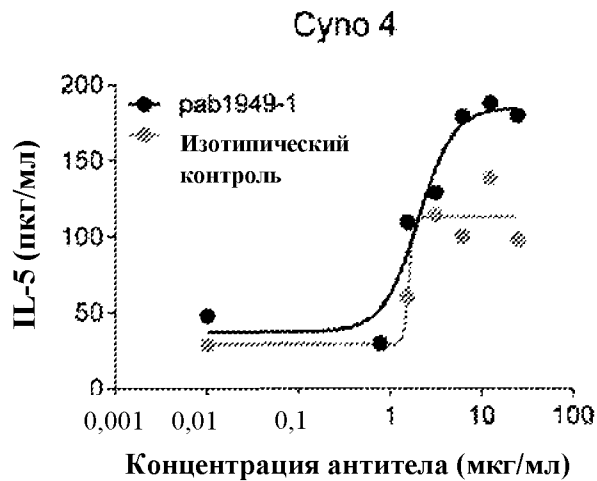
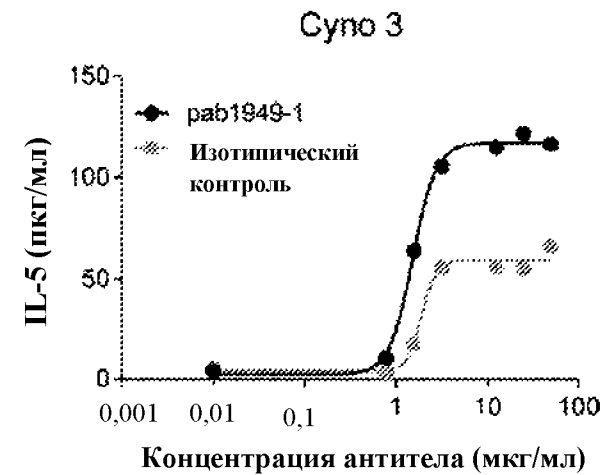
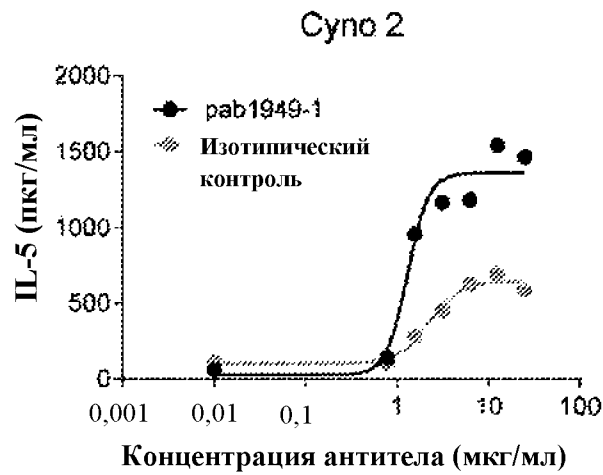
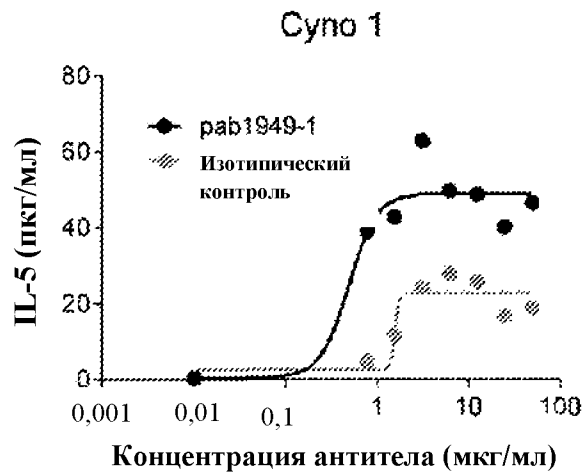
Фигура 17А



