

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392115 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.12.06(51) Int. Cl. A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2022.02.08

(54) НОВЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ CD24

(31) PCT/CN2021/076075; 202210088172.3

(32) 2021.02.08; 2022.01.25

(33) CN

(86) PCT/US2022/015711

(87) WO 2022/170280 2022.08.11

(88) 2022.09.09

(71) Заявитель:
АНТЕНДЖИН БАЙОЛОДЖИКС
ЛИМИТЕД (CN)

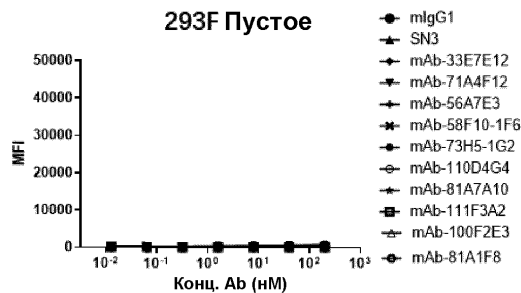
(72) Изобретатель:

Чэнь Пэн, Хоу Бин, Дэн Минь, Лю
Юнь, Ло Цзямэй, Юйвэнь Хуэй, Шань
Бо, Мэй Джей (CN)

(74) Представитель:

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

(57) Согласно настоящему изобретению предложены молекулы антитела против CD24 и биспецифичного антитела против CD24/CD47, выделенные полинуклеотиды, кодирующие такие антитела, фармацевтические композиции, содержащие такие антитела, и применения таких антител.



A1

202392115

202392115

A1

НОВЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ CD24

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее раскрытие в общем относится к новым антителам против CD24.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Кластер дифференциации 24 (CD24, UniProt: P25063), также известный как термостабильный антиген (HSA) или антиген кластера 4 мелкоклеточной карциномы легкого, представляет собой муциноподобную молекулу из 32 аминокислот, заякоренную гликозилфосфатидилинозитолом (GPI), которая является сильно гликозилированной и заякоренной посредством GPI связи с клеточной поверхностью. CD24 может взаимодействовать с лектином 10, подобным Ig, связывающемуся с сиаловой кислотой (Siglec-10), экспрессируемым на клетках врожденного иммунитета (например, макрофагах), таким образом, чтобы уменьшать повреждающие воспалительные ответы на инфекцию, сепсис, повреждение печени и хроническое заболевание «трансплантат против хозяина» (*Pirruccello et al., J. Immunol. 136, 3779–3784 (1986); Chen et al., Glycobiology 9, 800–806 (2014); Chen et al., Cell 152(3), 467–478; Chen GY et al. Nature Biotechnology 29, 428–435 (2011); Chen GY et al. Science 323 (5922), 1722–1725 (2009) и Toubai T et al. Blood 123(22), 3512–3513 (2014)*). Связывание CD24 с Siglec-10 индуцирует ингибирующий сигнальный каскад, опосредованный фосфатазами SHP-1 и/или SHP-2, ассоциированными с двумя ингибирующими иммунорецепторными тирозиновыми мотивами (ITIM), в цитоплазматическом хвосте Siglec-10, блокируя, посредством этого, воспаление, опосредованное Toll-подобным рецептором (TLR), и реорганизацию цитоскелета, требующуюся для поглощения клеток макрофагами (*Crocker PR et al., Nature Reviews Immunology. 7, 255–266 (2007); Abram CL et al., J. Leuko.c Biol. 102(3), 657–675 (2017) и Dietrich J et al., J. Immunol. 166(4), 2514–2521 (2001) 12-14*).

На основе иммуногистохимических исследований сверхэкспрессию CD24 наблюдали в разных раковых клетках, включая, без ограничения, клетки рака молочной железы (85%), рака прямой кишки (84%), рака яичника (83%), рака поджелудочной железы (72%), рака мочевого пузыря (62%), холангиосаркомы (51%), рака предстательной железы (48%) и мелкоклеточного рака легкого (45%). Метаанализ 28 исследований выявил то, что CD24 сверхэкспрессируется при 68% раковых заболеваний

человека, и экспрессия CD24 коррелировала с большей способностью к самообновлению, большим числом метастазов и плохим прогнозом (*Krisiansen G. et al., Am J Pathol, 161:1215-1221, 2002; Krisiansen G. et al., Clin cancer Res, 9:4906-4913, 2003; Krisiansen G. et al., Br J Cancer, 88:231-236, 2003; Kristiansen G. et al., Prostate, 58:182-192, 2004; Hocob J. et al., Pancreatology, 4:454-460, 2004; Samuel E D, BioMed Central, 3:3-15, 2004; Min-Cheng S. et al., Cancer letter, 1-6, 2005 и Lee et al., Oncol. Rep. 2009, 22, 1149-1156*). Недавнее исследование продемонстрировало то, что опосредованное CD24 ингибирование врожденной иммунной системы может использоваться раковыми клетками в качестве механизма избегания клиренса макрофагами, экспрессирующими Siglec-10 (*Amira et al., Nature. 2019 August; 572(7769): 392–396*).

Несмотря на разработку терапевтических средств, нацеленных на CD24, имеется значительная потребность в новых антителах против CD24.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Во всем настоящем раскрытии термины в единственном числе используются здесь для ссылки на один или более чем один (т.е. на по меньшей мере один) грамматический объект предмета. В качестве примера, «антитело» означает одно антитело или более чем одно антитело.

Согласно настоящему раскрытию предложены молекулы нового антитела против CD24, их аминокислотные и нуклеотидные последовательности, и их применения.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложено выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащие 1, 2 или 3 последовательности области, определяющей комплементарность (CDR), тяжелой цепи, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 95, 96, 97, 104, 105, 106, 113, 114, 115, 126, 127, 128, 136, 137, 150, 151, 152, 160, 161, 162, 168, 169, 170, 222, 223 и 224 и/или 1, 2 или 3 последовательности CDR легкой цепи, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 15, 20, 22, 24, 26, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 98, 99, 100, 107, 108, 116, 117, 129, 130, 131, 138, 139, 140, 145, 153, 154, 155, 163, 171, 172, 173, 184, 185, 186, 187, 188, 225, 226 и 227.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

а) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 5;

б) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 11;

в) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 11;

г) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18;

д) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 23;

е) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28;

ж) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 28;

з) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 36;

и) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40 и SEQ ID NO: 42;

й) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 48;

к) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97;

л) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106;

м) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114 и SEQ ID NO: 115;

н) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127 и SEQ ID NO: 128;

о) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 137;

п) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151 и SEQ ID NO: 152;

р) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 161 и SEQ ID NO: 162;

с) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 170; и

т) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223 и SEQ ID NO: 224.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

а) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 6;

б) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 12;

в) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 15;

г) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

д) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

е) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 31;

ж) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 37;

з) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 и SEQ ID NO: 43;

и) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47 и SEQ ID NO: 49;

й) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100;

к) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

л) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 117;

м) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130 и SEQ ID NO: 131;

н) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139 и SEQ ID NO: 140;

о) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 145 и SEQ ID NO: 24;

п) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

р) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

с) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172 и SEQ ID NO: 173;

т) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

у) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ф) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

х) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ц) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37; и

ч) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 227.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит следующее:

а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 5; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 6;

б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 11; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 12;

в) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 11; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 15;

г) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 15;

д) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 23; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

е) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO:

28; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

ж) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 28; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 31;

з) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 36; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 37;

и) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40 и SEQ ID NO: 42; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 и SEQ ID NO: 43;

й) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 48; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47 и SEQ ID NO: 49;

к) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100;

л) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

м) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114 и SEQ ID NO: 115; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3

последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 117;

н) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127 и SEQ ID NO: 128; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130 и SEQ ID NO: 131;

о) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 137; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139 и SEQ ID NO: 140;

п) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 28; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 145 и SEQ ID NO: 24;

р) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151 и SEQ ID NO: 152; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

с) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 161 и SEQ ID NO: 162; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

т) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 170; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172 и SEQ ID NO: 173;

у) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ф) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

х) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ц) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ч) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37 или

ш) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223 и SEQ ID NO: 224; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 227.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58,

SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194 и гомологичных последовательностей с по меньшей мере 80%-ной (например, по меньшей мере 85%-ной, 88%-ной, 90%-ной, 91%-ной, 92%-ной, 93%-ной, 94%-ной, 95%-ной, 96%-ной, 97%-ной, 98%-ной, 99%-ной) идентичностью последовательности с ними.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 221 и гомологичных последовательностей с по меньшей мере 80%-ной (например, по меньшей мере 85%-ной, 88%-ной, 90%-ной, 91%-ной, 92%-ной, 93%-ной, 94%-ной, 95%-ной, 96%-ной, 97%-ной, 98%-ной, 99%-ной) идентичностью последовательности с ними.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит следующее:

а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 50, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 52;

б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 54, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 56;

в) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 58, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 64;

г) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 62, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 64;

д) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 66, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 68;

ббб) переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 200;

ввв) переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 201;

ггг) переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 202; или

ддд) переменную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и переменную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 203.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержит одну или более чем одну замену или модификацию аминокислотного остатка, при этом все еще сохраняет аффинность специфического связывания с человеческим CD24 или CD24 яванского макака.

В некоторых воплощениях данная замена происходит в одной или более чем одной последовательности CDR и/или в одной или более чем одной последовательности VH или VL, но не в любой из последовательностей CDR.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент дополнительно содержит константную область иммуноглобулина, возможно константную область человеческого Ig или возможно константную область человеческого IgG.

В некоторых воплощениях данная константная область содержит константную область человеческого IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным или гуманизированным.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент представляет собой диатело, Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, фрагмент Fv, фрагмент Fv, стабилизированный дисульфидом (dsFv), (dsFv)₂, биспецифичный dsFv (dsFv-dsFv'), стабилизированное дисульфидом диатело (ds диатело), молекулу одноцепочечного антитела (scFv), димер scFv (двухвалентное диатело), мультиспецифичное антитело, камелизированное однодоменное антитело, нанотело, доменное антитело, двухвалентное доменное антитело.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является биспецифичным.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способны к специфичному связыванию с первым и вторым эпитопом CD24 или способны к специфичному связыванию с CD24 и вторым антигеном.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается со вторым антигеном посредством Fab или scFv, возможно связывается с CD24 посредством Fab или связывается со вторым антигеном посредством scFv.

В некоторых воплощениях молекула биспецифичного антитела содержит тяжелую цепь в формате VH(против CD24)-CH1-шарнир-CH2-CH3-спейсер-второй антигенсвязывающий scFv, ассоциированный с легкой цепью в формате VL(против CD24)-CL.

В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой связанную с иммунитетом мишень, возможно выбранную из группы, состоящей из следующих: PD-L1 (лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1), PD-L2 (лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 2), PD-1 (рецептор белка программируемой клеточной гибели), CTLA-4 (цитотоксический белок-4, ассоциированный с Т-лимфоцитами), TIM-3 (Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина-3), LAG3 (белок активации лимфоцитов-3), CD160, 2B4 (рецептор естественных киллеров), TGF β (трансформирующий фактор роста β), VISTA (Ig-супрессор V-домена активации Т-клеток), BTLA (В- и Т-лимфоцитарный аттенуатор), TIGIT (Т-клеточный рецептор с доменами иммуноглобулина и ITIM (ингибирующий мотив иммунорецептора на основе тирозина)), LAIR1 (иммуноглобулино-подобный рецептор, ассоциированный с лейкоцитами, тип 1), OX40 (лиганд рецептора из надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли), CD2, CD27, ICAM-1 (молекула клеточной адгезии), NKG2C (интегральный мембранный белок), SLAMF7 (мембранный белок CD319), NKp80 (лектин-подобный рецептор надсемейства F клеток-киллеров), CD160, B7-H3 (белок контрольной точки), LFA-1 (антиген, ассоциированный с функцией лимфоцитов-1), ICOS (белок контрольной точки), 4-1BB (представитель надсемейства лигандов фактора некроза опухоли), GITR (белок, родственник семейству индуцируемых глюкокортикоидами рецепторов фактора некроза опухоли), CD30, CD40, BAFFR (рецептор фактора, активирующего В-лимфоциты), HVEM (медиатор проникновения вируса герпеса), CD7, LIGHT, IL-2, IL-15, CD3, CD16, SIRP α (сигнальный регуляторный

белок α), Siglec 10, LILRB2 (мембранный белок 2 семейства иммуноглобулиноподобных рецепторов B), Clever-1, Macro, LILRB4 (мембранный белок 4 семейства иммуноглобулиноподобных рецепторов B), Siglec15, CSF1R (рецептор колониестимулирующего фактора 1), PSGL-1 (гликопротеиновый лиганд P-селектина 1), VSIG-4 (V-набор и иммуноглобулиновый домен, содержащий 4), B2M и CD83.

В некоторых воплощениях второй антиген содержит опухолевый антиген.

В некоторых воплощениях данный опухолевый антиген содержит CA-125, ганглиозиды G(D2), G(M2) и G(D3), CD19, CD20, CD33, CD47, CD52, Ep-CAM, CEA, CLDN18.2 (клаудин), пептиды, подобные бомбезину, PSA (протеостатический специфический антиген), HER2/neu, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), erbB2, erbB3/HER3, erbB4, CD44v6, CD44v9, Ki-67, муцин, ассоциированный с раковым заболеванием, VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), VEGFR (рецептор фактора роста эндотелия сосудов) (например, VEGFR3), рецепторы эстрогена, антиген Льюиса-Y, TGF β 1 (трансформирующий фактор роста β 1), рецептор IGF-1, EGF α , рецептор c-Kit, рецептор трансферрина, IL-2R, CDH6, CEA, FOLR1 (рецептор фолиевой кислоты), TROP2 (связанный с опухолью преобразователь сигнала кальция 2), PTK7 (тирозин-протеинкиназа-подобная 7), SLITRK6, CD142, NECTIN-4, ROR1 (трансмембранная рецепторная протеинтирозинкиназа 1), ROR2 (трансмембранная рецепторная протеинтирозинкиназа 2), CD142, CD123, CD22, CD79b, DLL3 (дельта-подобный белок-3), семейство SLC или CO17-1A.

В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой иммуноингибирующую молекулу, выбранную из группы, состоящей из PD-L1, SIRP α , CD47 и B2M.

В некоторых воплощениях опухолевый антиген представляет собой CD47.

В некоторых воплощениях антители или антигенсвязывающий фрагмент связан с одним или более чем одним конъюгатом, возможно, где данный конъюгат ковалентно присоединен либо непосредственно, либо через линкер.

В некоторых воплощениях данный конъюгат содержит агент, модифицирующий клиренс, химиотерапевтический агент, токсин, радиоактивный изотоп, лантанид, люминисцентную метку, флуоресцентную метку, метку фермент-субстрат, ДНК-алкилирующие агенты, ингибитор топоизомеразы, связыватели тубулина или другие противораковые лекарственные средства.

В некоторых воплощениях данное антитело или антигенсвязывающий фрагмент способны к специфичному связыванию с CD24 и, возможно, где CD24 происходит от человека или яванского макака, и, возможно, где CD24 представляет собой рекомбинантный CD24 или CD24, экспрессируемый на поверхности клетки.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за тот же самый эпитоп с предложенным здесь антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конкурирует за тот же самый эпитоп с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим следующее: переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где LCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 107, 184, 185, 186, 187 и 188, и LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108, и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конкурирует за тот же самый эпитоп с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим следующее: переменная область тяжелой цепи, содержащая HCDR1, HCDR2 и HCDR3 SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответственно; и переменная область легкой цепи, содержащая LCDR1, LCDR2 и LCDR3 SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100 соответственно.

В некоторых воплощениях предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент селективно связывается с CD24, экспрессируемым в раковой клетке, по сравнению с нераковой клеткой.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложена фармацевтическая композиция, содержащая предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых воплощениях предложенная здесь фармацевтическая композиция дополнительно содержит второе терапевтическое средство.

В некоторых воплощениях данное второе терапевтическое средство является антагонистическим против одной или более чем одной иммуноингибирующей молекулы.

В некоторых воплощениях второе терапевтическое средство представляет собой антагонист CD47.

В некоторых воплощениях данный антагонист CD47 представляет собой слитый белок SIRP α -Fc или его вариант, или антитело против CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых воплощениях предложенный здесь выделенный полинуклеотид содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 102, 110, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219 и 220.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен вектор, содержащий предложенный здесь выделенный полинуклеотид.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложена клетка-хозяин, содержащая предложенный здесь вектор.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ осуществления экспрессии предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий культивирование предложенной здесь клетки-хозяина при условиях, при которых экспрессируется предложенный здесь вектор.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ лечения заболевания или состояния у субъекта, который получил бы пользу от модулирования активности CD24, включающий введение данному субъекту терапевтически эффективного количества предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или предложенной здесь фармацевтической композиции.

В некоторых воплощениях данное заболевание или состояние представляет собой заболевание или состояние, связанное с CD24.

В некоторых воплощениях данное заболевание или состояние представляет собой рак, адаптивное иммунное заболевание, аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание или инфекционное заболевание.

В некоторых воплощениях данное раковое заболевание представляет собой рак легкого, рак бронхов, рак кости, рак печени и желчного протока, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак печени, рак яичника, рак яичка, рак почки, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак спинного мозга, рак мозга, рак шейки матки, рак матки, рак эндометрия, рак толстой кишки, рак толстой и ободочной кишки, рак прямой кишки, рак ануса, рак пищевода, желудочно-кишечный рак, рак кожи, рак предстательной железы, рак гипофиза, рак желудка, рак вагины, рак щитовидной железы, глиобластому, астроцитому, меланому, миелодиспластический синдром, саркому, тератому, аденокарциному, лейкоз, миелому и лимфому. В некоторых воплощениях данное раковое заболевание представляет собой химиорезистентный рак.

В некоторых воплощениях данное заболевание или состояние представляет собой гематологическое раковое заболевание, выбранное из следующих: В-клеточные лимфомы, такие как ходжкинская лимфома, неходжкинская лимфома (NHL), острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CML), множественная миелома (MM), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL), В-лимфома маргинальной зоны (MZL), мантийноклеточная лимфома (MCL), синдром Рихтера, лимфома Беркитта или фолликулярная лимфома.

В некоторых воплощениях субъект представляет собой человека.

В некоторых воплощениях предложенный здесь способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества второго терапевтического средства. В некоторых воплощениях данное второе терапевтическое средство представляет собой антагонист против одной или более чем одной иммуноингибирующей молекулы.

В некоторых воплощениях данное второе терапевтическое средство представляет собой антагонист CD47.

В некоторых воплощениях данный антагонист CD47 представляет собой слитый белок SIRP α -Fc или его вариант, или антитело против CD47 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых воплощениях введение осуществляется посредством перорального, назального, внутривенного, подкожного, подъязычного или внутримышечного введения.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ модулирования активности CD24 в клетке, экспрессирующей CD24, включающий

подвергание клетки, экспрессирующей CD24, воздействию предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ выявления присутствия или количества CD24 в образце, включающий приведение данного образца в контакт с предложенным здесь антителом или его антигенсвязывающим фрагментом и определение присутствия или количества CD24 в данном образце.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ диагностики связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта, включающий: а) получение образца от данного субъекта; б) приведение образца, полученного от субъекта, в контакт с предложенным здесь антителом или его антигенсвязывающим фрагментом; в) определение присутствия или количества CD24 в образце; и г) связывание присутствия или количества CD24 с существованием или статусом связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложено применение предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в изготовлении лекарственного средства для лечения связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта.

В некоторых воплощениях данное лекарственное средство дополнительно содержит второе терапевтическое средство. В некоторых воплощениях второе терапевтическое средство представляет собой антагонист против одной или более чем одной иммуноингибирующей молекулы.

В некоторых воплощениях второе терапевтическое средство представляет собой антагонист CD47. В некоторых воплощениях данный антагонист CD47 содержит слитый белок SIRP α -Fc или его вариант и антитело против CD47 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложено применение предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в изготовлении диагностического реактива для диагностики связанного с CD24 заболевания или состояния.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен набор, содержащий предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, полезные в выявлении CD24, возможно рекомбинантный CD24, CD24, экспрессируемый на поверхности клетки, или клетки, экспрессирующие CD24.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен химерный рецептор антигена (CAR), содержащий антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен, костимулирующую сигнальную область и сигнальный домен TCR (Т-клеточный рецептор), где антигенсвязывающий домен специфично связывается с CD24 и содержит предложенный здесь антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых воплощениях данный антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab или scFv.

В некоторых воплощениях предложенный здесь CAR является биспецифичным.