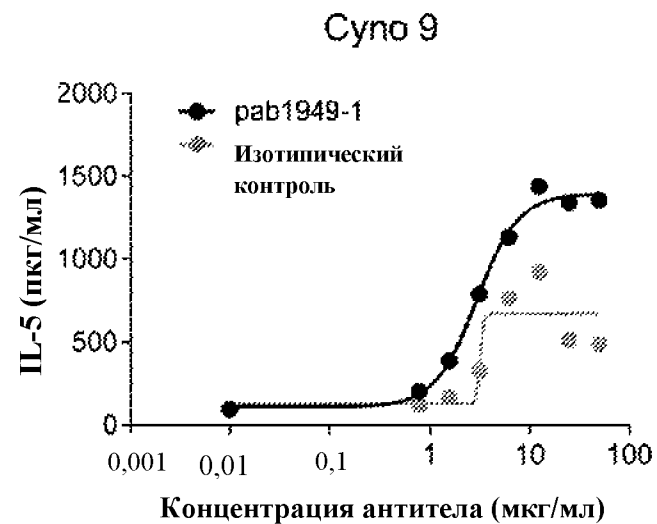
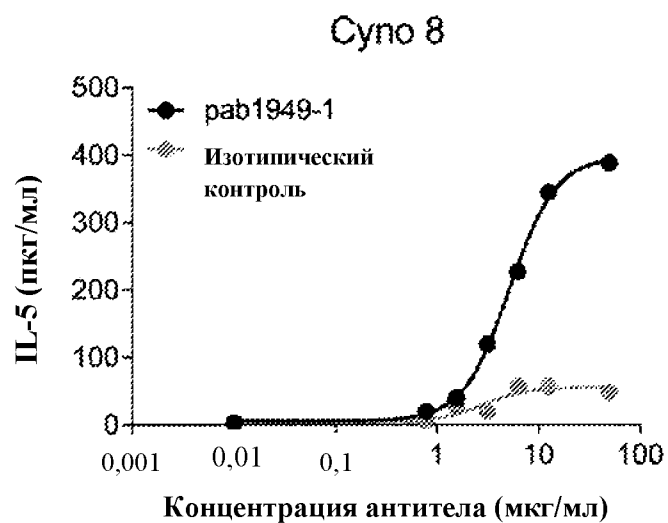
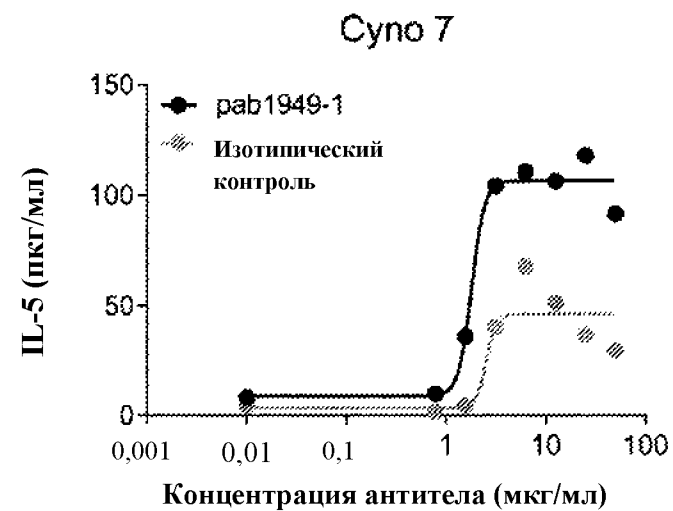
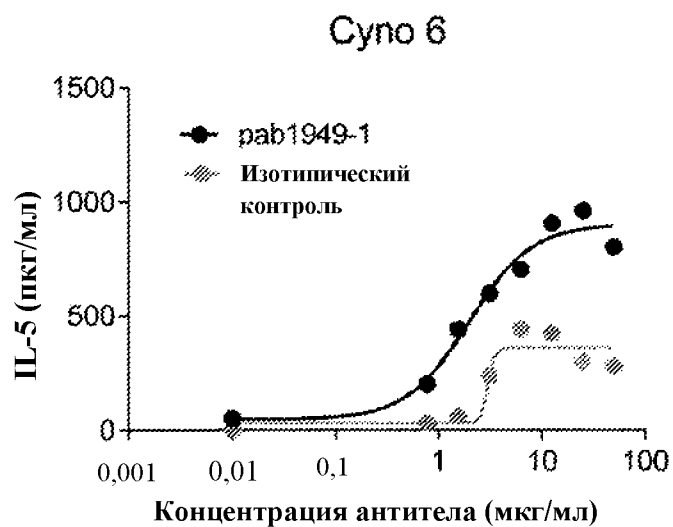
Фигура 17В