В некоторых воплощениях данный CAR способен к дополнительному специфичному связыванию с вторым антигеном, отличным от CD24, или вторым эпитопом на CD24. В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой опухолевый антиген.

В некоторых воплощениях сигнальный домен TCR выбран из группы, состоящей из последовательности внутриклеточных сигнальных областей CD3 ζ , Fc ϵ RI γ , CD27, CD28, CD137, CD134, MyD88, CD40, CD278, TLR или их комбинации.

В некоторых воплощениях трансмембранная область содержит трансмембранную область CD3, CD4, CD8 или CD28.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложена последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая предложенный здесь химерный рецептор антигена (CAR). В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложена клетка, содержащая предложенную здесь последовательность нуклеиновой кислоты. В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен вектор, содержащий предложенную здесь последовательность нуклеиновой кислоты.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложена клетка, генетически модифицированная для экспрессии предложенного здесь CAR.

В некоторых воплощениях данная клетка представляет собой иммунную клетку, возможно где данная иммунная клетка представляет собой Т-лимфоцит, НК клетку (природный киллер), моноцит, макрофаг или NKT лимфоцит.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ стимулирования опосредованного Т-клетками иммунного ответа на клетку или ткань, экспрессирующую CD24, у млекопитающего, включающий введение данному млекопитающему эффективного количества генетически модифицированной клетки для экспрессии предложенного здесь CAR.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ лечения млекопитающего, имеющего связанное с CD24 заболевание или состояние, включающий введение данному млекопитающему эффективного количества предложенной здесь клетки, посредством этого осуществляя лечение данного млекопитающего.

В некоторых воплощениях данная клетка представляет собой аутологическую Т-клетку.

В некоторых воплощениях связанное с CD24 заболевание или состояние представляет собой рак.

В некоторых воплощениях млекопитающее представляет собой человеческого субъекта.

В одном аспекте согласно настоящему раскрытию предложен способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение антитела против CD24 или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывается только с гликозилированным или сиалированным CD24, предпочтительно связывается только с сиаловой кислотой CD24.

В некоторых воплощениях антитело против CD24 или его антигенсвязывающий фрагмент селективно связывается с CD24, экспрессируемым в раковой клетке, по сравнению с нераковой клеткой.

В некоторых воплощениях антитело против CD24 или его антигенсвязывающий фрагмент конкурирует за тот же самый эпитоп с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим: переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где данная LCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 107, 184, 185, 186, 187 и 188, LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108, и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100 соответственно.

В некоторых воплощениях антитело против CD24 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2

и HCDR3 с SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где данная LCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 107, 184, 185, 186, 187 и 188, LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108, и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100 соответственно.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На ФИГ. 1А показана MFI (средняя интенсивность флуоресценции) предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на пустых клетках 293F.

На ФИГ. 1Б показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках 293F-hCD24.

На ФИГ. 1В показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках MCF7.

На ФИГ. 1Г показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках MDA-MB-468.

На ФИГ. 1Д показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках Nalm1.

На ФИГ. 1Е показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках CHOК1-hCD24.

На ФИГ. 1Ж показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках HT-29.

На ФИГ. 1З показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках NCI H1975.

На ФИГ. 1И показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках A549.

На ФИГ. 1Й показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 на клетках Nalm6.

На ФИГ. 1К показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках SU-DHL6.

На ФИГ. 1Л показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 на человеческих В-клетках.

На ФИГ. 1М показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках DoHH2.

На ФИГ. 1Н показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках HT29.

На ФИГ. 1О показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 на клетках Huh7.

На ФИГ. 1П показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках MCF7.

На ФИГ. 1Р показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках a549.

На ФИГ. 1С показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и реперного антитела SN3 на клетках NCI-H1975.

На ФИГ. 2А показан показатель фагоцитоза химерных антител против CD24 и контрольного антитела SN3 на клетках 293F-hCD24.

На ФИГ. 2Б показан показатель фагоцитоза химерных антител против CD24 и контрольного антитела SN3 на клетках HT-29.

На ФИГ. 3А показан показатель фагоцитоза комбинированной обработки антителом против CD47 hu5F9 с химерным антителом против CD24 chAb110D4G4 на клетках колоректальной опухоли HT29.

На ФИГ. 3Б показан показатель фагоцитоза комбинированной обработки антителом против CD47 hu5F9 с химерным антителом против CD24 chAb111F3A2 на клетках колоректальной опухоли HT29.

На ФИГ. 3В показан показатель фагоцитоза комбинированной обработки антителом против CD47 hu5F9 с химерным антителом против CD24 chAb81A1F8 на клетках колоректальной опухоли HT29.

На ФИГ. 4А показана MFI одного hIgG4, одного ch81A1F8-IgG4, биспецифичного антитела (ch81A1F8-IgG4 плюс scFv, происходящий от Hu5F9) и реперного антитела SN3 на клетках HT29.

На ФИГ. 4Б показан показатель фагоцитоза одного hIgG4, одного hu5F9, одного ch81A1F8-IgG4, биспецифичного антитела (ch81A1F8-IgG4 плюс scFv, происходящий от Hu5F9), а также комбинации антитела против CD24 ch81A1F8-IgG4 и антитела против CD47 Hu5F9 («Combo») на клетках HT29.

На ФИГ. 5А показана MFI химерного антитела против CD24 81A1F8 и гуманизированных антител 81A1F8 на HT-29.

На ФИГ. 5Б показана MFI химерного антитела против CD24 81A1F8 и гуманизированных антител 81A1F8 на Nalm6.

На ФИГ. 5В показана MFI химерного антитела против CD24 101H9G9A2 и гуманизированных антител 101H9G9A2 на HT-29.

На ФИГ. 5Г показана KD химерного антитела против CD24 81A1F8 и гуманизированных антител 81A1F8 при измерении с использованием системы Gatorprime.

На ФИГ. 6А-6Г показана MFI предложенных здесь химерных антител против CD24 и/или реперного антитела SN3 на клетках, расщепленных нейраминидазой или подвергнутых дегликозилированию.

На ФИГ. 7А показана KD предложенных здесь химерных антител против CD24 и контрольного антитела SWA11 на человеческом CD24, меченном mFc, при измерении посредством VIAcore.

На ФИГ. 7Б показана KD предложенных здесь химерного антитела против CD24 81A1F8 и гуманизированных антител 81A1F8 на человеческом CD24, меченном mFc, при измерении посредством VIAcore.

На ФИГ. 8 показана нормированная ОП450 (оптическая плотность при длине волны 450 нм) разных концентраций химерного антитела против CD24 81A1F8 на человеческом CD24, меченном mFc, при измерении посредством ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ).

На ФИГ. 9А показан показатель фагоцитоза химерных антител против CD24, контрольного антитела SWA11 и антитела против CD47 hu5F9-IgG4 на клетках HT-29.

На ФИГ. 9Б показан показатель фагоцитоза химерных антител против CD24, контрольного антитела SWA11 и антитела против CD47 hu5F9-IgG4 на клетках Nalm6.

На ФИГ. 9В показан показатель фагоцитоза антител 81A1F8-LALAPG с редкими зависимыми от Fc функциями, одних или в комбинации с ритуксимабом на клетках SU-DHL-6.

На Фиг. 9Г показан показатель фагоцитоза одного антитела против CD24 81A1F8, одного антитела против CD47 Hu5F9, а также комбинации антитела против CD24 81A1F8 и антитела против CD47 Hu5F9с на клетках HT-29.

На Фиг. 10А показан эффект ADCC (антителозависимая клеточная цитотоксичность), индуцированный химерным антителом против CD24 81A1F8 и гуманизированными антителами 81A1F8 на клетках HT-29.

На Фиг. 10Б показан эффект CDC (комплементзависимая цитотоксичность), индуцированный химерным антителом против CD24 81A1F8 и гуманизированными антителами 81A1F8 на клетках hCD24-MCF7.

На Фиг. 11А показаны объемы опухоли после введения одного химерного антитела против CD24 81A1F8, одного оксалиплатина, а также комбинации химерного антитела против CD24 81A1F8 и оксалиплатина в модели сингенных мышей C57BL/6J.

На Фиг. 11Б показаны массы тела после введения одного химерного антитела против CD24 81A1F8, одного оксалиплатина, а также комбинации химерного антитела против CD24 81A1F8 и оксалиплатина в модели сингенных мышей C57BL/6J.

На Фиг. 11В показано обобщение анализа эффективности *in vivo* одного химерного антитела против CD24 81A1F8, одного оксалиплатина, а также комбинации химерного антитела против CD24 81A1F8 и оксалиплатина в модели сингенных мышей C57BL/6J.

На Фиг. 11Г показано отношение CD8/CD4 и отношение макрофагов M1/M2, индуцированные комбинированной обработкой химерным антителом против CD24 81A1F8 и оксалиплатином, в модели сингенных мышей C57BL/6J.

На Фиг. 12А показаны объемы опухоли после введения химерного антитела против CD24 81A1F8-mIgG2a в разных дозировках в сингенной модели MC38-hCD24.

На Фиг. 12Б показаны объемы опухоли после введения химерного антитела против CD24 81A1F8-mIgG2a в разных дозировках и химерного антитела против CD24 81A1F8-mIgG2a после повторной стимуляции в сингенной модели MC38-hCD24.

На Фиг. 12В показаны кривые роста опухоли для каждой мыши после введения химерного антитела против CD24 81A1F8-mIgG2a в разных дозировках в сингенной модели MC38-hCD24.

На Фиг. 12Г показано обобщение эффективности *in vivo* химерного антитела против CD24 81A1F8-mIgG2a в разных дозировках.

На Фиг. 13А показаны кривые роста опухоли после введения одного средства (81A1F8-2141-mIgG2a, оксалиплатина или атезолизумаба) или комбинированной стратегии.

На Фиг. 13Б показаны кривые роста опухоли для каждой мыши из групп обработки.

На Фиг. 13В показано обобщение эффективности *in vivo* одного средства (81A1F8-2141-mIgG2a, оксалиплатина или атезолизумаба) или комбинированной стратегии.

На Фиг. 14А показаны кривые роста опухоли после введения одного средства (101H9G9A2-mIgG2a, 81A1F8-2141-mIgG2a, оксалиплатина или атезолизумаба) или комбинированной стратегии.

На Фиг. 14Б показаны массы тела мышей после введения одного средства (101H9G9A2-mIgG2a, 81A1F8-2141-mIgG2a, оксалиплатина или атезолизумаба) или комбинированной стратегии.

На Фиг. 14В показано обобщение эффективности *in vivo* одного средства (101H9G9A2-mIgG2a, 81A1F8-2141-mIgG2a, оксалиплатина или атезолизумаба) или комбинированной стратегии.

На ФИГ. 15 показана MFI предложенных здесь антител против смCD24 на клетках смCD24-293F.

На ФИГ. 16А показан показатель фагоцитоза предложенных здесь антител против смCD24 на клетках супоCD24-293F.

На ФИГ. 16Б показан эффект ADCC, индуцированный предложенными здесь антителами против смCD24, на клетках смCD24-293F.

На ФИГ. 16В показан эффект CDC (комплементзависимая цитотоксичность), индуцированный предложенными здесь антителами против смCD24, на клетках супоCD24-293F.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Следующее описание данного раскрытия просто предназначено для иллюстрации разных воплощений данного раскрытия. Конкретные обсуждавшиеся модификации, как таковые, не следует истолковывать как ограничения объема данного раскрытия. Специалисту в данной области будет очевидно то, что могут быть сделаны разные эквиваленты, изменения и модификации без отступления от объема данного раскрытия, и понятно то, что такие эквивалентные воплощения подлежат включению сюда. Все

процитированные здесь ссылки, включая публикации, патенты и патентные заявки, включаются сюда посредством ссылки во всей их полноте.

Определения

Термин «антитело» в том виде, как он здесь используется, включает любой иммуноглобулин, моноклональное антитело, поликлональное антитело, многовалентное антитело, двухвалентное антитело, одновалентное антитело, мультиспецифичное антитело или биспецифичное антитело, которое связывается со специфическим антигеном. Природное интактное антитело содержит две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи. Тяжелые цепи млекопитающих классифицируются как альфа, дельта, эpsilon, гамма и мю, каждая тяжелая цепь состоит из варибельной области (V_H) и первой, второй и третьей константной области (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} соответственно); легкие цепи млекопитающих классифицируются как λ или κ , тогда как каждая легкая цепь состоит из варибельной области (V_L) и константной области. Антитело имеет форму «Y» со стволом Y, состоящим из второй и третьей константных областей двух тяжелых цепей, связанных друг с другом посредством связывания дисульфидными связями. Каждая рука Y включает варибельную область и первую константную область одной тяжелой цепи, связанную с варибельной и константной областями одной легкой цепи. Варибельные области легкой и тяжелой цепей отвечают за связывание антигена. Варибельные области в обеих цепях обычно содержат три высоковарибельные петли, именуемые областями, определяющими комплементарность (CDR) (CDR легкой цепи, включающая LCDR1, LCDR2 и LCDR3, CDR тяжелой цепи, включающая HCDR1, HCDR2 и HCDR3). Границы CDR для раскрытых здесь антител и антигенсвязывающих доменов могут быть определены или идентифицированы посредством соглашений Kabat, IMGT, AbM, Chothia или Al-Lazikani (Al-Lazikani, B., Chothia, C., Lesk, A. M., J. Mol. Biol., 273(4), 927 (1997); Chothia, C. et al., J Mol Biol. Dec 5;186(3):651-63 (1985); Chothia, C. and Lesk, A.M., J.Mol.Biol., 196,901 (1987); N. R. Whitelegg et al, Protein Engineering, v13(12), 819-824 (2000); Chothia, C. et al., Nature. Dec 21-28;342(6252):877-83 (1989) ; Kabat E.A. et al., National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Marie-Paule Lefranc et al, Developmental and Comparative Immunology, 27: 55-77 (2003); Marie-Paule Lefranc et al, Immunome Research, 1(3), (2005); Marie-Paule Lefranc, Molecular Biology of B cells (second edition), chapter 26, 481-514, (2015)). Три CDR располагаются между фланкирующими отрезками, известными как каркасные области (FR), которые являются более высококонсервативными, чем CDR и образуют каркас для поддержки

гипервариабельных петель. Константные области тяжелой и легкой цепей не участвуют в связывании антигена, но демонстрируют разные эффекторные функции. Антитела приписываются к классам на основе аминокислотной последовательности константной области их тяжелой цепи. Пятью главными классами или изотипами антител являются IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, которые отличаются присутствием тяжелых цепей альфа, дельта, эпсилон, гамма и мю соответственно. Несколько главных классов антител подразделяются на подклассы, такие как IgG1 (тяжелая цепь гамма1), IgG2 (тяжелая цепь гамма2), IgG3 (тяжелая цепь гамма3), IgG4 (тяжелая цепь гамма4), IgA1 (тяжелая цепь альфа1) или IgA2 (тяжелая цепь альфа2).

Термин «молекула антитела» в том виде, как он здесь используется, относится к антигенсвязывающему белку или полипептиду, содержащему по меньшей мере один фрагмент антитела (такой как последовательность CDR и/или вариабельной области). Молекула антитела включает, например, моноклональное антитело, фрагмент или домен антитела, слитый белок, содержащий фрагмент или домен антитела, полипептидный комплекс, содержащий фрагмент или домен антитела и так далее.

Термин «антигенсвязывающий домен» (например, домен, связывающий CD24) в том виде, как он здесь используется, относится к фрагменту антитела, образованному из части антитела, содержащей одну или более чем одну CDR, или к любому другому фрагменту антитела, который связывается с антигеном, но не содержит структуру интактного природного антитела. Примеры антигенсвязывающего домена включают, без ограничения, диатело, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, фрагмент Fv, стабилизированный дисульфидом фрагмент Fv (dsFv), (dsFv)₂, биспецифичный dsFv (dsFv-dsFv'), диатело, стабилизированное дисульфидом (ds диатело), молекулу одноцепочечного антитела (scFv), димер scFv (двухвалентное антитело), биспецифичное антитело, мультиспецифичное антитело, камелизированное однодоменное антитело, нанотело, доменное антитело и двухвалентное доменное антитело. Антигенсвязывающий домен способен к связыванию с тем же самым антигеном, с которым связывается родительское антитело. В некоторых воплощениях антигенсвязывающий домен может содержать одну или более чем одну CDR из конкретного человеческого антитела, привитую на каркасную область из одного или более чем одного другого человеческого антитела. Больше число и более подробные форматы антигенсвязывающего домена описываются в Spiess et al, 2015 и Brinkman et al., *mAbs*, 9(2), pp.182–212 (2017), которые включаются сюда во всей полноте посредством ссылки.

«Fab» в отношении антитела относится к той части антитела, которая состоит из одной легкой цепи (и переменная, и константная области), связанной с переменной областью и первой константной областью одной тяжелой цепи посредством дисульфидной связи.

«Fab'» относится к фрагменту Fab, который включает часть шарнирной области.

«F(ab')₂» относится к димеру Fab'.

«Сложный фрагмент (Fd)» в отношении антитела относится к аминоконцевой половине фрагмента тяжелой цепи, которая может быть объединена с легкой цепью с образованием Fab. Например, фрагмент Fd может состоять из доменов VH и CH1.

«Fv» в отношении антитела относится к наименьшему фрагменту антитела, несущему полный антигенсвязывающий сайт. Фрагмент Fv состоит из переменной области одной легкой цепи, связанной с переменной областью одной тяжелой цепи. Предложили целый ряд конструкций Fv, включая dsFv, в которых ассоциация между двумя данными доменами усиливается посредством введенной дисульфидной связи; и scFvs может быть образован с использованием пептидного линкера для связывания двух доменов друг с другом в виде одного полипептида. Также были получены конструкции Fvs, содержащие переменный домен тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина, ассоциированный с переменным и константным доменом соответствующей тяжелой или легкой цепи иммуноглобулина. Fvs также были мультимеризованы с образованием диател и триател (Maynard et al., *Annu Rev Biomed Eng* 2 339-376 (2000)).

«Одноцепочечное Fv антитело» или «scFv» относится к сконструированному антителу, состоящему из переменной области легкой цепи и переменной области тяжелой цепи, соединенных друг с другом непосредственно или посредством последовательности пептидного линкера (Huston JS *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 85:5879(1988)).

«dsFv» относится к фрагменту Fv, стабилизированному дисульфидом, в котором связь между переменной областью одной легкой цепи и переменной областью одной тяжелой цепи представляет собой дисульфидную связь. В некоторых воплощениях «(dsFv)₂» или «(dsFv-dsFv')» содержит три пептидные цепи: две группировки VH, связанные пептидным линкером (например, длинный гибкий линкер) и связанные с двумя группировками VL, соответственно, посредством дисульфидных мостиков. В некоторых воплощениях dsFv-dsFv' является биспецифичным, в котором каждая

образующая пару посредством дисульфида тяжелая и легкая цепь имеет отличную специфичность в отношении антигена.

«Fc» в отношении антитела относится к той части антитела, которая состоит из второй и третьей константных областей первой тяжелой цепи, связанной со второй и третьей константными областями второй тяжелой цепи посредством дисульфидной связи. Часть Fc антитела ответственна за разные эффекторные функции, такие как антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC) и комплементзависимая цитотоксичность (CDC), но не функционирует в связывании антигена.

Термины «камелизированное однодоменное антитело», «антитело на основе тяжелой цепи» или «HCAb» относятся к антителу, которое содержит два домена V_H и не содержит легких цепей (Riechmann L. and Muyldermans S., *J Immunol Methods*. Dec 10;231(1-2):25-38 (1999); Muyldermans S., *J Biotechnol*. Jun;74(4):277-302 (2001); WO94/04678; WO94/25591; патент США № 6005079). Антитела на основе тяжелой цепи исходно происходят от верблюдовых (верблюды, одногорбые верблюды и ламы). Несмотря на отсутствие легких цепей, камелизированные антитела имеют подлинный антигенсвязывающий репертуар (Hamers-Casterman C. *et al.*, *Nature*. Jun 3;363(6428):446-8 (1993); Nguyen VK. *et al.* "Heavy-chain antibodies in Camelidae; a case of evolutionary innovation," *Immunogenetics*. Apr;54(1):39-47 (2002); Nguyen VK. *et al.* *Immunology*. May;109(1):93-101 (2003)). Вариабельный домен антитела на основе тяжелой цепи (домен V_{HH}) представляет собой наименьший известный антигенсвязывающий элемент, генерированный адаптивными иммунными ответами (Koch-Nolte F. *et al.*, *FASEB J*. Nov;21(13):3490-8. Epub 2007 Jun 15 (2007)).

«Нанотело» относится к фрагменту антитела, который состоит из домена V_{HH} из антитела на основе тяжелой цепи и двух константных доменов – CH₂ и CH₃.

«Диатела» или «dAb» включают маленькие фрагменты антител с двумя антигенсвязывающими сайтами, где данные фрагменты содержат домен V_H, соединенный с доменом V_L в той же самой полипептидной цепи (V_H-V_L или V_L-V_H) (см., например, Holliger P. *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A*. Jul 15;90(14):6444-8 (1993); EP404097; WO93/11161). Посредством применения линкера, который является слишком коротким для обеспечения образования пары между двумя доменами на той же самой цепи данные домены принуждают к образованию пары с комплементарными доменами другой цепи, создавая, посредством этого, два антигенсвязывающих сайта. Данные

антигенсвязывающие сайты могут быть нацелены на тот же самый или на разные антигены (или эпитопы).

В некоторых воплощениях «биспецифичное ds диатело» представляет собой диатело, нацеленное на два разных антигена (или эпитопа).

В некоторых воплощениях «димер scFv» представляет собой двухвалентное диатело или двухвалентный ScFv (BsFv), содержащий V_H - V_L (связанный пептидным линкером), димеризованный с другой группировкой V_H - V_L таким образом, что V_H одной группировки координирован с V_L другой группировки и образует два сайта связывания, которые могут быть нацелены на те же самые антигены (или эпитопы) или на разные антигены (или эпитопы).

В других воплощениях «димер scFv» представляет собой биспецифичное диатело, содержащее V_{H1} - V_{L2} (связанный пептидным линкером), ассоциированный с V_{L1} - V_{H2} (также связанным пептидным линкером) таким образом, что V_{H1} и V_{L1} координированы, и V_{H2} и V_{L2} координированы, и каждая координированная пара имеет отличную специфичность в отношении антигена.

«Доменное антитело» относится к фрагменту антитела, содержащему только переменную область тяжелой цепи или переменную область легкой цепи. В некоторых случаях два или более чем два домена V_H ковалентно соединяются пептидным линкером с созданием двухвалентного или мультвалентного доменного антитела. Два домена V_H двухвалентного доменного антитела могут быть нацелены на тот же самый или на разные антигены.

Термин «химерное» в том виде, как он здесь используется, означает антитело или антигенсвязывающий домен, имеющий часть тяжелой и/или легкой цепи, происходящей от одного вида, и остальную тяжелую и/или легкую цепь, происходящую от другого вида. В иллюстративном примере химерное антитело может содержать константную область, происходящую от человека, и переменную область от животного, не являющегося человеком, как, например, от мыши. В некоторых воплощениях животное, не являющееся человеком, представляет собой млекопитающее, например, мышь, крысу, кролика, козу, овцу, морскую свинку или хомяка.

Термин «гуманизованное» в том виде, как он здесь используется, означает то, что антитело или антигенсвязывающий домен содержит CDR, происходящие от животных, не являющихся человеком, области FR, происходящие от человека, и, когда это применимо, константные области, происходящие от человека.

Термин «функциональная связь» или «связанный функциональным образом» относится к размещению бок о бок со спейсером или линкером, или расположенной между последовательностью, или без них двух или более чем двух интересующих биологических последовательностей таким образом, что они находятся в связи, обеспечивающей их функционирование желаемым способом. При применении в отношении полипептидов подразумевается то, что данные последовательности полипептидов связываются таким способом, который обеспечивает то, что связанный продукт имеет намеченную биологическую функцию. Например, вариабельная область антитела может быть связана функциональным образом с константной областью таким образом, чтобы предоставить стабильный продукт с антигенсвязывающей активностью. В качестве другого примера, антигенсвязывающий домен может быть связан функциональным образом с другим антигенсвязывающим доменом с расположенной между ними последовательностью, и такая расположенная между последовательность может представлять собой спейсер или может содержать значительно более длинную последовательность, такую как константная область антитела. Данный термин также может использоваться в отношении полинуклеотидов. В качестве одного примера, когда полинуклеотид, кодирующий полипептид, связан функциональным образом с регуляторной последовательностью (например, последовательностью промотора, энхансера, сайленсера и т.д.), подразумевается то, что данные последовательности полинуклеотидов связываются таким способом, который обеспечивает регулируемую экспрессию полипептида от полинуклеотида.

Термин «слияние» или «слитый», при применении по отношению к аминокислотным последовательностям (например, пептид, полипептид или белок), относится к комбинации двух или более чем двух аминокислотных последовательностей, например, полученной химическим связыванием или способами генной инженерии, в одной аминокислотной последовательности, которая не существует в природе. Слитая аминокислотная последовательность может быть получена генетической рекомбинацией двух кодирующих последовательностей полинуклеотидов и может экспрессироваться способом введения конструкции, содержащей рекомбинантные полинуклеотиды, в клетку-хозяина.

Термин «антиген» в том виде, как он здесь используется, относится к соединению, композиции, пептиду, полипептиду, белку или веществу, которое может стимулировать продукцию антител или Т-клеточный ответ в культуре клеток или у млекопитающего,

включая композиции (такие как композиция, которая включает специфичный для ракового заболевания белок), которые добавляют в культуру клеток (такую как гибридома) или инъецируют, или абсорбируют в животного. Антиген реагирует с продуктами специфического гуморального или клеточного иммунитета (таким как антитело), включая продукты, индуцированные гетерологичными антигенами.

Подразумевается то, что термин «CD24» в том виде, как он здесь используется, охватывает любую форму CD24, например: 1) природную, не подвергавшуюся процессингу молекулу CD24, «полноразмерную» цепь CD24 или встречающиеся в природе варианты CD24, включающие, например, образовавшиеся в результате сплайсинга или аллельные варианты; 2) любую форму CD24, которая возникает из-за процессинга в клетке; или 3) полноразмерную, фрагмент (например, усеченная форма, внеклеточный/трансмембранный домен) или модифицированная форма (например, мутировавшая форма, гликозилированная/ПЭГилированная, форма, слитая с His меткой/иммунофлуоресцентная) субъединицы CD24, полученная способом генной инженерии.

Термин «антитело против CD24», «связывающий домен против CD24» или «домен, связывающий CD24» относится к антителу или антигенсвязывающему домену, которые способны к специфичному связыванию с CD24 (например, с человеческим, мышинным CD24 или CD24 яванского макака).

Термин «специфичное связывание» или «специфично связывается» в том виде, как он здесь используется, относится к реакции неслучайного связывания между двумя молекулами, как, например, между антителом и антигеном.

Связывание антител с рекомбинантным CD24 или CD24, экспрессируемым на поверхности клеток, также может быть представлено значением «полумаксимальной эффективной концентрации» (EC50), которое относится к концентрации антитела, при которой наблюдается 50% от его максимального эффекта (например, связывание или ингибирование и т.д.). Значение EC50 можно измерять известными в данной области способами, например, сэндвич-анализом, таким как ELISA (твердофазный иммуноферментный анализ), вестерн-блоттингом, анализом проточной цитометрией и другим анализом связывания. В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела и их фрагменты специфично связываются с рекомбинантным человеческим CD24 при EC50 (т.е. концентрация 50%-ного связывания) не более чем 0,05 нМ, не более чем 0,06 нМ, не более чем 0,07 нМ, не более чем 0,08 нМ, не более чем 0,09 нМ, не более чем 0,1

нМ, не более чем 0,2 нМ, не более чем 0,3 нМ, не более чем 0,4 нМ, не более чем 0,5 нМ, не более чем 0,6 нМ, не более чем 0,7 нМ, не более чем 0,8 нМ, не более чем 0,9 нМ, не более чем 1 нМ, не более чем 2 нМ, не более чем 3 нМ, не более чем 4 нМ, не более чем 5 нМ, не более чем 6 нМ, не более чем 7 нМ, не более чем 8 нМ, не более чем 9 нМ, не более чем 10 нМ, не более чем 20 нМ, не более чем 25 нМ, не более чем 30 нМ, не более чем 35 нМ, не более чем 40 нМ, не более чем 50 нМ, не более чем 60 нМ, не более чем 70 нМ, не более чем 80 нМ, не более чем 90 нМ, не более чем 100 нМ, не более чем 110 нМ, не более чем 120 нМ, не более чем 122 нМ, не более чем 124 нМ, не более чем 126 нМ, не более чем 128 нМ, не более чем 130 нМ, не более чем 132 нМ, не более чем 134 нМ, не более чем 136 нМ, не более чем 138 нМ, не более чем 140 нМ, не более чем 200 нМ, не более чем 210 нМ, не более чем 250 нМ, не более чем 300 нМ или не более чем 400 нМ при определении анализом проточной цитометрии.

Способность «блокировать связывание» или «конкурировать за тот же самый эпитоп» в том виде, как здесь используются данные фразы, относится к способности антитела или антигенсвязывающего домена ингибировать взаимодействие связывания между двумя молекулами (например, человеческим CD24 и Siglec-10) в любой выявляемой степени. В некоторых воплощениях антитело или антигенсвязывающий домен, который блокирует связывание между двумя молекулами, ингибирует взаимодействие связывания между двумя молекулами по меньшей мере на 85% или по меньшей мере на 90%. В некоторых воплощениях данное ингибирование может быть более чем 85% или более чем 90%.

Термин «эпитоп» в том виде, как он здесь используется, относится к специфической группе атомов или аминокислот на антигене, с которой связывается антитело. Эпитопы могут образоваться или из смежных аминокислот (также именуемые линейным или последовательным эпитопом), или из несмежных аминокислот, находящихся бок о бок посредством третичного фолдинга белка (также именуемый конфигурационный или конформационный эпитоп). Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, типично организованы линейно вдоль первичных аминокислотных остатков на белке, и маленькие отрезки смежных аминокислот могут быть отщеплены из-за связывания антигена молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) или сохраняться при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные посредством третичного фолдинга, типично теряются при обработке денатурирующими растворителями. Эпитоп типично

включает по меньшей мере 3 и чаще по меньшей мере 5, примерно 7 или примерно 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Два антитела могут связываться с тем же самым или близкородственным эпитопом в пределах антигена, если они демонстрируют конкурентное связывание в отношении данного антигена. Например, если антитело или антигенсвязывающий домен блокирует связывание контрольного антитела с антигеном по меньшей мере на 85% или по меньшей мере на 90%, или по меньшей мере на 95%, тогда можно рассматривать, что данное антитело или антигенсвязывающий домен связывается с тем же самым/близкородственным эпитопом, что и контрольное антитело.

Термин «консервативная замена» по отношению к аминокислотной последовательности относится к замене аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком, имеющим боковую цепь с аналогичными физико-химическими свойствами. Например, консервативные замены могут быть сделаны среди аминокислотных остатков с гидрофобными боковыми цепями (например, Met, Ala, Val, Leu и Ile), среди остатков с нейтральными гидрофильными боковыми цепями (например, Cys, Ser, Thr, Asn и Gln), среди остатков с кислотными боковыми цепями (например, Asp, Glu), среди аминокислот с основными боковыми цепями (например, His, Lys и Arg) или среди остатков с ароматическими боковыми цепями (например, Trp, Tyr и Phe). Как известно в данной области, консервативная замена обычно не вызывает значимого изменения в конформационной структуре белка и, следовательно, могла бы сохранять биологическую активность белка.

Термины «гомолог» и «гомологичный» в том виде, как они здесь используются, являются взаимозаменяемыми и относятся к последовательностям нуклеиновой кислоты (или ее комплементарной нити) или аминокислотным последовательностям, которые имеют идентичность последовательности по меньшей мере 80% (например, по меньшей мере 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) с другими последовательностями при оптимальном выравнивании.

«Процент (%) идентичности последовательности» по отношению к аминокислотной последовательности (или последовательности нуклеиновой кислоты) определяется как процентная доля остатков аминокислот (или нуклеиновой кислоты) в последовательности-кандидате, которые являются идентичными остаткам аминокислот (или нуклеиновой кислоты) в эталонной последовательности после выравнивания данных последовательностей и, если необходимо, введения пробелов для достижения

максимального числа идентичных аминокислот (или нуклеиновых кислот). Консервативная замена аминокислотных остатков может или не может рассматриваться в качестве идентичных остатков. Выравнивание в целях определения процента идентичности последовательности аминокислот (или нуклеиновой кислоты) может достигаться, например, с использованием общедоступных средств, таких как BLASTN, BLASTp (доступны на веб-сайте Национального центра биотехнологической информации США (NCBI), см. также Altschul S.F. et al, *J. Mol. Biol.*, 215:403–410 (1990); Stephen F. et al, *Nucleic Acids Res.*, 25:3389–3402 (1997)), ClustalW2 (доступна на веб-сайте Европейского института биоинформатики, см. также, Higgins D.G. et al, *Methods in Enzymology*, 266:383-402 (1996); Larkin M.A. et al, *Bioinformatics (Oxford, England)*, 23(21): 2947-8 (2007)) и программы ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области могут использовать параметры по умолчанию, предоставленные средством, или могут адаптировать под себя параметры согласно обстоятельствам для выравнивания, как, например, посредством выбора подходящего алгоритма.

Термин «эффекторные функции» в том виде, как он здесь используется, относится к биологическим активностям, приписываемым связыванию области Fc антитела с ее эффекторами, такими как комплекс C1, рецептор Fc и эффекторная клетка (например, макрофаг). Типичные эффекторные функции включают комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), индуцированную взаимодействием антител и C1q на комплексе C1; антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC), индуцированную связыванием области Fc антитела с рецептором Fc на эффекторной клетки; и антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP), индуцированный связыванием области Fc антитела с фагоцитами. Хорошо установлено, что специфические гликановые структуры, ассоциированные с консервативным двуххвостным гликаном в домене Fc-CH2, могут сильно влиять на взаимодействие с FcγR, которые опосредуют ADCC и ADCP, а при связывании с C1q - исходным событием связывания – приводить к CDC (см. Reusch D, Tejada ML. Fc glycans of therapeutic antibodies as critical quality attributes. *Glycobiology* 2015; 25: 1325-34).

Термин «осуществление лечения» или «лечение» состояния в том виде, как он здесь используется, включает предупреждение или облегчение состояния, замедление начала или скорости развития состояния, уменьшение риска развития состояния, предупреждение или отсрочку развития симптомов, ассоциированных с состоянием, уменьшение или завершение симптомов, ассоциированных с состоянием, получение

полной или частичной регрессии состояния, излечение состояния или некоторую их комбинацию.

Термин «субъект» или «индивид», или «животное», или «пациент» в том виде, как он здесь используется, относится к человеку или животному, не являющемуся человеком, включая млекопитающего или примата, нуждающегося в диагностике, прогнозировании, облегчении, предупреждении и/или лечении заболевания или расстройства. Млекопитающие субъекты включают человека, домашних животных, сельскохозяйственных животных и животных из зоопарка, промысловых животных или домашних любимцев, таких как собаки, кошки, морские свинки, кролики, крысы, мыши, лошади, свиньи, коровы, медведи и т.д.

Термин «вектор» в том виде, как он здесь используется, относится к носителю, в который может быть функциональным образом вставлен полинуклеотид, кодирующий белок, таким образом, чтобы осуществлять экспрессию данного белка. Вектор может использоваться для трансформации, трансдукции или трансфекции клетки-хозяина таким образом, чтобы осуществлять экспрессию генетического элемента, который он несет, в пределах клетки-хозяина. Примеры векторов включают плазмиды, фагмиды, космиды и искусственные хромосомы, такие как дрожжевая искусственная хромосома (YAC), бактериальная искусственная хромосома (BAC) или происходящая от P1 искусственная хромосома (PAC), бактериофаги, такие как фаг лямбда или фаг M13, и вирусы животных. Категории вирусов животных, используемых в качестве векторов, включают ретровирус (включая лентивирус), аденовирус, аденосателлитный вирус, вирус герпеса (например, вирус простого герпеса), поксвирус, бакуловирус, вирус папилломы и паповавирус (например, SV40). Вектор может содержать целый ряд элементов для осуществления контроля экспрессии, включая промоторные последовательности, последовательности инициации транскрипции, энхансерные последовательности, селективируемые элементы и гены-репортеры. Кроме того, данный вектор может содержать репликатор. Вектор также может включать вещества, помогающие его поступлению в клетку, включая вирусную частицу, липосому или белковое покрытие, но не ограничиваясь ими. Вектор может представлять собой экспрессионный вектор или клонирующий вектор.

Фраза «клетка-хозяин» в том виде, как она здесь используется, относится к клетке, в которую был введен экзогенный полинуклеотид и/или вектор.

Фраза «связанное с CD24» заболевание или состояние в том виде, как она здесь используется, относится к любому заболеванию или состоянию, вызванному, усугубленному или иным образом связанному с повышенной или пониженной экспрессией или активностями CD24. В некоторых воплощениях связанное с CD24 состояние представляет собой связанное с иммунитетом состояние, такое как, например, рак, аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание или инфекционное заболевание.

Термин «рак» в том виде, как он здесь используется, относится к любому медицинскому состоянию, отличающемуся злокачественным ростом клеток или новообразованием, ненормальной пролиферацией, инфильтрацией или метастазом, и включает как солидные опухоли, так и несолидные опухоли (гематологические злокачественные образования), такие как лейкоз. Термин «солидная опухоль» в том виде, как он здесь используется, относится к твердой массе клеток новообразования и/или злокачественных клеток. Примеры рака или опухолей включают гематологические злокачественные образования, карциномы рта (например, губы, языка или глотки), органов пищеварения (например, пищевода, желудка, тонкой кишки, ободочной кишки, толстой кишки или прямой кишки), брюшной полости, печени и желчных протоков, поджелудочной железы, дыхательной системы, как, например, гортани или легкого (мелкоклеточная и немелкоклеточная), кости, соединительной ткани, кожи (например, меланома), молочной железы, репродуктивных органов (фаллопиевой трубы, матки, шейки матки, яичек, яичника или простаты), мочевых путей (например, мочевого пузыря или почки), мозга и эндокринных желез, таких как щитовидная железа. В некоторых воплощениях раковое заболевание выбрано из рака яичника, рака молочной железы, рака головы и шеи, рака почки, рака мочевого пузыря, печеночно-клеточного рака и колоректального рака. В некоторых воплощениях раковое заболевание выбрано из лимфомы, ходжкинской лимфомы, неходжкинской лимфомы и В-клеточной лимфомы.

Термин «химиорезистентный рак» в том виде, как он здесь используется, относится к типу рака, который не отвечает на эффекты химиотерапии. Например, раковая опухоль, которая отвечала на химиотерапию или комбинацию разных химиотерапий, но внезапно начинает расти, может быть названа химиорезистентным раком.

Термин «фармацевтически приемлемый» указывает то, что обозначенный носитель, наполнитель, разбавитель, эксципиент(ты) и/или соль обычно является

химически и/или физически совместимой с другими ингредиентами, составляющими данную композицию, и физиологически совместимой с ее реципиентом.

Антитело против CD24

Согласно настоящему раскрытию предложены антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие одну или более чем одну (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) последовательность CDR антитела против CD24 33E7E12, 71A4F12, 56A7E3, 58F10-1F6, 73H5-1G2, 110D4G4, 81A1F8, 100F2E3, 111F3A2, 81A7A10, 107D10D11, 101H9G9A2, 173B1C1, 107D10E11, 109G10A6, 94G12D11, 92F5B8, 185B11E3, 168B11E2 или 188H6D3. В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты способны к специфичному связыванию с CD24. Возможно CD24 происходит от человека или яванского макака. В некоторых воплощениях CD24 представляет собой рекомбинантный CD24 или CD24, экспрессируемый на поверхности клетки.

Термин «33E7E12» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 50 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 52.

Термин «71A4F12» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 54 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 56.

Термин «56A7E3» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 58 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 64.

Термин «58F10-1F6» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 62 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 64.

Термин «73H5-1G2» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 66 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 68.

Термин «110D4G4» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 70 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 72.

Термин «81A1F8» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 74 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 76.

Термин «100F2E3» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 78 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 80.

Термин «111F3A2» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 82 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 84.

Термин «81A7A10» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 86 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 88.

Термин «107D10D11» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 101 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 103.

Термин «101H9G9A2» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 109 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 111.

Термин «173B1C1» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 118 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 120 или SEQ ID NO: 221.

Термин «107D10E11» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 122 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 124.

Термин «109G10A6» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 132 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 134.

Термин «94G12D11» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 141 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 143.

Термин «92F5B8» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 146 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 146.

Термин «185B11E3» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 156 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 158.

Термин «168B11E2» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 164 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 166.

Термин «188H6D3» в том виде, как он здесь используется, относится к мышинному моноклональному антителу, имеющему переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 174 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 176.