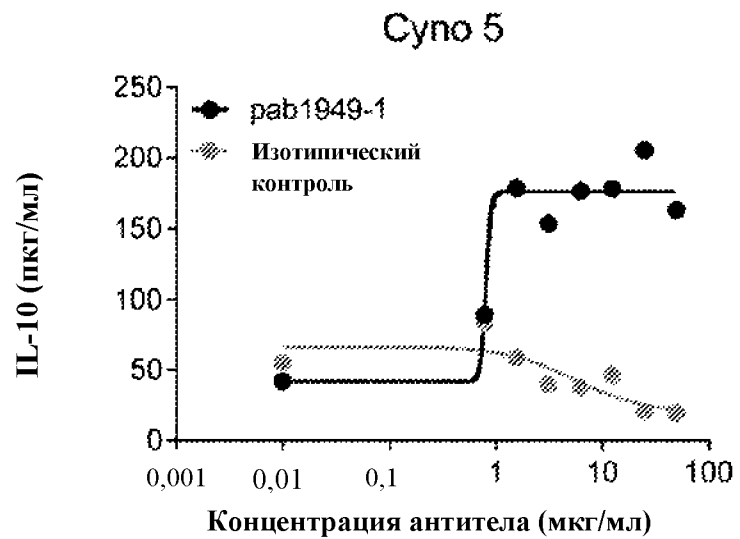
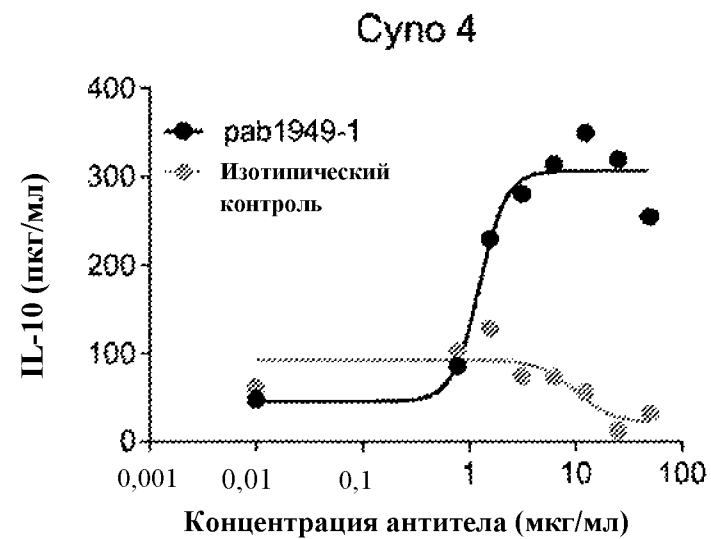
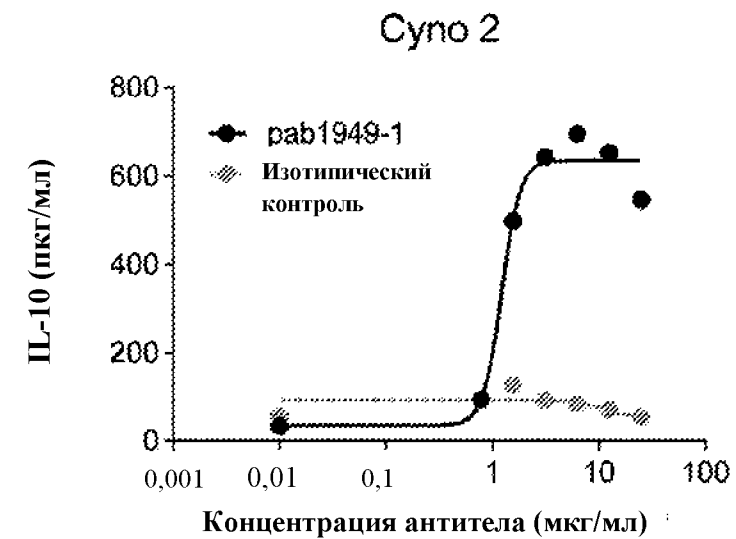
Фигура 18А