В Таблице 1 показаны последовательности CDR данных 20 антител против CD24 согласно нумерации IMGT. Последовательности переменной области тяжелой цепи и легкой цепи также приводятся ниже.

Таблица 1.

ID антитела:		CDR1	CDR2	CDR3
33E7E12	VH	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 5
		NSWMN	QIQLKSDNYATRY VESVRG	GTDY
33E7E12	VL	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 6
		KSSQSLLFSNGKTY LN	LVSNLDS	VQGTHFPYT
71A4F12	VH	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 11
		AYNMD	DINPNNGDTVYN QNFKG	RGSYYYGSSHYA LDF
71A4F12	VL	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 12
		RASQDIRNYLN	YTSRLLS	QQDNSLPRT
56A7E3	VH	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 14	SEQ ID NO: 11
		AYNMD	DINPINGGTIYNQ NFEG	RGSYYYGSSHYA LDF
56A7E3	VL	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15
		RASQDISNYLN	YTSRLLS	QQDHTLPRT
58F10-1F6	VH	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 18

		GYHMN	EINPITSGITYNQIF KA	RDYGTSLDY
58F10-1F6	VL	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 15
		RASQDISNYLN	YTSRLLS	QQDHTLPRT
73H5-1G2	VH	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 23
		NYGVH	VIWRGGSTDYNA AFMS	NYGYDCFAY
73H5-1G2	VL	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 24
		RASKSIKYLA	SGSTLQS	QQHNEYPLT
110D4G4	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
		GYYMN	EINPNTGDPRYDQ KFKA	RDYGTSL
110D4G4	VL	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 24
		RASKSISKYLA	SGSTLQS	QQHNEYPLT
81A1F8	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 28
		GYYMN	EINPNTGDTNNN QKFKA	RDYGTSL
81A1F8	VL	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 31
		RASKSINKYLA	SGSTLQS	QQHNEYPIT
100F2E3	VH	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 36
		SYWMD	NIYPSDSKTHSNQ KFRD	RGGYYGYAMDY
100F2E3	VL	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 37
		KSSQSLNNSGNQDN YLA	GASIRES	QNDHSYPYT
111F3A2	VH	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 42
		TYGVS	VIWGDGTTNYHS ALKP	YYGYPPFAY
111F3A2	VL	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 43
		KASEDIYNRLA	GATNLVT	QQYWSSPPT
81A7A10	VH	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 48

		SYGVS	VIWGDGSTDYHS TLTS	FYGYDEGFAY
81A7A10	VL	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 49
		RASSTVNYMY	YTSRLAP	QQFTSSPLT
107D10D11	VH	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 96	SEQ ID NO: 97
		SYGVN	MIWSGGNTDYNA AFIS	IWYYGMDY
107D10D11	VL	SEQ ID NO: 98	SEQ ID NO: 99	SEQ ID NO: 100
		KASQNVGTAVA	SASIRYP	LQYITFPR
101H9G9A2	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYAM DY
101H9G9A2	VL	SEQ ID NO: 107	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLNLSGNQDNY	GAR	QNDHSYPYT
173B1C1	VH	SEQ ID NO: 113	SEQ ID NO: 114	SEQ ID NO: 115
		SNTMH	YINPGSAYTNYN QKFND	LATYYDNDGYA MDY
173B1C1	VL	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 116	SEQ ID NO: 117
		RASQDISNYLN	YTSKLHS	QQGHTLPWT
107D10E11	VH	SEQ ID NO: 222	SEQ ID NO: 223	SEQ ID NO: 224
		SYWIT	DISPAGGGRNYNE RFKN	GDSTVDLDY
107D10E11	VL	SEQ ID NO: 225	SEQ ID NO: 226	SEQ ID NO: 227
		RSSKSLLSNGNTY LY	RVSNLAS	MQHLEYPY
109G10A6	VH	SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 128
		DYNMD	DINPHNGDTIYNQ KFKG	RGAYYYGSSHY ALDF
109G10A6	VL	SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 130	SEQ ID NO: 131
		RASQDITNYLN	YTSRLFS	QQGNTLPW
94G12D11	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 136	SEQ ID NO: 137

		GYYMN	EINPNKGDSNLNQ NFKA	RDYGTSLDH
94G12D11	VL	SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 140
		RASKSISKYLA	SGSTLHT	QQHNEYPI
92F5B8	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 28
		GYYMN	EINPNTGDTNNN QKFKA	RDYGTSL
92F5B8	VL	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 145	SEQ ID NO: 24
		RASKSINKYLA	SGSTLHS	QQHNEYPLT
185B11E3	VH	SEQ ID NO: 150	SEQ ID NO: 151	SEQ ID NO: 152
		GYTFTSNT	INPGSAYT	ARLATYYDNDG YAMDY
185B11E3	VL	SEQ ID NO: 153	SEQ ID NO: 154	SEQ ID NO: 155
		SSVNY	GTS	FQGSGYPYT
168B11E2	VH	SEQ ID NO: 160	SEQ ID NO: 161	SEQ ID NO: 162
		GFSLTSYG	IWGDGNT	ANLYVLFAY
168B11E2	VL	SEQ ID NO: 163	SEQ ID NO: 154	SEQ ID NO: 155
		SSVSY	GTS	FQGSGYPYT
188H6D3	VH	SEQ ID NO: 168	SEQ ID NO: 169	SEQ ID NO: 170
		GYTFTNYW	INPTNGGT	ARSGGYDFDY
188H6D3	VL	SEQ ID NO: 171	SEQ ID NO: 172	SEQ ID NO: 173
		QSLDSDGKTY	LVS	WQGTYFPLT

Последовательности вариабельной области тяжелой или легкой цепи антител 33E7E12, 71A4F12, 56A7E3, 58F10-1F6, 73H5-1G2, 110D4G4, 81A1F8, 100F2E3, 111F3A2, 81A7A10, 107D10D11 101H9G9A2, 173B1C1, 107D10E11, 109G10A6, 94G12D11, 92F5B8, 185B11E3, 168B11E2 или 188H6D3 приводятся ниже.

33E7E12-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 50):

EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCFVSGFTFSNSWMNWVRQSPEKGLEWVAQIQLKSD
 NYATRYVESVRGRFIISRDDSKSSVSLQMNNLRTEDTGIYYCSSGTDYWGQGTTLTVS
 S

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 51):

GAAGTGAAGCTTGAGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGAGGATCCATG
 AAACCTCCTGTTTTGTCTCTGGATTCACCTTCAGTAACTCCTGGA
 TGAACCTGGGTCCGCCAGTCTCCAGAGAAGGGGCTTGAGTGGGTGCTCAG
 ATTCAATTGAAATCTGATAATTATGCAACACGTTATGTGGAGTCTGTGAG
 AGGGAGGTTTCATCATCTCAAGAGATGATTCCAAAAGTAGTGTCTCCCTGC
 AAATGAACAACCTTAAGGACTGAAGACACTGGAATTTACTGTTCCTCT
 GGGACCGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

33E7E12-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 52):

DVVMTQTPLALSVIIGQPASISCKSSQSLLFSNGKTYLNLWLLQRPQSPKRLIYLVSNL
 DSGVPDRFTGSGSGTDFTLKIGRVEAEDLGVYYCVQGFHPYTFGGGKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 53):

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCGCTTTGTCGGTTATCATTGGACA
 ACCAGCCTCTATCTCTTGCAAGTCAAGTCAGAGCCTCTTATTTAGTAATG
 GAAAAACCTATTTGAATTGGTTATTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAAG
 CGCCTAATCTATCTGGTGTCTAATCTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTT
 CACTGGCAGTGGATCAGGAACAGATTTTACACTGAAAATCGGCAGAGTGG
 AGGCTGAAGATTTGGGAGTTTATTACTGCGTGCAAGGTACACATTTTCCA
 TACACGTTTCGGTGGGGGGACCAAGTTGGAAATAAAA

71A4F12-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 54):

EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTAYNMDWVKQSHGMSLEWIGDINPNNG
 DTVYNQNFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTAVYYCARRGSYYYGSSHYALD
 FWGQGTSVSVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 55):

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTC
 AGTGAAGATACCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCCTGCCTACAACA
 TGGACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAATGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAT
 ATTAATCCTAACAATGGTGATACTGTCTACAACCAGAATTTCAAGGGCAA
 GGCCACATTCAGTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAACCTCC
 GCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAGGGGG
 TCCTATTACTACGGTAGTAGTCACTATGCTCTGGACTTCTGGGGTCAAGG
 AACCTCAGTCTCCGTCTCCTCA

71A4F12-VL**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 56):**

DIQMTQITSSLSASLGNRVTISCRASQDIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLLSGVP
SRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQDNSLPRTFGGGTRLEIR

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 57):

GATATCCAGATGACACAGATTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAAA
CAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGGAATTATTTAA
ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACGTGTTAAACTCCTGATCTACTAC
ACATCAAGATTA CTCTCAGGAGTCCCATCACGGTTCAGTGGCAGTGGGTC
TGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTG
CCTTACTTTTGCCAACAGGATAATTCGCTTCCTCGGACGTTCGGTGGA
GGCACCAGGCTGGAAATCAGA

56A7E3-VH**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 58):**

EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTAYNMDWVKQSHGMSLEWIGDINPINGG
TIYNQNFEGKATLTVDKSSSTAYLELRSLTSEDVAVYYCARRGSYYYGSSHYALDFW
GQGTSVSVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 59):

GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTC
AGTGAAGATACCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCCTGCCTACAACA
TGGACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAATGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAT
ATTAATCCTATCAATGGTGGTACTATCTACAACCAGAATTTTCGAGGGCAA
GGCCACATTGACTGTAGACAAGTCTTCCAGCACAGCCTACTTGGA ACTCC
GCAGCCTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAGGGGG
TCCTATTACTACGGTAGTAGCCACTATGCTTTGGACTTCTGGGGTCAAGG
AACCTCAGTCTCCGTCTCCTCA

56A7E3-VL**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 64):**

DIQMTQITSSLSASLGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLLSGVP
SRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQDHTLPRTFGGGTKLEIR

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 61):

GATATCCAGATGACACAGATTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGA
CAGAGTCACCATCACTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAA

ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTAC
ACATCAAGATTACTCTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTC
TGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTG
CCACTTACTTTTGCCAACAGGATCATACGCTTCCTCGGACGTTTCGGTGGA
GGCACCAAGCTGGAAATCAGA

58F10-1F6-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 62):

EVQLRQSGPELVKPGAAVKISKASGYSFTGYHMNWVKQSPEKSLEWIGEINPITSGI
TYNQIFKAKATLTVDKSSSTAYLQLKSLTSEDSAVYYCTRRDYGTSLDYWGQGTTLT
VSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 63):

GAGGTCCAGCTGCGGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTGC
GGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACCACA
TGAAGTGGGTGAAGCAAAGTCCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTA
ATCCTATCACTAGTGGTATTACCTACAACCAGATTTTCAAGGCCAA
GGCCACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACTTGCAGCTCA
AGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTACAAGAAGGGAC
TACGGTACTAGCCTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTC
CTCA

58F10-1F6-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 64):

DIQMTQITSSLSASLGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLLSGVP
SRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQDHTLPRTFGGGTKLEIR

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 65):

GATATCCAGATGACACAGATTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGA
CAGAGTCACCATCACTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAA
ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTAC
ACATCAAGATTACTCTCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTC
TGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTG
CCTTACTTTTGCCAACAGGATCATACGCTTCCTCGGACGTTTCGGTGGA
GGCACCAAGCTGGAAATCAGA

73H5-1G2-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 66):

QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWIRQSPGKGLEWLGVIWRGGST
 DYNAAFMSRLSITKDNSKSQVFFQMNSLQAADTAIYYCANNYGYDCFA YWGQGLT
 VTVSA

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 67):

CAGGTGCAGCTGAAGCAGTCAGGACCTGGCCTAGTGCAGCCCTCACAGAG
 CCTGTCCATAACCTGCACAGTCTCTGGTTTCTCATTAACTAACTATGGTG
 TAACTGGATTTCGCCAGTCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTG
 ATATGGAGAGGTGGAAGCACAGACTACAATGCAGCTTTCATGTCCAGACT
 GAGCATCACCAAGGACAACCTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTTCAAATGAACA
 GTCTGCAAGCTGCTGACACTGCCATATATTA CTGTGCCAACAACTATGGT
 TACGACTGCTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGC
 A

73H5-1G2-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 68):

DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSIKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGIPS
 RFSGSGSGTDFTLTITSLEPEDFAMYQCQHN EYPLTFGAGTRLELK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 69):

GATGTCCAAATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGA
 AACCATTA CTATTAATTGCAGGGCAAGTAAGAGTATTATCAAATATTTAG
 CCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAA ACTAATAAGCTTCTTATCTACTCT
 GGATCCACTTTGCAATCTGGAATTCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGATC
 TGGTACAGATTTCACTCTCACCATCACTAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTG
 CAATGTATTA CTGTCAACAGCATAATGAATACCCGCTCACGTTCCGGTGCT
 GGGACCAGGCTGGAGCTGAAA

110D4G4-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 70):

EVQLQQSGPGLVKPGASVKISCRASGYLFTGY YMNWVKQSPEKSLEWIGEINPNTGD
 PRYDQKFKAKATLTVDRSSSTAYMHLKSLTSEDS AVYFCARRDYGTSLDYWGQGT
 LTVTS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 71):

GAGGTT CAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGGGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTC
 AGTGAAGATATCCTGCAGGGCTTCTGGTTACCTAT TCACTGGCTACTACA

TGAACTGGGTGAAGCAAAGTCCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTA
ATCCTAACACTGGTGATCCTAGATACGACCAGAAGTTTAAGGCCAAGGCCACATT
GACTGTAGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGCACCTCAAGAGCCTGACATCT
GAAGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCCAGGAGGGACTACGGTACTAGCCTTGACT
ACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCACCTCA

110D4G4-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 72):

DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKP GKTKNKLIIYSGSTLQSGIPS
RFSGSGSGSDFTLTISSLEPEDFAMYQCQHNEYPLTFGAGTKLELK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 73):

GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGA
AACCATTA CTATTAATTGCAGGGCAAGTAAGAGCATTAGCAAATATTTAG
CCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAAАСТААТАAGCTTCTTATCTACTCT
GGATCCACTTTGCAATCTGGAATTCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC
TGGTTCAGATTTCACTCTCACCATCAGTAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTG
CAATGTATTACTGTCAACAGCATAATGAATATCCGCTCACGTTCCGGTGCT
GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

81A1F8-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 74):

EVQLQQSGPELVKPGASVKISKATGYLFTGYMNWVKQSPEKSLEWIGEINPNTGD
TNNNQKFKAKATMTVDRSSSTAYMQLKRLTSEDSAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGT
TLTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 75):

GAGGTTCACTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAAGCCTGGGGCTTC
AGTGAAGATATCCTGCAAGGCTACTGGTТАCTTATCACTGGCTACTACA
TGAACTGGGTGAAACAAAGTCCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATCA
ATCCTAACACTGGTGATACTAACAACAACCAGAAGTTCAAGGCCAAGGCCACAA
TGA CTGTTGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAAGAGGCTGACATC
TGAGGACTCTGCAGTCTATTATTGTGTAAGAAGGGACTACGGTACTAGTCTTGAC
TACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTC
CTCA

81A1F8-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 76):

DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSINKYLAWYQEKP GKTNKLLIHS GSTLQSGIPS
RFSGSRSGTDFTLTISNLEPEDFAMYQCQHNEYPITFGAGTKLELK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 77):

GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGA
AACCATTA CTATTAATTGCAGGGCAAGTAAGAGTATTAACAAATATTTAG
CCTGGTATCAAGAGAAACCTGGGAAAАСТААТАAGCTTCTTATCCACTCT
GGATCCACTTTGCAATCTGGAATTCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTAGATC
TGGAACAGATTTCACTCTCACCATCAGTAACCTGGAGCCTGAAGATTTTG
CAATGTATTACTGTCAACAACATAATGAATATCCGATCACGTTCCGGTGCT
GGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

100F2E3-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 78):

QVQLQQPGAELVRPGSSVKLSCKTSDYTFTSYWMDWVKQRPQG LEWIGNIYPSDS
KTHSNQKFRDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYGYAMDYWG
QGTSVTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 79):

CAGGTCCAАCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGTGAGGCCTGGGTCTTC
AGTGAAGCTGTCCTGCAAGACTTCTGACTACACCTTCACCAGCTACTGGA
TGGATTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAATGGATTGGTAAC
ATTTACCCTTCTGATAGTAAААCTCACTCCAATCAAAAGTTCAGGGACAA
GGCCACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCA
ACAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAAGAGGT
GGTTACTACGGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCAC
CGTCTCCTCA

100F2E3-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 80):

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGA
SIRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 81):

GACATTGTGATGACACAGTCTCCATCCTCCCTGAGTGTGTCAGCAGGAGA
GAAGGTCАCTATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGTCTGTТАААТАGTTGGAА
ATCAAGACAАCTACTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGCCTCCT
AAACTGTTGATCTACGGGGCАTCCATTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCG

CTTCACAGGCAGTGGATCTGGAACCGATTTCACTCTTACCATCAGTAGTG
TGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAAAATGATCATAGTTAT
CCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGTTGGAAATAAAA

111F3A2-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 82):

QVQLKESGPGLVAPSQLSITCTVSGFSLITYGVSWVRQPPGKGLEWLGVIWGDGTT
NYHSALKPRLTISKDDSKSQVLLKLNSLQTDDTATYYCANYYGYPPFAIYWGQGLV
TVSA

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 83):

CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAG
CCTGTCCATCACATGCACTGTCTCAGGATTCTCATTAATCACCTATGGTG
TAAGCTGGGTTCGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTA
ATATGGGGTGACGGGACCACAAATTATCATTTCAGCTCTCAAACCCAGACT
GACCATCAGCAAGGATGACTCCAAGAGCCAAGTCCTCTTAAAATTGAACA
GTCTGCAAACCTGATGACACAGCCACGTACTACTGTGCCAACTACTATGGT
TACCCCTTTTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGC
A

111F3A2-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 84):

DIQMTQSSSSFSVSLGDRVITCKASEDIYNRLAWYQQKPGSAPGVLISGATNLVTGIP
SRFSGSGSGKDYTLTITSLQTEDVATYYCQQYWSSPPTFGGGTKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 85):

GACATCCAGATGACACAATCTTCATCCTCCTTTTCTGTATCTCTAGGAGACAGAGT
CACCATTA CTTGCAAGGCAAGTGAGGACATATAATCGGTTAGCCTGGTATCAA
CAGAAACCAGGAAGTGCTCCTGGGGTCTTAATATCTGGTGCAACCAATTTGGTAA
CTGGGATTCTTCAAGATTCAGTGGCAGTGGATCTGGAAAGGATTACACTCTCAC
CATTACCAGTCTTCAGACTGAAGATGTTGCTACTTATTACTGTCAACAGTATTGGA
GTAGTCCTCCGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA

81A7A10-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 86):

QVQLKESGPGLVAPLQSLSITCTVSGFSLSSYGVSWSVRQLPGKGLEWLGVIWGDGST
DYHSTLTSRLSFSKDNSESQVFLKLNSLQTDDTATYYCAIFYGYDEGFAYWGQGLV
TVSA

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 87):

CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTTACAGAGCCTGT
 CCATCACATGCACTGTCTCAGGGTTCTCATTAAGCAGTTATGGTGTAAGCTGGGTT
 CGCCAGCTTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTGACGGG
 AGCACAGATTATCATTCAACTCTCACATCCAGACTGAGCTTCAGCAAGGATAATT
 CCGAGAGCCAAGTTTTCTTAAACTGAATAGTCTGCAAAGCTGATGACACAGCCAC
 АТАСТАСТГТГССАТТТТСТАТГГТТАСГАСГААГГГТТТГСТТАТТГГГГССААГ
 ГГАСТСТГГТСАСТГТСТТГСА

81A7A10-VL**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 88):**

ENVLTQSPAIMSAFLGEKVTMSCRASSTVNYMYWYQQKSDASPKVWIYYTSRLAPG
 VPARFSGSGSGNSFSLTISSMEGEDAATYYCQQFTSSPLTFGAGTKLELR

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 89):

GAAAATGTGCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATTTCTAGGGGAGAAGG
 TCACCATGAGCTGCAGGGCCAGCTCAACTGTAAATTACATGTAAGTGGTACCAGCA
 GAAGTCAGATGCCTCCCCCAAAGTTTGGATTTATTACACATCCAGGTTGGCTCCT
 GGAGTCCCAGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGAACTCTTTTTCTCTACAAT
 CAGCAGCATGGAGGGTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAGTTTACTAGT
 TCCCCGCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAGA

107D10D11-VH**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 101):**

QIQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLSSYGVNWVRQSPGKGLEWLGMIWSSGNT
 DYNAAFISRVSF TKDNSKSQVFFTMNSLQADDTAIYYCARIWYYGMDYWGQGTSVT
 VSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 102):

CAGATACAGCTGAAGCAGTCAGGACCTGGCCTAGTGCAGCCCTCACAGAGTCTGT
 CCATCACCTGCACAGTCTCTGGTTTCTCATTAAGTAGTTATGGTGTAATTTGGGTT
 CGCCAGTCTCCAGGAAAGGGTCTGGAATGGCTGGGAATGATATGGAGTGGTGGGA
 AACACAGACTATAATGCAGCTTTCATATCCAGAGTGAGCTTCACCAAGGACAATT
 CCAAGAGCCAAGTTTTCTTTACAATGAACAGTCTGCAAGCTGATGACACAGCCAT
 АТАТТАСТГТГССАГААТАТГГТАСТТАТГГТАТГГАСТТАСТГГГГТСАГГГААСС
 ТСАСТСАССГТСТССТСА

107D10D11-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 103):

DIVMTQSQKFMSTTVGDRVSITCKASQNVGTAVAWFQQKPGQSPKILIYSASIRYPGV
PDRFTGSGSGTDFTLTTSNVQSEDLADYFCLQYITFPRTFGGGTKLYIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 110):

GACATTGTGATGACCCAGTCTCAAAAATTCATGTCCACAACAGTAGGAGACAGG
GTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGGTACTGCTGTAGCCTGGTTTC
AACAGAAACCAGGACAATCTCCTAAAATACTGATTTATTCAGCATCCATTCGCTA
CCCTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC
ACCACTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACCTGGCAGATTATTTCTGTCTGCAATATA
TCACSTTTCCTCGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGTATATCAAA

101H9G9A2-VH**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 109):**

QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTYWMDWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDS
KTHYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGTSVTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 204):

CAGGTGCAGCTGCTGCAGCCCGGCGCTGAGCTGGTGAGACCCGGAAGCAGCGTG
AAGCTGAGCTGCAAAGCCAGCGACTACACATTCACAAGCTACTGGATGGACTGG
GTGAAACAGAGACCTGGCCAGGGACTGGAATGGATTGGAAACATCTACCCAGT
GACAGCAAGACCCACTACAACCAGAAGTTCAAGGACAAAGCCACCCTGACCGTG
GACAAGAGCAGCAGCACCGCCTACATGCAGCTGAACAGCCTGACCAGCGAAGAC
AGCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAAGAGGGCGGCTACTACGCCTATGCCATGGACT
ACTGGGGGCAGGGAACCAGCGTGACCGTGAGCAGC

101H9G9A2-VL**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 111):**

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLNSGNQDNYLAWYQQKPGQPPLLLYG
ARIRESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 205):

GACATTGTGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGTGAGCGCCGGAGAAAAA
GTGACCATGAGATGCAAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGAACAGCGGGAACCAGGAC
AACTACCTGGCCTGGTATCAACAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAACCTGCTGCTGT
ATGGAGCCAGAATCAGAGAGAGCGGCGTGCCCGACAGATTCATCGGCAGCGGCA
GCGGAACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCGTGCAGGCTGAGGACCTGGCCGT

ГТАСТАСТGCCAGAACGACCACAGCTACCCCTATAACCTTTGGAGGCGGCACCAAG
GTGGAGATCAAAA

173B1C1-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 118):

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTSNTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPGSA
YTNYNQKFNDKATLTADKSSSTASMQLSSLTSEDSAVYYCARLATYYDNDGYAMD
YWGQGTSVTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 206):

CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAACTGGCAAGACCTGGTGCCTCAGTGA
AGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTACTAGCAACACGATGCACTGGGT
AAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGATACATTAATCCTGGCAG
TGCTTATACTAACTACAATCAGAAGTTCAATGACAAGGCCACATTGACTGCAGAC
AAGTCCTCCAGCACAGCCTCCATGCAACTGAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTG
CAGTCTATTACTGTGCAAGACTCGCGACCTACTATGATAACGACGGATATGCTAT
GGACTATTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

173B1C1-VL(1)

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 120):

DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSKLHSGV
PSRFSGSGSGTDFSLTITNLEQEDFATYFCQQGHLPWTFGGGKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 207):

GACATCCAGATGACACAGTCTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAG
TCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAATTATTTAAACTGGTATCA
GCAGAAACCAGATGGAACCTGTTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAAATTACAC
TCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTTTTCTCTCA
CCATTACCAACCTGGAGCAAGAAGATTTTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTCA
TACGTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAACCTGGAGATCAAAA

173B1C1-VL(2)

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 221):

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSKLHSGV
PSRFSGSGSGTDFSLTITNLEQEDFATYFCQQGHLPWTFGGGKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 208):

GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAG
TCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAATTATTTAAACTGGTATCA

GCAGAAACCAGATGGAACTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAAATTACAC
TCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTTTTCTCTCA
CCATTACCAACCTGGAGCAAGAAGATTTTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTCA
TACGCTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAACCTGGAGATCAAA

107D10E11-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 122):

EVQLQQSGTGLVKPGTSLKLSCKASGYSFTSYWITWVKQRPGQGLEWIGDISPAGGG
RNYNERFKNKATLTVDASSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCVRGDSVLDLDYWGQGT
LTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 228):

GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGACTGGACTTGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGA
AGTTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACAGCTTCACCAGCTACTGGATAACCTGGGT
GAAACAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTTCTCCTGCTGGT
GGTGGTCGTAАCTACAATGAGAGATTCAAGAACAAGGCCACACTGACTGTAGAC
GCATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTG
CGGTCTATTAАCTGTGTAAGAGGTGATAGTACGGTAGACTTAGACTACTGGGGCCA
AGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

107D10E11-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 124):

DIVMTQAAPSVPTPGESVSISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQRPGQSPQLLIYRVSNL
ASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPYTFGGGTKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 229):

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCACCCTCTGTACCTGTCACTCCTGGAGAGTCAG
TATCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTGCATAGTAATGGCAACACTTA
CTTGTATTGGTTCCTGCAGAGGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATATATCGGG
TGTCCAACCTTGCCTCAGGAGTCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTTCAGGGAC
TGCTTTCACACTGAGAATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTAC
TGTATGCAACATCTAGAATATCCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAA
ATAAAA

109G10A6-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 132):

EVLLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYGFTDYNMDWIKQSHGKSLEWIGDINPHNGD
 TIYNQKFKGKAKLTVDKSSTTAYMELRSLASEDTAVYYCARRGAYYYGSSHYALDF
 WGQGTSVTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 209):

GAGGTCCTGCTGCAACAGTCTGGACCTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGA
 AGATACCCTGCAAGGCTTCTGGATACGGATTCAGTACTACAACATGGACTGGAT
 AAAACAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTAATCCTCACAA
 TGGTGATACTATCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCAAATTGACTGTAGAC
 AAGTCCTCCACCACTGCCTACATGGAACCTCCGCAGCCTGGCATCTGAGGACACCG
 CAGTCTATTACTGTGCAAGGAGGGGGGCATATTACTACGGTAGTAGCCACTATGC
 TCTGGACTTCTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA

109G10A6-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 134):

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDITNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLFSGV
 PSRFSGSGSGTDYSLTISNLKREDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 210):

GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAG
 TCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTACCAATTATTTAAACTGGTATCA
 GCAGAAACCAGATGGAACCTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTATTC
 TCAGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCA
 CCATTAGCAACCTGAAACGAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAA
 TACGCTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA

94G12D11-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 141):

EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYLFTGYMNWVKQSPEKSLEWIGEINPNKGD
 SNLNQNFKAKATLTVDKSSSTAYMQFKSLTFEDSAVYFCVRRDYGTSLDHWGQGT
 LTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 211):

GAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGA
 AGATATCCTGCAAGGCCTCTGGTACTTATTCAGTGGCTACTACATGAACTGGGT
 GAAACAAAGTCCTGAAAAGAGTCTTGAGTGGATTGGAGAGATTAATCCTAACAA
 AGGTGATAGTAATCTCAACCAGAATTTCAAGGCCAAGGCCACATTGACTGTTGAC
 AAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGTTCAAGAGCCTGACATTTGAGGACTCTG

CAGTCTATTTCTGTGTAAGAAGGGACTACGGCACTAGTCTTGACCACTGGGGCCA
AGGCACGACTCTCACAGTCTCCTCA

94G12D11-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 143):

DVQITQSPSYLATSPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKP GKTKKLLIYSGSTLHTAIPS
RFSGRGFDTFTLTISLEPEDFAMYYCQHN EYPITFGGGTKLELK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 212):

GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTACATCTCCTGGAGAAACCAT
ТАСТАТТААТТGCAGGGCAAGТААGAGТАТТАGCAAАТАТТТАGССТGGТATCAA
GAGAAACCTGGGAAAАСТАAGAAGCTTCTTATCTACTCTGGATCCACTTTGCATA
CTGCAАТТCCATCAAGGТTCAGTGGCCGTGGATTTGGTACAGATTTCACTCTCACC
ATCAGTAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAGCATAATG
ААТАССААТСАСАТТССGGTGGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

92F5B8-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 146):

EVQLQQSGPELVKPGASVKISKATGYLFTGYMNWVKQSPEKSLEWIGEINPNTGD
TNNNQKFKAKATMTVDRSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCVRRDYGTSLDYWGQGT
TLTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 213):

GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGTTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGA
AGATATCCTGCAAGGCTACTGGTТАCTТАТТCACTGGCTACTACATGAACTGGGT
GAAGCAAAGTCCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATCAATCCTAACAC
TGGTGATACTAACAACAACCAGAAGTTCAAGGCCAAGGCCACAATGACTGTTGA
CAGATCCTCCAGTACAGCCTACATGCAGCTCAAGAGCCTGACATCTGAGGACTCT
GCAGTCTATTTATTTGTGTAAGAAGGGACTACGGTACTAGCCTTGACTACTGGGGCC
AAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

92F5B8-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 148):

DVQITQSPSYLAASPGETITINCRASKSINKYLAWYQEKP GKTKNLLIHSSTLHSGIPS
RFSGSRSGTDFTLTISNLEPEDFAMYYCQHN EYPLTFGAGTKLELK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 214):

GATGTCCAGATAACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCATCTCCTGGAGAAACCAT
ТАСТАТТААТТGCAGGGCAAGТААGAGТАТТААCAAАТАТТТАGССТGGТATCAA

GAGAAACCTGGGAAAАСТААТААGCTTCTTATCCACTCTGGATCCACTTTGCACT
 CTGGAATTCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTAGATCTGGAACAGATTTCACTCTCAC
 CATCAGTAACCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAACATAAT
 GAATACCCGCTCACGTTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA

185B11E3-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 156):

QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTSNTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPGSA
 YTNYNQKFNDKATLTADKSSSTASMQLSLTSSEDSAVYYCARLATYYDNDGYAMD
 YWGQGTSVTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 215):

CAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGGCCGAGCTGGCTAGACCCGGAGCTTCCGTG
 AAGATGAGCTGCAAAGCCAGCGGCTACACATTCACATCCAACACAATGCACTGG
 GTGAAACAGAGGCCTGGCCAGGGACTGGAGTGGATTGGGTACATCAACCCCGGC
 AGCGCCTACACCAACTACAACCAGAAATTCAATGACAAAGCCACACTGACCGCC
 GACAAAAGCAGCAGCACAGCCAGCATGCAGCTGAGCAGCCTGACCTCCGAGGAC
 AGCGCTGTGTACTACTGCGCCAGACTGGCCACCTACTACGACAACGACGGATACG
 CCATGGATTACTGGGGACAGGGAACCAGCGTGACCGTGAGCAGC

185B11E3-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 158):

ENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVNYMYWYQQRSSTSPKLWIYGTSKLAGSV
 PGRFSGSGSGNSYSLTISSM EAEDVATYYCFQGS GYPYTFGGGTKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 216):

GAGAAATGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCATGAGTGCCAGCCCAGGAGAGAAG
 GTGACAATGACATGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGAATTACATGTACTGGTACCAG
 CAGAGAAGCAGCACCAGCCCCAAGCTGTGGATCTACGGCACCAGCAAGCTGGCC
 AGCGGAGTGCCCGGCAGATTCTCCGGAAGTGGAAGCGGAAATAGCTACAGCCTG
 АСТАТCAGCAGCATGGAGGCCGAAGATGTTGCTACCTACTACTGCTTTCAGGGCA
 GCGGCTACCCCTACACCTTCGGCGGGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAG

168B11E2-VH

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 164):

QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVS WVRQPPGKLEWLGVIWGDGNT
 NYHSALISRLSISKDNSKSQVFLKLNLSLQTD DDTATYYCANLYVLFAYWGQGLVTVS

A

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 217):

CAGGTGCAGCTGAAGGAAAGCGGCCCCCGGCCTGGTGGCCCCATCTCAGAGTCTG
AGCATCACCTGCACAGTGAGCGGCTTCAGCCTGACAAGCTACGGCGTGAGCTGG
GTGAGACAGCCCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGCTGGGCGTGATTTGGGGCGAC
GGCAACACAACTACCACAGCGCCCTGATCAGCAGACTGAGCATCAGCAAGGAC
AATAGCAAGAGCCAGGTGTTCTGAAGCTGAACAGCCTGCAGACCGACGACACC
GCCACCTACTACTGCGCCAACCTGTACGTGCTGTTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCA
CCCTGGTGACCGTGAGCGCT

168B11E2-VL**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 166):**

ENVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSSTSPKLWIYGTSKLASGV
PGRFSGSGNSYSLTISSMEAEDVATYYCFQSGYPYTFGGGTKLEIK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 218):

GAGAATGTGCTGACCCAGAGCCCCGCCATCATGAGTGCCAGCCCAGGAGAGAAG
GTGACAATGACATGCAGCGCCAGCAGCAGCGTGAGTTACATGCACTGGTACCAG
CAGAAGAGCAGCACCAGCCCCAACTGTGGATCTACGGGACCAGCAAGCTGGCC
AGCGGAGTGCCCGGAAGATTCAGTGGCAGCGGAAGCGGCAATAGCTACAGCCTG
ACTATCAGCAGCATGGAGGCCGAAGATGTTGCTACCTACTACTGTTTTTCAGGGAA
GCGGCTACCCATACACCTTCGGGGGGGGGACCAAGCTGGAAATCAAG

188H6D3-VH**Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 174):**

QVQLQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWIHWVKQRPQGLEWIGDINPTNG
GTNYNEKFKTKAILTVDRSSSTAYMQVSSLTSEDSAVYYCARSGGYDFDYWGQGT
LTVSS

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 219):

CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCAGGCACAGAGCTGGTGAAGCCCGGCGCCAGCGTG
AACTGAGCTGCAAAGCCAGCGGCTACACCTTCACAACTACTGGATTCATTGGG
TGAAGCAGAGGCCTGGCCAGGGACTGGAGTGGATCGGCGACATTAACCCACAA
ACGGAGGCACAACTACAACGAGAAATCAAGACCAAAGCCATCCTGACCGTGG
ACAGAAGCAGTAGCACAGCCTACATGCAGGTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACA
GCGCCGTGTAATAATTGCGCCAGAAGCGGCGGCTACGACTTCGACTACTGGGGCCA
GGGCACCACCCTGACCGTGAGCAGC

188H6D3-VL

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 176):

DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLNWLLQRPQGQSPKRLIYLVSK
LDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTYFPLTFGAGTKLELK

Последовательность нуклеиновой кислоты (SEQ ID NO: 220):

GACGTGGTGATGACCCAGACCCCCCTGACACTGAGCGTGACCATCGGACAGCCC
GCCAGCATCAGCTGCAAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGGACAGCGACGGAAAAACA
TATCTGAATTGGCTGCTGCAGAGGCCTGGCCAGAGCCCCAAAAGACTGATCTACC
TGGTGAGCAAGCTGGACAGCGGGGTGCCCGACAGATTCACCGGCAGCGGAAGCG
GCACCGACTTCACCCTGAAGATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGACCTGGGCGTGT
ACTACTGCTGGCAGGGAACCTACTTCCCCCTGACCTTTGGAGCCGGCACCAAGCT
GGAAGTGAAG

Известно, что CDR ответственны за связывание антигена, однако обнаружили то, что не все из 6 CDR являются обязательными или неизменяемыми. Другими словами, возможно заменять или изменять, или модифицировать одну или более чем одну CDR в антителе против CD24 33E7E12, 71A4F12, 56A7E3, 58F10-1F6, 73H5-1G2, 110D4G4, 81A1F8, 100F2E3, 111F3A2, 81A7A10 107D10D11, 101H9G9A2, 173B1C1, 107D10E11, 109G10A6, 94G12D11, 92F5B8, 185B11E3, 168B11E2 или 188H6D3, при этом по существу сохранять аффинность специфичного связывания с CD24.

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела против CD24 и антигенсвязывающие фрагменты содержат последовательность CDR3 тяжелой цепи одного из антител против CD24 33E7E12, 71A4F12, 56A7E3, 58F10-1F6, 73H5-1G2, 110D4G4, 81A1F8, 100F2E3, 111F3A2, 81A7A10 107D10D11, 101H9G9A2, 173B1C1, 107D10E11, 109G10A6, 94G12D11, 92F5B8, 185B11E3, 168B11E2 или 188H6D3. В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела против CD24 и антигенсвязывающие фрагменты содержат последовательность CDR3 тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 97, 104, 105, 106, 113, 114, 115, 126, 127, 128, 136, 137, 150, 151, 152, 160, 161, 162, 168, 169 170, 222, 223 и 224. Области CDR3 тяжелой цепи располагаются в центре антигенсвязывающего сайта, и, следовательно, считается, что они образуют наибольший контакт с антигеном и обеспечивают наибольшую свободную энергию для аффинности антитела к антигену. Также считается, что CDR3 тяжелой цепи является самой разнообразной CDR антигенсвязывающего сайта в показателях длины, аминокислотного состава и конформации посредством

многочисленных механизмов диверсификации (Tonegawa S. *Nature*. 302:575-81). Разнообразие CDR3 тяжелой цепи является достаточным для получения большинства специфичностей антител (Xu JL, Davis MM. *Immunity*. 13:37-45), а также желательной аффинности связывания антигена (Schier R, etc. *J Mol Biol*. 263:551-67).

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты содержат подходящие последовательности каркасной области (FR), при условии, что данные антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты могут специфично связываться с CDR24. Последовательности CDR, приведенные в Таблице 1, получают из мышиных антител, но они могут быть привиты на любые подходящие последовательности FR любого подходящего вида, такого как, среди прочих, мышь, человек, крыса, кролик, с использованием подходящих способов, известных в данной области, таких как методики генной инженерии.

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты являются гуманизированными. Гуманизированное антитело или антигенсвязывающий фрагмент является желательным из-за его пониженной иммуногенности у человека. Гуманизированное антитело является химерным в его переменных областях, так как последовательности CDR, не являющиеся человеческими, прививаются на человеческие или по существу человеческие последовательности FR. Гуманизацию антитела или антигенсвязывающего фрагмента можно по существу проводить посредством замены соответствующих человеческих генов CDR в человеческом гене иммуноглобулина генами CDR, не являющимися человеческими (такими как мышиные) (см., например, Jones et al. (1986) *Nature* 321:522-525; Riechmann et al. (1988) *Nature* 332:323-327; Verhoeven et al. (1988) *Science* 239:1534-1536).

Для достижения данной цели можно отбирать подходящие переменные домены человеческой тяжелой цепи и легкой цепи с использованием способов, известных в данной области. В иллюстративном подходе можно использовать подход «наилучшего соответствия», где последовательность переменного домена антитела, не являющегося человеческим (например, грызуна) подвергается скринингу или поиску BLAST относительно базы данных известных последовательностей человеческого переменного домена, и ближайшая человеческая последовательность к запрашиваемой последовательности, не являющейся человеческой, идентифицируется и используется в качестве человеческого каркаса для прививки последовательностей CDR, не

являющихся человеческими (см., например, Sims et al, (1993) *J. Immunol.* 151:2296; Chothia et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901). В качестве альтернативы, для прививки CDR, не являющихся человеческими, можно использовать каркас, происходящий из консенсусной последовательности всех человеческих антител (см., например, Carter et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; Presta et al. (1993) *J. Immunol.*, 151:2623). В некоторых воплощениях предложенные здесь гуманизированные антитела или антигенсвязывающие фрагменты состоят из по существу всех человеческих последовательностей, за исключением последовательностей CDR, которые не являются человеческими. В некоторых воплощениях FR варибельной области и константные области, если они присутствуют, целиком или по существу происходят из последовательностей человеческих иммуноглобулинов. Последовательности человеческой FR и последовательности человеческой константной области могут происходить от разных генов человеческих иммуноглобулинов, например, последовательности FR происходят от одного человеческого антитела, а константная область – от другого человеческого антитела.