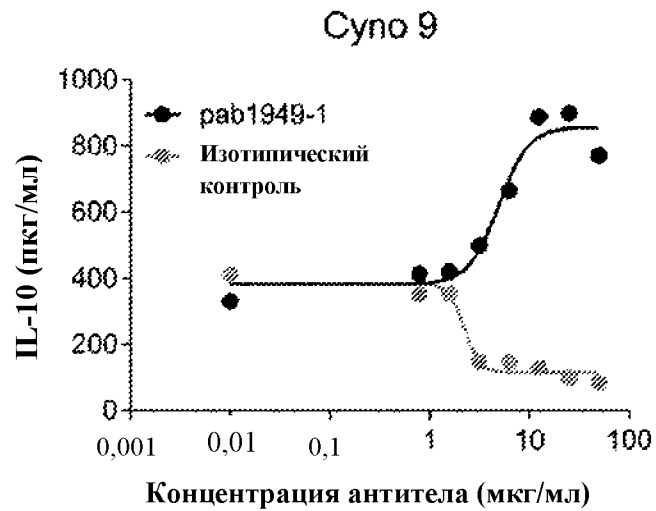
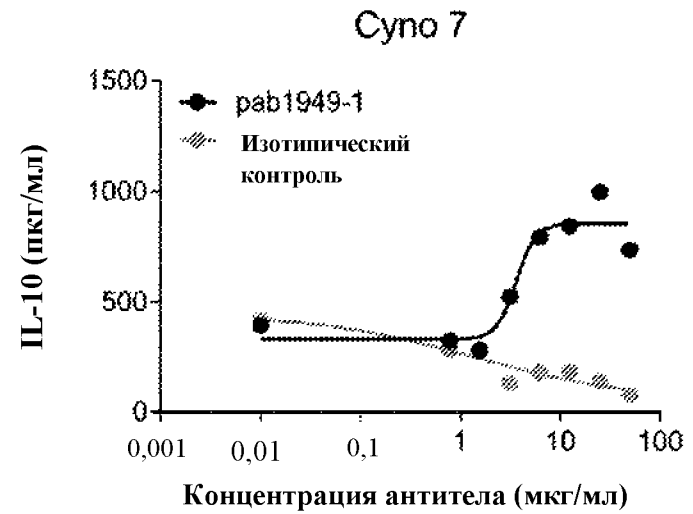
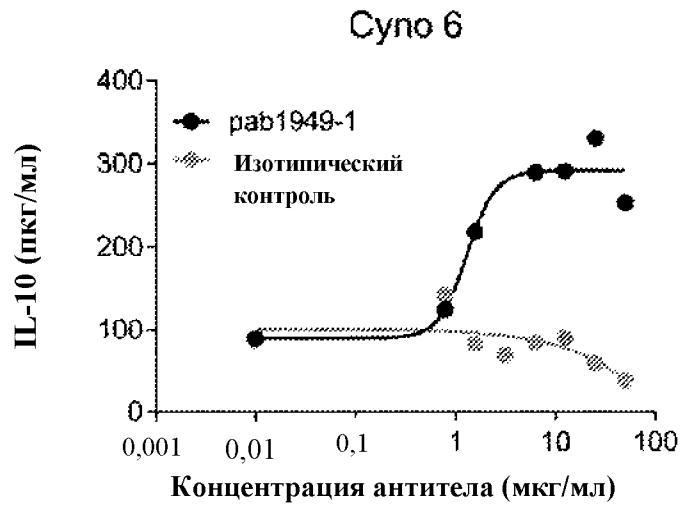
Фигура 18В