Согласно настоящему раскрытию также предложены антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие одну или более чем одну (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) последовательность CDR гуманизированного антитела против CD24 81A1F8-VH11/VL11, 81A1F8-VH21/VL11, 81A1F8-VH31/VL11, 81A1F8-VH11/VL21, 81A1F8-VH21/VL21, 81A1F8-VH31/VL21, 81A1F8-VH11/VL31, 81A1F8-VH21/VL31, 81A1F8-VH31/VL31, 81A1F8-VH11/VL41, 81A1F8-VH21/VL41 или 81A1F8-VH31/VL41; или 101H9G9A2-mVH/mVL-V1, 101H9G9A2-mVH/mVL-V2, 101H9G9A2-mVH/mVL-V3, 101H9G9A2-mVH/mVL-V4, 101H9G9A2-mVH/mVL-V5, 101H9G9A2-hVH1/hVL1, 101H9G9A2-hVH1/hVL2, 101H9G9A2-hVH1/hVL3, 101H9G9A2-hVH1/hVL4, 101H9G9A2-hVH2/hVL1, 101H9G9A2-hVH2/hVL2, 101H9G9A2-hVH2/hVL3, 101H9G9A2-hVH2/hVL4, 101H9G9A2-hVH3/hVL1, 101H9G9A2-hVH3/hVL2, 101H9G9A2-hVH3/hVL3, 101H9G9A2-hVH3/hVL4, 101H9G9A2-hVH4/hVL1, 101H9G9A2-hVH4/hVL2, 101H9G9A2-hVH4/hVL3, 101H9G9A2-hVH4/hVL4, 101H9G9A2-hVH5/hVL1, 101H9G9A2-hVH5/hVL2, 101H9G9A2-hVH5/hVL3 или 101H9G9A2-hVH5/hVL4.

Термин «81A1F8-VH11/VL11» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизированному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое

содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 177 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 180.

Термин «81A1F8-VH21/VL11» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 178 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 180.

Термин «81A1F8-VH31/VL11» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 179 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 180.

Термин «81A1F8-VH11/VL21» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 177 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 181.

Термин «81A1F8-VH21/VL21» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 178 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 181.

Термин «81A1F8-VH31/VL21» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 179 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 181.

Термин «81A1F8-VH11/VL31» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 177 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 182.

Термин «81A1F8-VH21/VL31» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое содержит вариабельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 178 и вариабельную область легкой цепи SEQ ID NO: 182.

Термин «81A1F8-VH31/VL31» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 81A1F8, которое

содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 179 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 182.

Термин «81A1F8-VH11/VL41» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 81A1F8, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 177 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 183.

Термин «81A1F8-VH21/VL41» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 81A1F8, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 178 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 183.

Термин «81A1F8-VH31/VL41» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 81A1F8, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 179 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 183.

Термин «101H9G9A2-mVH/mVL-V1» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 189 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 195.

Термин «101H9G9A2-mVH/mVL-V2» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 189 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 196.

Термин «101H9G9A2-mVH/mVL-V3» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 189 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 197.

Термин «101H9G9A2-mVH/mVL-V4» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 189 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 198.

Термин «101H9G9A2-mVH/mVL-V5» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2,

которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 189 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 199.

Термин «101H9G9A2-hVH1/hVL1» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 190 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 200.

Термин «101H9G9A2-hVH1/hVL2» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 190 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 201.

Термин «101H9G9A2-hVH1/hVL3» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 190 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 202.

Термин «101H9G9A2-hVH1/hVL4» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 190 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 203.

Термин «101H9G9A2-hVH2/hVL1» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 191 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 200.

Термин «101H9G9A2-hVH2/hVL2» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 191 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 201.

Термин «101H9G9A2-hVH2/hVL3» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 191 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 202.

Термин «101H9G9A2-hVH2/hVL4» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2,

которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 191 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 203.

Термин «101H9G9A2-hVH3/hVL1» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 192 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 200.

Термин «101H9G9A2-hVH3/hVL2» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 192 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 201.

Термин «101H9G9A2-hVH3/hVL3» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 192 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 202.

Термин «101H9G9A2-hVH3/hVL4» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 192 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 203.

Термин «101H9G9A2-hVH4/hVL1» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 193 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 200.

Термин «101H9G9A2-hVH4/hVL2» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 193 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 201.

Термин «101H9G9A2-hVH4/hVL3» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 193 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 202.

Термин «101H9G9A2-hVH4/hVL4» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышиногo/химерного 101H9G9A2,

которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 193 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 203.

Термин «101H9G9A2-hVH5/hVL1» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 194 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 200.

Термин «101H9G9A2-hVH5/hVL2» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 194 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 201.

Термин «101H9G9A2-hVH5/hVL3» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 194 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 202.

Термин «101H9G9A2-hVH5/hVL4» в том виде, как он здесь используется, относится к гуманизованному антителу на основе мышинового/химерного 101H9G9A2, которое содержит переменную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 194 и переменную область легкой цепи SEQ ID NO: 203.

В Таблице 2 показаны последовательности CDR данных 37 гуманизованных антител против CD24 согласно нумерации IMGT. Ниже также приводятся последовательности переменной области тяжелой цепи и легкой цепи.

Таблица 2

ID антитела:		CDR1	CDR2	CDR3
81A1F8-VH11/VL11	VH	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 30	SEQ ID NO: 28
81A1F8-VH21/VL11		GYVMN	EINPNTGDTNN	RDYGTSL
81A1F8-VH31/VL11			NQKFKA	
81A1F8-VH11/VL21	VL	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 31

81A1F8-VH21/VL21 81A1F8-VH31/VL21 81A1F8-VH11/VL31 81A1F8-VH21/VL31 81A1F8-VH31/VL31 81A1F8-VH11/VL41 81A1F8-VH21/VL41 81A1F8-VH31/VL41		RASKSINKYLA	SGSTLQS	QQHNEYFIT
101H9G9A2-mVH/mVL-V1	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYA MDY
101H9G9A2-mVH/mVL-V1	VL	SEQ ID NO: 184	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLQSGNQD NY	GAR	QNDHSYPYT
101H9G9A2-mVH/mVL-V2	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYA MDY
101H9G9A2-mVH/mVL-V2	VL	SEQ ID NO: 185	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLNAGNQD NY	GAR	QNDHSYPYT
101H9G9A2-mVH/mVL-V3	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYA MDY
	VL	SEQ ID NO: 186	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLSSGNQD NY	GAR	QNDHSYPYT
101H9G9A2-mVH/mVL-V4	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYA MDY
101H9G9A2-mVH/mVL-V4	VL	SEQ ID NO: 187	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLLYSGNQD NY	GAR	QNDHSYPYT

101H9G9A2-mVH/mVL-V5	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYA MDY
101H9G9A2-mVH/mVL-V5	VL	SEQ ID NO: 188	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLLASGNQD NY	GAR	QNDHSYPYT
101H9G9A2-hVH1/hVL1 101H9G9A2-hVH1/hVL2 101H9G9A2-hVH1/hVL3 101H9G9A2-hVH1/hVL4 101H9G9A2-hVH2/hVL1 101H9G9A2-hVH2/hVL2	VH	SEQ ID NO: 104	SEQ ID NO: 105	SEQ ID NO: 106
		DYTFTSYW	IYPSDSKT	ARRGGYYAYA MDY
101H9G9A2-hVH2/hVL3 101H9G9A2-hVH2/hVL4 101H9G9A2-hVH3/hVL1 101H9G9A2-hVH3/hVL2 101H9G9A2-hVH3/hVL3 101H9G9A2-hVH3/hVL4 101H9G9A2-hVH4/hVL1 101H9G9A2-hVH4/hVL2 101H9G9A2-hVH4/hVL3 101H9G9A2-hVH4/hVL4 101H9G9A2-hVH5/hVL1 101H9G9A2-hVH5/hVL2 101H9G9A2-hVH5/hVL3 101H9G9A2-hVH5/hVL4	VL	SEQ ID NO: 107	SEQ ID NO: 108	SEQ ID NO: 37
		QSLNLSGNQD NY	GAR	QNDHSYPYT

Последовательности вариабельной области тяжелой или легкой цепи данных гуманизированных антител приводятся ниже.

81A1F8-VH11/VL11

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 177):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSISTAYMELSSLRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 180):

DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH21/VL11

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 178):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 180):

DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH31/VL11

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 179):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTITVDRSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
TLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 180):

DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH11/VL21

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 177):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSISTAYMELSSLRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 181):

DVQITQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH21/VL21

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 178):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 181):

DVQITQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH31/VL21

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 179):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTITVDRSASTAYMELSSLRSED TAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
TLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 181):

DVQITQSPSFLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH11/VL31

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 177):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSISTAYMELSR LRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 182):

DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKVPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH21/VL31

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 178):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 182):

DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKVPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPITFGQGTKLEIK

81A1F8-VH31/VL31

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 179):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTITVDRSASTAYMELSSLRSEDNAVYYCVRRDYGTSLDYWGQG
TLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 182):

DVQITQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKVPKLLIHSGSTLQSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYIPITFGQGKLEIK

81A1F8-VH11/VL41

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 177):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSISTAYMELSSLRSDDTAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 183):

DVQITQSPSTLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGV
PSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQHNEYIPITFGQGKLEIK

81A1F8-VH21/VL41

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 178):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQGLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTMTVDRSTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCVRRDYGTSLDYWGQ
GTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 183):

DVQITQSPSTLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGV
PSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQHNEYIPITFGQGKLEIK

81A1F8-VH31/VL41

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 179):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYLFTGYYMNWVRQAPGQRLEWMGEINPNT
GDTNNNQKFKARVTITVDRSASTAYMELSSLRSEDNAVYYCVRRDYGTSLDYWGQG
TLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 183):

DVQITQSPSTLSASVGDRVTITCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIHSGSTLQSGV
PSRFSGSRSGTEFTLTISSLQPDFATYYCQQHNEYIPITFGQGKLEIK

101H9G9A2-mVH/mVL-V1

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 189):

QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTSYWMDWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDS
KTHYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGTSVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 195):

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLQSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYG
ARIRESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
101H9G9A2-mVH/mVL-V2

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 189):

QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTSYWMDWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDS
KTHYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGTSVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 196):

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLNAGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYG
ARIRESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
101H9G9A2-mVH/mVL-V3

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 189):

QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTSYWMDWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDS
KTHYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGTSVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 197):

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLSSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYGA
RIRESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
101H9G9A2-mVH/mVL-V4

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 189):

QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTSYWMDWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDS
KTHYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGTSVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 198):

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLYSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYG
ARIRESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK
101H9G9A2-mVH/mVL-V5

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 189):

QVQLLQPGAELVRPGSSVKLSCKASDYTFSTSYWMDWVKQRPGQGLEWIGNIYPSDS
KTHYNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGTSVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 199):

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMRCKSSQSLLASGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLLYG
ARIRESGVPDRFIGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGGTKVEIK
101H9G9A2-hVH1/hVL1

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 190):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 200):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGA
RIRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGGTKVEIK
101H9G9A2-hVH1/hVL2

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 190):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 201):

DIVMTQSPLSLPVTPEPASPISCKSSQSLLNSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARI
RESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCQNDHSYPYTFGGGGTKVEIK
101H9G9A2-hVH1/hVL3

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 190):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 202):

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLLNSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA
RIRESGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGGTKVEIK
101H9G9A2-hVH1/hVL4

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 190):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 203):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGA
RIRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH2/hVL1

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 191):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 200):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGA
RIRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH2/hVL2

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 191):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 201):

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARI
RESGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH2/hVL3

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 191):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 202):

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA
RIRESGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH2/hVL4

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 191):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQRLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDNAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 203):

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGA
RIRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH3/hVL1

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 192):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 200):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGA
RIRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH3/hVL2

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 192):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 201):

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARI
RESGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH3/hVL3

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 192):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSISTAYMELSRRLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 202):

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA
RIRESGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

101H9G9A2-hVH3/hVL4

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 192):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSISTAYMELSRLSDDTAVYYCARRGGYYAYAMDY
WGQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 203):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGA
RIRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGKVEIK

101H9G9A2-hVH4/hVL1

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 193):

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSD
SKTHYNQKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 200):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGA
RIRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGKVEIK

101H9G9A2-hVH4/hVL2

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 193):

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSD
SKTHYNQKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 201):

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARI
RESGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGYYCQNDHSYPYTFGGGKVEIK

101H9G9A2-hVH4/hVL3

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 193):

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASDYTFSTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSD
SKTHYNQKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 202):

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLNLSGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA
RIRESGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGGKVEIK

101H9G9A2-hVH4/hVL4

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 193):

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPSD
SKTHYNQKFKDRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARRGGYYAYAMDYW
GQGTLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 203):

DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKSSQSLN SGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGA
RIRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDL ATYYCQNDHSYPYTFGGG TKVEIK
101H9G9A2-hVH5/hVL1

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 194):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMD
YWGQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 200):

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLN SGNQDNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGA
RIRESGV PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGG TKVEIK
101H9G9A2-hVH5/hVL2

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 194):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMD
YWGQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 201):

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLN SGNQDNYLAWYLQKPGQSPQLLIYGARI
RESGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCQNDHSYPYTFGGG TKVEIK
101H9G9A2-hVH5/hVL3

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 194):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMD
YWGQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 202):

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKSSQSLN SGNQDNYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA
RIRESGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDLAVYYCQNDHSYPYTFGGG TKVEIK
101H9G9A2-hVH5/hVL4

Аминокислотная последовательность VH (SEQ ID NO: 194):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASDYTFTSYWMDWVRQAPGQGLEWMGNIYPS
 DSKTHYNQKFKDRVTMTVDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARRGGYYAYAMD
 YWGQGLVTVSS

Аминокислотная последовательность VL (SEQ ID NO: 203):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLNSGNQDNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGA
 RIRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLATYYCQNDHSYPYTFGGGTKVEIK

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела против CD24 и их фрагменты дополнительно содержат константную область иммуноглобулина. В некоторых воплощениях константная область иммуноглобулина содержит константную область тяжелой цепи и/или легкой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит CH1, шарнир и/или области CH2-CH3. В некоторых воплощениях константная область тяжелой цепи содержит область Fc. В некоторых воплощениях константная область легкой цепи содержит Cк или Cл.

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты имеют константную область иммуноглобулина (Ig), возможно человеческого Ig, возможно человеческого IgG. В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты содержат константную область человеческого IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

Изотипы человеческого IgG (подклассы зрелых антител – гамма-глобулинов класса G; IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) демонстрируют дифференциальную способность к рекрутированию эффекторных функций. Например, ADCC стимулируется IgG1 и IgG3, ADCP стимулируется IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, и CDC стимулируется IgG1 и IgG3. Специфичное для изотипа занятие таких эффекторных функций основывается на селективности в отношении рецепторов Fc на отличных иммунных клетках и способности к связыванию с C1q, активируя, посредством этого, сборку мембраноатакующего комплекса (MAC). Среди разных изотипов относительная аффинность в отношении рецепторов Fc γ , которые включают Fc γ RI, Fc γ RIIa/b/c и Fc γ RIIIa/b, является высокой для IgG1 и IgG3. Однако аффинность Fc γ в отношении IgG2 значительно ниже, за исключением полиморфизма H131 Fc γ RIIa, а IgG4 имеет измеримую аффинность лишь в отношении Fc γ RI.

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты содержат константную область изотипа IgG1, которая могла бы индуцировать ADCC, CDC или ADCP, или константную область изотипа IgG4

или IgG2, которая имеет пониженную или истощенную эффекторную функцию. Эффекторные функции, такие как ADCC и CDC, могут приводить к цитотоксичности в отношении клеток, экспрессирующих CD24. Эффекторные функции могут оцениваться с использованием разных анализов, таких как анализ связывания рецептора Fc, анализ связывания C1q и анализ лизиса клеток.

Варианты антител

Настоящее раскрытие также охватывает разные варианты предложенных здесь антител и/или их антигенсвязывающих фрагментов. В некоторых воплощениях настоящее раскрытие охватывает разные типы вариантов предложенного здесь типичного антитела, т.е. 33E7E12, 71A4F12, 56A7E3, 58F10-1F6, 73H5-1G2, 110D4G4, 81A1F8, 100F2E3, 111F3A2, 81A7A10 или 107D10D11.

В некоторых воплощениях данные варианты антитела содержат одну или более чем одну модификацию или замену в одной или более чем одной последовательности CDR, как предложено в Таблице 1, одной или более чем одной предложенной здесь последовательности FR, последовательности вариабельной области тяжелой или легкой цепи и/или константной области (например, области Fc). Такие варианты сохраняют аффинность специфичного связывания в отношении CD24 их родительских антител, но имеют одно или более чем одно желательное свойство, придаваемое модификацией(ями) или заменой(нами). Например, данные варианты антител могут иметь улучшенную аффинность связывания антигена, улучшенную картину гликозилирования, пониженный риск гликозилирования, пониженное дезаминирование, ослабленную(ные) или истощенную(ные) эффекторную(ные) функцию(ции), улучшенное связывание с рецептором FcRn, увеличенный фармакокинетический период полувыведения, чувствительность к pH и/или совместимость с конъюгированием (например, одного или более чем одного введенного остатка цистеина).

Последовательность родительского антитела может подвергаться скринингу для идентификации подходящих или предпочтительных остатков, подлежащих модификации или замене, с использованием способов, известных в данной области, например, «мутагенеза на основе аланинового сканирования» (см., например, Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085). Вкратце, целевые остатки (например, заряженные остатки, такие как Arg, Asp, His, Lys и Glu) могут быть идентифицированы и заменены нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (например, аланином или полиаланином), и модифицированные

антитела получают и подвергают скринингу на интересующее свойство. Если замена в конкретном положении аминокислоты демонстрирует интересующее функциональное изменение, тогда может быть идентифицировано положение в качестве потенциального остатка для модификации или замены. Потенциальные остатки могут дополнительно оцениваться посредством замены другим типом остатка (например, остатком цистеина, положительно заряженным остатком и т.д.).

Вариант по аффинности

Вариант по аффинности может содержать модификации или замены в одной или более чем одной последовательности CDR, как приводится в Таблице 1, предложенных здесь одной или более чем одной последовательности FR, или последовательности вариабельной области тяжелой или легкой цепи. Варианты по аффинности сохраняют аффинность специфичного связывания в отношении CD24 родительского антитела или даже имеют улучшенную аффинность специфичного связывания CD24 над родительским антителом. В некоторых воплощениях по меньшей мере одна (или все) замена(ны) в последовательностях CDR, последовательностях FR или последовательностях вариабельной области содержат консервативную замену.

Квалифицированному специалисту будет понятно то, что в последовательностях CDR, предложенных в Таблице 1, и последовательностях FR может быть заменен один или более чем один аминокислотный остаток, тем не менее, полученное в результате антитело или антигенсвязывающий фрагмент все еще сохраняет аффинность связывания в отношении CD24 или даже имеет улучшенную аффинность связывания. Для достижения данной цели можно использовать разные способы, известные в данной области. Например, можно получать библиотеку вариантов антител (таких как варианты Fab или scFv), экспрессировать с использованием технологии фагового дисплея и затем подвергать скринингу на аффинность связывания в отношении человеческого CD24. В качестве другого примера, можно использовать компьютерную программу для виртуальной симуляции связывания антител с человеческим CD24 и идентификации аминокислотных остатков на антителах, которые образуют поверхность контакта связывания. Таких остатков можно либо избегать при замене таким образом, чтобы предупреждать уменьшение аффинности связывания, либо делать их мишенью для замены для обеспечения более сильного связывания.

В некоторых воплощениях предложенное здесь гуманизованное антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит одну или более чем одну замену

аминокислотных остатков в одной или более чем одной последовательности CDR и/или одной или более чем одной последовательности FR. В некоторых воплощениях вариант по аффинности всего содержит не больше, чем 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 замену в последовательностях CDR и/или последовательностях FR.

В некоторых воплощениях антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты содержат 1, 2 или 3 последовательности CDR, имеющие по меньшей мере 80%-ную (например, по меньшей мере 85%-ную, 88%-ную, 90%-ную, 91%-ную, 92%-ную, 93%-ную, 94%-ную, 95%-ную, 96%-ную, 97%-ную, 98%-ную, 99%-ную) идентичность последовательности с последовательностью (или последовательностями), перечисленными в Таблице 1, и, в то же самое время, сохраняют аффинность связывания в отношении CD24 на аналогичном или даже большем уровне, чем его родительское антитело.