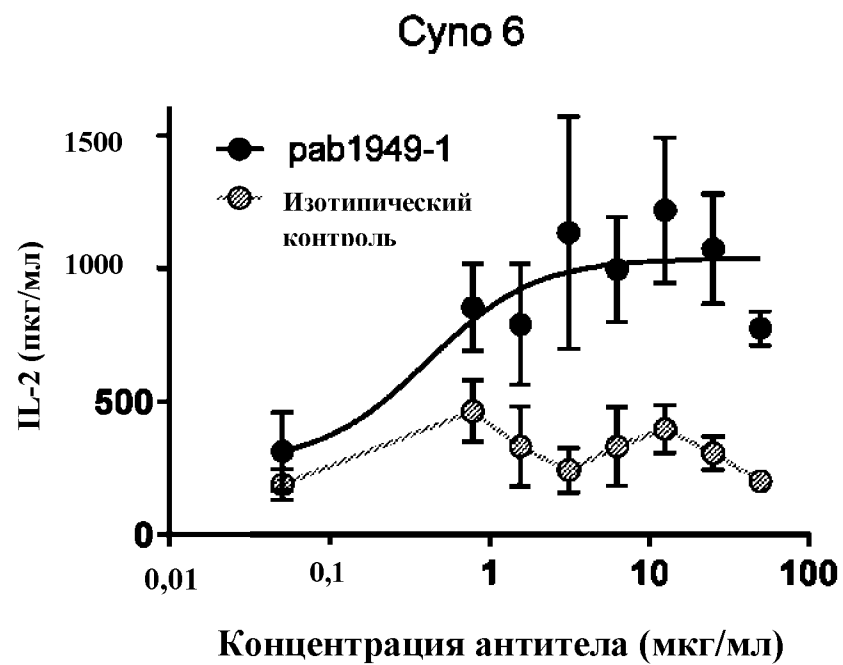
Фигура 19А



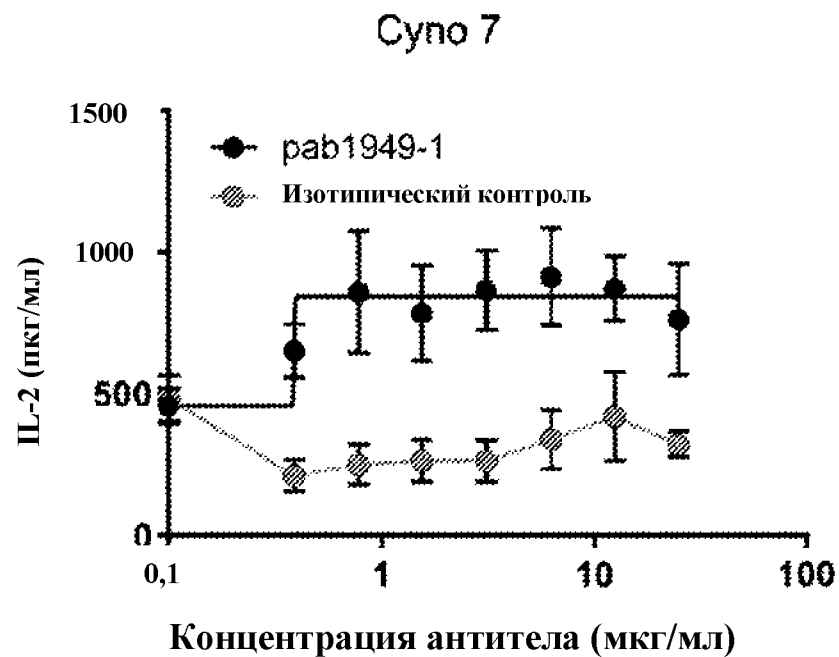
Фигура 19В



Фигура 20А



Фигура 20В



Фигура 21

	pab1949-1	pab1928
W58A	-	-
N60A	-	+
R62A	-	+
R80A	-	+
L88A	-	+
P93A	-	+
P99A	-	+
P115A	-	+