В некоторых воплощениях антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты содержат одну или более чем одну последовательность вариабельной области, имеющую по меньшей мере 80%-ную (например, по меньшей мере 85%-ную, 88%-ную, 90%-ную, 91%-ную, 92%-ную, 93%-ную, 94%-ную, 95%-ную, 96%-ную, 97%-ную, 98%-ную, 99%-ную) идентичность последовательности с последовательностью (или последовательностями), перечисленными в Таблице 1, и, в то же самое время, сохраняют аффинность связывания в отношении CD24 на аналогичном или даже большем уровне, чем его родительское антитело. В некоторых воплощениях в последовательности, выбранной из последовательности (или последовательностей), перечисленных в Таблице 1, всего было заменено, вставлено или удалено от 1 до 10 аминокислот. В некоторых воплощениях замены, вставки или делеции происходят в областях вне CDR (т.е. в FR).

Вариант по гликозилированию

Предложенные здесь антитела против CD24 и антигенсвязывающие фрагменты также охватывают вариант по гликозилированию, который может быть получен либо для увеличения, либо для уменьшения степени гликозилирования антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

Данное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может содержать один или более чем один аминокислотный остаток с боковой цепью, к которой может быть присоединена углеводная группировка (например, олигосахаридная структура). Гликозилирование антител типично является либо N-связанным, либо O-связанным. N-

связанное относится к присоединению углеводной группировки к боковой цепи остатка аспарагина, например, остатка аспарагина в трипептидной последовательности, такой как аспарагин-Х-серин и аспарагин-Х-треонин, где Х представляет собой любую аминокислоту, за исключением пролина. О-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикамину, чаще всего – к серину или треонину. Удаление природного сайта гликозилирования можно с удобством осуществлять, например, изменением аминокислотной последовательности таким образом, что заменяется одна из вышеописанных трипептидных последовательностей (для сайтов N-связанного гликозилирования) или остатка серина, или треонина (для сайтов О-связанного гликозилирования), присутствующие в данной последовательности. Новый сайт гликозилирования может быть создан аналогичным способом посредством введения такой трипептидной последовательности или остатка серина, или треонина.

Вариант с инженерией цистеина

Предложенные здесь антитела против CD24 и антигенсвязывающие фрагменты также охватывают вариант с инженерией цистеина, который содержит один или более чем один введенный свободный аминокислотный остаток цистеина.

Свободный остаток цистеина представляет собой остаток, который не является частью дисульфидного мостика. Вариант с инженерией цистеина является полезным для конъюгирования, среди прочих, например, цитотоксического и/или визуализирующего соединения, метки или радиоактивного изотопа, в сайте созданного посредством инженерии цистеина, например, посредством малеимида или галогенацетила. Способы инженерии антител или антигенсвязывающих фрагментов для введения свободных остатков цистеина известны в данной области, см., например, WO2006/034488.

Вариант Fc

Предложенные здесь антитела против CD24 и антигенсвязывающие фрагменты также охватывают вариант Fc, который содержит одну или более чем одну модификацию или замену аминокислотного остатка в его области Fc и/или шарнирной области.

В некоторых воплощениях антитела против CD24 или антигенсвязывающие фрагменты содержат одну или более чем одну аминокислотную замену, которая улучшает pH-зависимое связывание с неонатальным рецептором Fc (FcRn). Такой вариант может иметь увеличенный фармакокинетический период полувыведения, так как он связывается с FcRn при кислотном pH, что позволяет ему избегать деградации в

лизосоме и затем транслоцироваться и высвободиться из клетки. Способы конструирования антитела и его антигенсвязывающего фрагмента для улучшения аффинности связывания с FcRn хорошо известны в данной области, см., например, Vaughn, D. et al, *Structure*, 6(1): 63-73, 1998; Kontermann, R. et al, *Antibody Engineering*, Volume 1, Chapter 27: Engineering of the Fc region for improved PK, published by Springer, 2010; Yeung, Y. et al, *Cancer Research*, 70: 3269-3277 (2010) и Hinton, P. et al, *J. Immunology*, 176:346-356 (2006).

В некоторых воплощениях антитела против CD24 или антигенсвязывающие фрагменты содержат одну или более чем одну аминокислотную замену, которая изменяет антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC). Определенные аминокислотные остатки в домене CH2 области Fc могут быть заменены для обеспечения усиленной активности ADCC. Альтернативно или дополнительно, углеводные структуры на антителе могут быть изменены для увеличения активности ADCC. Способы изменения активности ADCC посредством инженерии антител были описаны в данной области, см., например, Shields RL. et al., *J Biol Chem*. 2001. 276(9): 6591-604; Idusogie EE. et al., *J Immunol*. 2000.164(8):4178-84; Steurer W. et al., *J Immunol*. 1995, 155(3): 1165- 74; Idusogie EE. et al., *J Immunol*. 2001, 166(4): 2571-5; Lazar GA. et al., *PNAS*, 2006, 103(11): 4005-4010; Ryan MC. et al., *Mol. Cancer Ther.*, 2007, 6: 3009-3018; Richards JO. et al., *Mol Cancer Ther.* 2008, 7(8): 2517-27; Shields R. L. et al, *J. Biol. Chem*, 2002, 277: 26733-26740; Shinkawa T. et al, *J. Biol. Chem*, 2003, 278: 3466-3473.

В некоторых воплощениях антитела против CD24 или антигенсвязывающие фрагменты содержат одну или более чем одну аминокислотную замену, которая изменяет комплементзависимую цитотоксичность (CDC), например, посредством улучшения или уменьшения связывания C1q и/или CDC (см., например, WO99/51642; Duncan & Winter *Nature* 322:738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США № 5624821); и WO94/29351 относительно других примеров вариантов области Fc.

В некоторых воплощениях антитела против CD24 или антигенсвязывающие фрагменты содержат одну или более чем одну аминокислотную замену в поверхности контакта области Fc для облегчения и/или стимулирования гетеродимеризации. Данные модификации включают введение выступа в первый полипептид Fc и впадины во второй полипептид Fc, где данный выступ может быть расположен во впадине таким образом, чтобы стимулировать взаимодействие первого и второго полипептида Fc с образованием

гетеродимера или комплекса. Способы получения антител с данными модификациями известны в данной области, например, как описано в патенте США № 5731168.

Антигенсвязывающие фрагменты

Здесь также предложены антигенсвязывающие фрагменты против CD24. Разные типы антигенсвязывающих фрагментов известны в данной области и могут быть разработаны на основе предложенных здесь антител против CD24, включая, например, типичные антитела, последовательности CDR и FR которых показаны в Таблице 1, и их разных вариантов (таких как варианты по аффинности, варианты по гликозилированию, варианты Fc, варианты с инженерией цистеина и так далее).

В некоторых воплощениях предложенный здесь антигенсвязывающий фрагмент против CD24 представляет собой камелизированное однодоменное антитело, диатело, одноцепочечный фрагмент Fv (scFv), димер scFv, BsFv, dsFv, (sdFv)₂, dsFv-dsFv', фрагмент Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, биспецифичное антитело, диатело ds, нанотело, доменное антитело, однодоменное антитело или двухвалентное доменное антитело.

Для получения таких антигенсвязывающих фрагментов можно использовать разные методики. Иллюстративные способы включают ферментативное расщепление интактных антител (см., например, Morimoto et al., *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117 (1992) и Brennan et al., *Science*, 229:81 (1985)), рекомбинантную экспрессию клетками-хозяевами, такими как *E. coli* (например, для фрагментов антитела Fab, Fv и ScFv), скрининг из библиотеки фагового дисплея, как обсуждалось выше (например, для ScFv), и химическое связывание двух фрагментов Fab'-SH с образованием фрагментов F(ab')₂ (Carter et al., *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)). Другие методики для получения фрагментов антител будут очевидными для квалифицированного практика.

В некоторых воплощениях антигенсвязывающий фрагмент представляет собой scFv. Получение scFv описывается, например, в WO 93/16185; патентах США № 5571894 и 5587458. scFv может быть слит с эффекторным белком либо на amino-, либо на карбоксиконце с получением слитого белка (см., например, *Antibody Engineering*, ed. Borrebaeck).

Биспецифичные антитела, многовалентные антитела

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела или их антигенсвязывающие фрагменты являются двухвалентными, четырехвалентными, шестивалентными или многовалентными. В некоторых воплощениях предложенные

здесь антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты являются моноспецифичными или биспецифичными.

Термин «валентный» в том виде, как он здесь используется, относится к присутствию точно определенного числа антигенсвязывающих сайтов в данной молекуле. Термины «двухвалентный», «четырёхвалентный» и «шестивалентный», как таковые, обозначают присутствие двух сайтов связывания, четырех сайтов связывания и шести сайтов связывания, соответственно, в антигенсвязывающей молекуле. Двухвалентная молекула может быть моноспецифичной, если два данных сайта связывания оба служат для специфического связывания одинакового антигена или одинакового эпитопа. Аналогично, трехвалентная молекула может быть биспецифичной, например, когда два сайта связывания являются моноспецифичными в отношении первого антигена (или эпитопа), а третий сайт связывания является специфичным в отношении второго антигена (или эпитопа).

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифичными, но двухвалентными, трехвалентными или четырехвалентными, с по меньшей мере двумя сайтами связывания, специфичными в отношении того же самого антигена или эпитопа. Это в некоторых воплощениях обеспечивает более сильное связывание с антигеном или эпитопом, чем для одновалентного аналога. В некоторых воплощениях в двухвалентной антигенсвязывающей группировке первая валентность сайта связывания и вторая валентность сайта связывания являются структурно идентичными (т.е. имеющими те же самые последовательности) или структурно различными (т.е. имеющими разные структуры, хотя и с той же самой специфичностью).

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела или их антигенсвязывающие фрагменты являются биспецифичными. В некоторых воплощениях предложенные здесь биспецифичные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты связываются с первым и вторым эпитопом CD24, где данные первый и второй эпитоп CD24 являются разными.

В некоторых воплощениях предложенные здесь биспецифичные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты связываются с первым эпитопом CD24 и вторым эпитопом антигена, отличным от CD24.

Предложенные здесь молекулы биспецифичного антитела могут находиться в любом подходящем биспецифичном формате, известном в данной области. Примеры

эталонных биспецифичных форматов антител, известных в данной области, включают, без ограничения, (1) биспецифичное антитело с симметричным Fc, (2) биспецифичное антитело с асимметричным Fc, (3) обычное антитело с добавлением дополнительной антигенсвязывающей группировки, (4) фрагмент биспецифичного антитела, (5) фрагмент обычного антитела с добавлением дополнительной антигенсвязывающей группировки, (6) биспецифичное антитело с добавлением человеческого альбумина или пептида, связывающего человеческий альбумин.

Биспецифичные IgG-подобные антитела (BsIgG) являются одновалентными в отношении каждого антигена и могут быть получены посредством коэкспрессии двух легких и двух тяжелых цепей в одной клетке-хозяине. IgG с добавлением конструируют для образования биспецифичного IgG посредством добавления либо к амино-, либо к карбоксильным концам либо легкой, либо тяжелой цепей дополнительных антигенсвязывающих звеньев. Данные дополнительные антигенсвязывающие звенья могут представлять собой однодоменные антитела (неспаренные VL или VH), такие как DVD-Ig, парные переменные домены антитела (например, Fv или scFv) или сконструированные белковые каркасы.

Биспецифичные фрагменты антитела представляют собой антигенсвязывающие фрагменты, которые происходят от антитела, но не имеют некоторых или всех константных доменов антитела. Примеры такого биспецифичного фрагмента антитела включают, например, такое однодоменное антитело, Fv, Fab и диатело, и т.д.

В некоторых воплощениях молекулы биспецифичного антитела в том виде, в котором они здесь предложены, основываются на формате «полного» антитела, такого как полный IgG или IgG-подобные молекулы, и маленьких рекомбинантных форматах, таких как молекулы с тандемными одноцепочечными переменными фрагментами (taFv), диатела (Db), одноцепочечные диатела (scDb) и их разные другие производные (ср. форматы биспецифичных антител, как описано Вугне Н. et al. (2013) Trends Biotech, 31 (11): 621-632. Примеры биспецифичного антитела основываются на формате, который включает квадруму, химически связанный Fab (антигенсвязывающий фрагмент) и ViTE (биспецифичный рекрутер Т-клеток), но не ограничиваются ими.

В некоторых воплощениях молекулы биспецифичного антитела в том виде, в котором они здесь предложены, находятся в биспецифичном формате, выбранном из Triomab; гибридной гибридомы (квадрома); мультиспецифичной антикалиновой платформы (Pieris); диател; одноцепочечных диател; тандемных одноцепочечных

фрагментов Fv; TabdAb, триспецифичных Ab (Affimed); Darts (повторное нацеливание с двойной аффинностью; MacroGenics); биспецифичных Xmab (Xencor); биспецифичных рекрутеров Т-клеток (Bites; Amgen; 55 кДа); тройных тел (Triplebodies); многофункциональных рекомбинантных производных антител в виде слитого белка Tribody (Fab-scFv) (Creative Biolabs); платформы Duobody (Genmab); платформы Dock and lock; платформы выступ во впадину (Knob into hole) (КИН); гуманизованного биспецифичного антитела IgG (REGN1979) (Regeneron); биспецифичных антител Mab2 (F-Star); DVD-Ig (иммуноглобулин с двойным варибельным доменом) (Abbvie); каппалямбда тел, ТВТИ (четырёхвалентный биспецифичный тандемный Ig) и CrossMab.

В некоторых воплощениях молекулы биспецифичного антитела в том виде, в котором они здесь предложены, находятся в биспецифичном формате, выбранном из следующих: BsIgG, содержащий CrossMab; DAF (два в одном); DAF (четыре в одном); DutaMab; DT-IgG; обычная LC (легкая цепь) с выступами во впадины; сборка выступов во впадины; заряженная пара; замена рук Fab; SEEDbody; Triomab; LUZ-Y; Fcab; каппалямбда-тело и ортогональный Fab. Относительно подробного описания биспецифичных форматов антител, пожалуйста, см. Spiess C., Zhai Q. and Carter P. J. (2015) *Molecular Immunology* 67: 95-106, которая включается сюда посредством ссылки во всей ее полноте.

В некоторых воплощениях молекулы биспецифичного антитела в том виде, в котором они здесь предложены, находятся в биспецифичном формате, выбранном из антител IgG с добавкой дополнительной антигенсвязывающей группировки, включающих DVD-IgG; IgG(H)-scFv; scFv-(H)IgG; IgG(L)-scFv; scFv-(L)IgG; IgG(L,H)-Fv; IgG(H)-V; V(H)-IgG; IgG(L)-V; V(L)-IgG; КИН IgG-scFab; 2scFv-IgG; IgG-2scFv; scFv4-Ig; scFv4-Ig; Zyboby и DVI-IgG (четыре в одном) (см. выше).

В некоторых воплощениях молекулы биспецифичного антитела в том виде, в котором они здесь предложены, находятся в формате, выбранном из фрагментов биспецифичного антитела, включая нанотело; нанотело-HAS; BiTE; диатело; DART; TandAb; сдиатело; sc-диатело-CH3; диатело-CH3; тройное тело; миниантитело; минитело; минитело TriBi; scFv-CH3 КИН; Fab-scFv; scFv-CH-CL-scFv; F(ab')₂; F(ab')₂-scFv₂; scFv-КИН; Fab-scFv-Fc; четырехвалентное HCAb; сдиатело-Fc; диатело-Fc; тандемное scFv-Fc и интратело (см. выше).

В некоторых воплощениях молекулы биспецифичного антитела в том виде, в котором они здесь предложены, находятся в биспецифичном формате, таком как Dock and Lock; ImmTAC; HSAbody; сциатело-HAS и тандемный scFv-токсин (см. выше).

В некоторых воплощениях молекулы биспецифичного антитела в том виде, в котором они здесь предложены, основываются на формате, выбранном из конъюгатов биспецифичного антитела, содержащих IgG-IgG; Cov-X-Body и scFv1-PEG-scFv2 (см. выше).

В некоторых воплощениях второй антигенсвязывающий домен связан функциональным образом с N-концом или C-концом домена, связывающего CD24. В некоторых воплощениях домен, связывающий CD24, связан функциональным образом с N-концом или C-концом второго антигенсвязывающего домена.

Функциональная связь может представлять собой прямую связь посредством химической связи или опосредованную связь через спейсер или через расположенную между ними последовательность. Термин «спейсер» в том виде, как он здесь используется, относится к искусственной аминокислотной последовательности, имеющей 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотных остатков, или длину от 5 до 15, 20, 30, 50 или более чем 50 аминокислотных остатков, связанных пептидными связями, и она используется для связывания одного или более чем одного связывающего домена, такого как scFv и Fab или IgG. Спейсер может быть идентичным или отличающимся от пептидного линкера в scFv. В некоторых воплощениях данный спейсер содержит 1, 2, 3, 4 или более, чем 4 последовательных или тандемных повторов SEQ ID NO: 90, 91, 92 и 93. В некоторых воплощениях данный спейсер содержит GGGGS (SEQ ID NO: 90). В некоторых воплощениях данный спейсер содержит GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 91), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 92), GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 93). Расположенная между последовательность в том виде, в котором здесь используется данный термин, может представлять собой любую аминокислотную последовательность, расположенную между доменом, связывающим CD24, и вторым антигенсвязывающим доменом, при условии, что и домен, связывающий CD24, и второй антигенсвязывающий домен способны к связыванию с их соответствующими антигенами. В иллюстративном примере расположенная между последовательность может содержать константную область тяжелой цепи или константную область легкой цепи.

В некоторых воплощениях второй антигенсвязывающий домен содержит scFv, а домен, связывающий CD24, содержит Fab или IgG. В некоторых воплощениях второй антигенсвязывающий scFv может быть связан функциональным образом с N-концом или C-концом тяжелой цепи Fab или IgG, связывающего CD24 (например, C-конец константной области тяжелой цепи после Fab, связывающего CD24), или с N-концом или C-концом легкой цепи Fab или IgG, связывающего CD24, или с любой их комбинацией и наоборот.

В иллюстративном примере молекула биспецифичного антитела может содержать тяжелую цепь в формате VH(против CD24)-CH1-шарнир-CH2-CH3-спейсер-второй антигенсвязывающий scFv или второй антигенсвязывающий scFv-спейсер-VH(против CD24)-CH1-шарнир-CH2-CH3, и легкую цепь в формате VL(против CD24)-CL. Термины VH(против CD24) и VL(против CD24) в том виде, как они здесь используются, относятся, соответственно, к переменному домену тяжелой и легкой цепи домена, связывающего CD24; второй антигенсвязывающий scFv относится к scFv второго антигенсвязывающего домена, CL относится к константной области легкой цепи; и CH1-шарнир-CH2-CH3 в совокупности представляют собой константную область тяжелой цепи.

В другом иллюстративном примере молекула биспецифичного антитела может содержать легкую цепь в формате второй антигенсвязывающий scFv-спейсер-VL(против CD24)-CL или VL(против CD24)-CL-спейсер-второй антигенсвязывающий scFv и тяжелую цепь в формате VH(против CD24)-CH1-шарнир-CH2-CH3 аналогичным образом.

В некоторых воплощениях домен, связывающий CD24, содержит scFv, а второй антигенсвязывающий домен содержит Fab или IgG. В некоторых воплощениях scFv домена, связывающего CD24, может быть связан функциональным образом с N-концом или C-концом тяжелой цепи второго антигенсвязывающего Fab или IgG (например с C-концом константной области тяжелой цепи после Fab, связывающего CD24) или с N-концом или C-концом легкой цепи второго антигенсвязывающего Fab или IgG, или их любой комбинацией и наоборот.

В иллюстративном примере молекула биспецифичного антитела может содержать тяжелую цепь в формате VH, связывающий второй антиген-CH1-шарнир-CH2-CH3-спейсер-scFv(против CD24) или scFv(против CD24)-спейсер-второй антигенсвязывающий VH-CH1-шарнир-CH2-CH3 и легкую цепь в формате второй

антигенсвязывающий VL-CL аналогичным образом. В другом иллюстративном примере молекула биспецифичного антитела может содержать легкую цепь в следующем формате: scFv(против CD24)-спейсер-второй антигенсвязывающий VL-CL или второй антигенсвязывающий VL-CL-спейсер-scFv(против CD24) и второй антигенсвязывающий VH тяжелой цепи-CH1-шарнир-CH2-CH3 аналогичным образом.

В предложенной здесь молекуле биспецифичного антитела второй антигенсвязывающий домен может быть одновалентным (т.е. один scFv или Fab) или многовалентным (т.е. более чем один scFv или Fab), и/или домен, связывающий CD24, может быть одновалентным или многовалентным.

В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой мишень, связанную с иммунитетом, возможно выбранную из группы, состоящей из следующих: PD-L1, PD-L2, PD-1, CLTA-4, TIM-3, LAG3, CD160, 2B4, TGF β , VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, OX40, CD2, CD27, ICAM-1, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3, LFA-1, ICOS, 4-1BB, GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, IL-2, IL-15, CD3, CD16, SIRP α , Siglec 10, LILRB2, Clever-1, Macro, LILRB4, Siglec15, CSF1R, PSGL-1, VSIG-4, B2M и CD83.

В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой антиген, ассоциированный с опухолью, или его эпитоп. Термин «антиген, ассоциированный с опухолью», используемый взаимозаменяемо с термином «опухолевый антиген», относится к антигену, который присутствует или может присутствовать на поверхности опухолевой клетки, и который локализуется на или внутри опухолевых клеток. В некоторых воплощениях антигены, ассоциированные с опухолью, могут быть презентированы только опухолевыми клетками, а не нормальными, т.е. неопухолевыми клетками. В некоторых других воплощениях антигены, ассоциированные с опухолью, могут экспрессироваться исключительно на опухолевых клетках или могут представлять опухолеспецифичную мутацию по сравнению с неопухолевыми клетками. В некоторых других воплощениях антигены, ассоциированные с опухолью, могут находиться как в опухолевых клетках, так и в неопухолевых клетках, но сверхэкспрессируются на опухолевых клетках по сравнению с неопухолевыми клетками или доступны для связывания антитела в опухолевых клетках из-за менее компактной структуры опухолевой ткани по сравнению с неопухолевой тканью.

В некоторых воплощениях опухолевый антиген выбран из группы, состоящей из следующих: CA-125, ганглиозиды G(D2), G(M2) и G(D3), CD19, CD20, CD33, CD47,

CD52, Ep-CAM, CEA, CLDN18.2, пептиды, подобные бомбезину, PSA, HER2/neu, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), erbB2, erbB3/HER3, erbB4, CD44v6, CD44v9, Ki-67, муцин, ассоциированный с раковым заболеванием, VEGF, VEGFR (например, VEGFR3), рецепторы эстрогена, антиген Льюиса-Y, TGF β 1, рецептор IGF-1, EGF α , рецептор c-Kit, рецептор трансферрина, IL-2R, CDH6, CEA, FOLR1, TROP2, PTK7, SLITRK6, CD142, NECTIN-4, ROR1, ROR2, CD142, CD123, CD22, CD79b, DLL3, семейство SLC или CO17-1A.

В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой иммуноингибирующую молекулу, выбранную из группы, состоящей из PD-L1, SIRP α , CD47 и B2M.

В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой CD47.

В некоторых воплощениях scFv, связывающий CD47, связан функциональным образом с C-концом константной области тяжелой цепи после Fab, связывающего CD24.

В некоторых воплощениях молекула биспецифичного антитела содержит тяжелую цепь в формате VH(против CD24)-CH1-шарнир-CH2-CH3-спейсер-scFv(против CD47), ассоциированную с легкой цепью в формате VL(против CD24)-CL.

В некоторых воплощениях scFv, связывающий CD47, представляет собой scFv, происходящий от 5F9, и он содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94

(QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYSNMHWVRQAPGQRLEWMGTIYPG
NDDTSYNQKFKDRVTITADTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGYRAMDYWGQ
GTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSIVYSNGNT
YLGWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCF
QGSHVPYTFGGQGTKLEIK).

Другими иллюстративными примерами антигена, ассоциированного с опухолью, являются следующие: CD10, CD21, CD22, CD25, CD30, CD34, CD37, CD38, CD123, GPRC5D, CD44v6, CD45, CD133, Fms-подобная тирозинкиназа 3 (FLT-3, CD135), хондроитинсульфатпротеогликан 4 (CSPG4, ассоциированный с меланомой хондроитинсульфатпротеогликан), Her2, Her3, IGFR, IL3R, белок активации фибробластов (FAP), CDCP1, дерлин 1, тенасцин, завитой 1-10 (frizzled 1-10), сосудистые антигены VEGFR2 (KDR/FLK1), VEGFR3 (FLT4, CD309), PDGFR-альфа (CD140a), PDGFR-бета (CD140b), эндоглин, CLEC14, CLEC12a, Tem1-8 и Tie2. Другие примеры могут включать A33, CAMPATH-1 (CDw52), карциноэмбриональный антиген

(CEA), карбоангидразу IX (MN/CA IX), de2-7, EGFRvIII, EpCAM, белок, связывающий фолаты, G250, c-Kit (CD117), CSF1R (CD115), HLA-DR, рецептор IL-2, IL3R, MCSP (ассоциированный с меланомой хондроитинсульфатпротеогликан поверхности клетки), Muc-1, простатоспецифичный мембранный антиген (PSMA), антиген стволовых клеток простаты (PSCA), простатоспецифичный антиген (PSA) и TAG-72.

Предложенные здесь биспецифичные антитела и антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены любыми подходящими способами, известными в данной области. При традиционном подходе две пары тяжелая цепь-легкая цепь иммуноглобулина, имеющие разные антигенные специфичности, могут быть ко-экспрессированы в клетке-хозяине с получением биспецифичных антител рекомбинантным способом (см., например, Milstein and Cuello, *Nature*, 305: 537 (1983)), с последующей очисткой посредством аффинной хроматографии.

Также можно использовать рекомбинантный подход, где последовательности, кодирующие переменные домены тяжелой цепи антитела для двух специфичностей, соответственно, сливаются с последовательностями константного домена иммуноглобулина, с последующей вставкой в экспрессионный вектор, который котрансфицирует с экспрессионным вектором для последовательностей легкой цепи в подходящую клетку-хозяина для рекомбинантной экспрессии биспецифичного антитела (см., например, WO 94/04690; Suresh et al., *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986)). Аналогично, также можно рекомбинантно конструировать димеры scFv и экспрессировать из клетки-хозяина (см., например, Gruber et al., *J. Immunol.*, 152:5368 (1994).)

В другом способе пептиды лейциновой молнии из белков Fos и Jun могут быть связаны с частями Fab' двух разных антител посредством слияния генов. Данные связанные антитела восстанавливаются в шарнирной области до четырех половин антител (т.е. мономеров) и затем повторно окисляются с образованием гетеродимеров (Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992)).

Два антигенсвязывающих домена также могут быть конъюгированы или сшиты с образованием биспецифичного антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Например, одно антитело может быть связано с биотином, тогда как другое антитело – с авидином, и сильная ассоциация между биотином и авидином объединяла бы вместе два данных антитела в комплекс с образованием биспецифичного антитела (см., например, патент США № 4676980; WO 91/00360, WO 92/00373 и EP 03089). В качестве другого

примера два антитела или антигенсвязывающих фрагмента могут быть сшиты традиционными способами, известными в данной области, например, как раскрыто в патенте США № 4676980.

Биспецифичные антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены из биспецифичного антитела, например, протеолитическим расщеплением или химическим связыванием. Например, антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab') антитела может быть получен и превращен до Fab'-тиольного производного и затем смешан и подвергнут взаимодействию с другим превращенным производным Fab', имеющим другую антигенную специфичность, с образованием биспецифичного антигенсвязывающего фрагмента (см., например, Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)).

В некоторых воплощениях биспецифичное антитело или антигенсвязывающие фрагменты могут быть сконструированы на поверхности контакта таким образом, что может образоваться ассоциация «выступ во впадину» со стимуляцией гетеродимеризации двух разных антигенсвязывающих сайтов. Фраза «выступ во впадину» в том виде, как она здесь используется, относится к взаимодействию между двумя полипептидами (такими как домен СН3), где один полипептид имеет выпячивание (т.е. «выступ») из-за присутствия аминокислотного остатка, имеющего объемную боковую цепь (например, тирозин или триптофан), а другой полипептид имеет полость (т.е. «впадину»), где находится аминокислотный остаток с маленькой боковой цепью (например, аланин или треонин), и данное выпячивание является располагаемым во впадине таким образом, чтобы стимулировать взаимодействие двух данных полипептидов с образованием гетеродимера или комплекса. Способы получения полипептидов с «выступом во впадину» известны в данной области, например, как описано в патенте США № 5731168.

Конъюгаты

В некоторых воплощениях антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты связываются с одним или более чем одним конъюгатом, возможно, где данный конъюгат ковалентно присоединен либо непосредственно, либо через линкер. Конъюгат представляет собой небелковую группировку, которая может присоединяться к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту. Рассматривается то, что целый ряд конъюгатов может быть связан с предложенными здесь антителами или антигенсвязывающими фрагментами (см., например, “Conjugate Vaccines”, Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr. (eds.), Carger Press, New

York, (1989)). Данные конъюгаты могут быть связаны с антителами или антигенсвязывающими фрагментами посредством, среди прочих способов, ковалентного связывания, аффинного связывания, интеркаляции, координационного связывания, комплексообразования, ассоциации, смешивания или присоединения. В некоторых воплощениях данный конъюгат содержит агент, модифицирующий клиренс, химиотерапевтический агент, токсин, радиоактивный изотоп, лантанид, люминисцентную метку, флуоресцентную метку, метку фермент-субстрат, ДНК-алкиляторы, ингибитор топоизомеразы, связыватели тубулина или другие противораковые лекарственные средства.

В некоторых воплощениях раскрытые здесь антитела и антигенсвязывающие фрагменты могут быть сконструированы так, чтобы содержать специфические сайты вне части, связывающей эпитоп, которые могут использоваться для связывания с одним или более чем одним конъюгатом. Например, такой сайт может включать один или более чем один реакционноспособный аминокислотный остаток, такой как, например, остатки цистеина или гистидина, для облегчения ковалентного связывания с конъюгатом.

В некоторых воплощениях антитела могут быть связаны с конъюгатом опосредованно или через другой конъюгат. Например, антитело или антигенсвязывающие фрагменты могут быть конъюгированы с биотином, затем опосредованно конъюгированы со вторым конъюгатом, который конъюгируют с авидином. Данный конъюгат может представлять собой токсин (например, химиотерапевтическое средство), выявляемую метку (например, радиоактивный изотоп, лантанид, люминисцентную метку, флуоресцентную метку или метку фермент-субстрат).

«Токсин» может представлять собой любое средство, которое является вредным для клеток, или которое может повреждать или умерщвлять клетки. Примеры токсина включают, без ограничения, таксол, цитохалазин Б, грамицидин Д, бромистый этидий, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксиантрациндион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин Д, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пуромицин и их аналоги, антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил, декарбазин), алкилирующие агенты (например, мехлорэтамин, тиотепа, хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU) и ломустин (CCNU), циклофосфамид, бусульфан, дибромманнит,

стрептозотоцин, митомицин С и *цис*-дихлордиаминплатина (II) (DDP) цисплатин), антрациклины (например, даунорубицин (ранее дауномицин) и доксорубицин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (АМС)) и антимитотические средства (например, винкристин и винбластин).

Примеры выявляемой метки могут включать флуоресцентные метки (например, флуоресцеин, родамин, дансил, фикоэритрин или тexasский красный), метки фермент-субстрат (например, пероксидаза хрена, щелочная фосфатаза, люциферазы, глюкоамилаза, лизоцим, сахаридоксидазы или β -D-галактозидаза), радиоизотопы (например, ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^3H , ^{111}In , ^{112}In , ^{14}C , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{86}Y , ^{88}Y , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{211}At , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{212}Bi , и ^{32}P , другие лантаниды, люминисцентные метки), хромогенную группировку, дигоксигенин, биотин/авидин, молекулу ДНК или золото для выявления.

В некоторых воплощениях конъюгат может представлять собой группировку, модифицирующую фармакокинетику, которая помогает увеличивать период полувыведения антитела. Иллюстративный пример включает водорастворимые полимеры, такие как PEG, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля и тому подобные. Данный полимер может иметь любую молекулярную массу и может быть разветвленным или неразветвленным. Число полимеров, присоединенных к антителу, может варьировать, и при присоединении больше, чем одного полимера, они могут быть одинаковыми или разными молекулами.

В некоторых воплощениях конъюгат может представлять собой группировку для очистки, такую как магнитный шарик.

В некоторых воплощениях предложенные здесь антитела и/или их антигенсвязывающие фрагменты используются в качестве основы для конъюгата.

Полинуклеотиды и способы генной инженерии

Согласно настоящему раскрытию предложены выделенные полинуклеотиды, которые кодируют антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты. В некоторых воплощениях выделенные полинуклеотиды содержат одну или более чем одну нуклеотидную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID

NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 229 и/или SEQ ID NO: 220, которая кодирует переменную область предложенных здесь типичных антител. ДНК, кодирующую моноклональное антитело, легко выделять и секвенировать с использованием традиционных методик (например, посредством применения олигонуклеотидных зондов, которые способны к специфичному связыванию с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела). Кодирующую ДНК также можно получать синтетическими способами.

Выделенный полинуклеотид, который кодирует антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты (например, включая последовательности, как показано в SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 208, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 213, SEQ ID NO: 214, SEQ ID NO: 215, SEQ ID NO: 216, SEQ ID NO: 217, SEQ ID NO: 218, SEQ ID NO: 219, SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 229 и/или SEQ ID NO: 220), может быть вставлен в вектор для дальнейшего клонирования (амплификации ДНК) или для экспрессии с использованием методик генной инженерии, известных в данной области. Доступно много векторов. Компоненты вектора обычно включают, но не ограничиваются, одним или более чем одним из следующего: сигнальная последовательность, репликатор, один или более чем один маркерный ген, энхансерный элемент, промотор (например, SV40, CMV (цитомегаловируса), EF-1 α) и последовательность терминации транскрипции.

В некоторых воплощениях векторная система включает системы млекопитающих, бактерий, дрожжей и т.д., и содержит плазмиды, такие как pALTER, pBAD, pcDNA, pCal, pL, pET, pGEMEX, pGEX, pCI, pCMV, pEGFP, pEGFT, pSV2, pFUSE, pVITRO, pVIVO, pMAL, pMD18-T, pMONO, pSELECT, pUNO, pDUO, Psg5L, pBABE, pWPXL, pBI, p15TV-L, pPro18, pTD, pRS420, pLexA, pACT2.2 и т.д., но не ограничиваясь ими, и другие лабораторные и имеющиеся в продаже векторы.

Подходящие векторы могут включать плазмидные или вирусные векторы (например, дефектные по репликации ретровирусы, аденовирусы и аденосателлитные вирусы).

Векторы, содержащие полинуклеотидную последовательность, кодирующую антитело или антигенсвязывающий фрагмент, могут быть введены в клетку-хозяина для клонирования или экспрессии гена. Подходящие клетки-хозяева для клонирования и экспрессии ДНК в предложенных здесь векторах представляют собой описанные выше прокариотические, дрожжевые клетки или клетки высших эукариот. Подходящие прокариоты для данной цели включают эубактерий, таких как грамотрицательные или грамположительные организмы, например, Enterobacteriaceae, как, например, *Escherichia*, например, *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, например, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, например, *Serratia marcescans* и *Shigella*, а также бациллы, такие как *B. subtilis* и *B. licheniformis*, *Pseudomonas*, как, например, *P. aeruginosa* и *Streptomyces*.

Помимо прокариот, эукариотические микробы, такие как нитчатые грибы или дрожжи, являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело против CD24. *Saccharomyces cerevisiae* или обычные пекарские дрожжи чаще всего используются среди низших эукариотических микроорганизмов-хозяев. Однако общедоступными и полезными здесь являются целый ряд других родов, видов и штаммов, таких как *Schizosaccharomyces pombe*; хозяева *Kluyveromyces*, такие как, например, *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilae* (ATCC 36906), *K. thermotolerans* и *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402226); *Pichia pastoris* (EP 183070); *Candida*, *Trichoderma reesei* (EP 244234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces*, как, например, *Schwanniomyces occidentalis*; и нитчатые грибки, такие как, например, хозяева в виде *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium* и *Aspergillus*, как, например, *A. nidulans* и *A. niger*.

Подходящие клетки-хозяева для экспрессии предложенных здесь гликозилированных антител или антигенсвязывающих фрагментов происходят от многоклеточных организмов. Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы и варианты, и соответствующие перmissive клетки-хозяева насекомых от таких хозяев, как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (комар), *Aedes albopictus* (комар), *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) и *Bombyx mori*. Общедоступным

является множество вирусных штаммов для трансфекции, например, вариант L-1 NPV (вирус ядерного полиэдроза) *Autographa californica* и штамм Bm-5 NPV *Bombyx mori*, и такие вирусы можно здесь использовать в качестве вируса по изобретению, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*. В качестве хозяев также можно использовать культуры растительных клеток хлопка, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томата и табака.

Однако интерес был наибольшим к клеткам позвоночных, и размножение клеток позвоночных в культуре (культуре ткани) стало традиционной процедурой. Примерами полезных линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия клеток почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линия клеток человеческой эмбриональной почки (293 или клетки 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); клетки почки детеныша хомяка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомяка /-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); мышинные клетки Сертоли (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76, ATCC CRL-1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени серой крысы (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, HB 8065); мышинные клетки опухоли молочной железы (MMT 060562, ATCC CCL51); клетки TRI (Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)); клетки MRC 5; клетки FS4 и линия клеток человеческой гепатомы (Hep G2).

Клетки-хозяева трансформируют вышеописанными экспрессионными или клонирующими векторами для получения антитела против CD24 и культивируют в традиционной питательной среде, модифицированной сообразно ситуации, для индуцирования промоторов, отбора трансформантов или осуществления амплификации генов, кодирующих желательные последовательности. В другом воплощении антитело может быть получено гомологичной рекомбинацией, известной в данной области.

Клетки-хозяева, используемые для продукции предложенных здесь антител или их антигенсвязывающих фрагментов, можно культивировать во множестве сред. Для культивирования данных клеток-хозяев подходят имеющиеся в продаже среды, такие как среда Хэма F10 (Sigma), минимальная питательная среда (MEM) (Sigma), RPMI-1640 (Sigma) и среда Игла, модифицированная по Дульбекко (DMEM), Sigma). Кроме того, в

качестве культуральных сред для данных клеток-хозяев можно использовать любые из сред, описанных в Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980), патентах США № 4767704; 4657866; 4927762; 4560655 или 5122469; WO 90/03430; WO 87/00195 или повторно выданном патенте США 30985. Любую из данных сред можно по необходимости дополнять гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид натрия, кальций, магний и фосфат), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками (такими как лекарственное средство GENTAMYCIN™), микроэлементами (определенными как неорганические соединения, обычно присутствующие в конечных концентрациях в микромолярном интервале) и глюкозой или эквивалентным источником энергии. Также можно включать любые другие необходимые добавки в подходящих концентрациях, которые были бы известны специалистам в данной области. Культуральными условиями, такими как температура, pH и тому подобные, являются культуральные условия, использованные ранее с клеткой-хозяином, отобранной для экспрессии, и они будут очевидными обычному квалифицированному специалисту.

При применении методик генной инженерии антитело может продуцироваться внутриклеточно, в периплазматическом пространстве или прямо секретироваться в среду. При внутриклеточной продукции антитела в качестве первой стадии удаляют обломки в виде частиц, либо клетки-хозяина, либо лизированные фрагменты, например, центрифугированием или ультрафильтрацией. Carter et al., Bio/Technology 10:163-167 (1992) описывают методику для выделения антител, которые секретируются в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, клеточную пасту оттаивают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота) и фенилметилсульфонилфторида (PMSF) в течение примерно 30 мин. Обломки клеток можно удалять центрифугированием. Когда антитело секретируется в среду, супернатанты из таких экспрессионных систем обычно сперва концентрируют с использованием имеющегося в продаже фильтра для концентрирования белка, например, ультрафильтрационного блока Amicon или Millipore Pellicon. На любой из вышеописанных стадий можно включать ингибитор протеаз, такой как PMSF, для ингибирования протеолиза, а антибиотики можно включать для предупреждения роста заносных загрязнителей.

Антитела против CD24 и их антигенсвязывающие фрагменты, полученные из клеток, могут быть очищены с использованием, например, хроматографии на гидроксипатите, гель-электрофореза, диализа, ионообменной хроматографии на DEAE-целлюлозе, осаждения сульфатом аммония, высаливания и аффинной хроматографии, причем аффинная хроматография является предпочтительной методикой очистки.

В некоторых воплощениях для иммуноаффинной очистки антитела и его антигенсвязывающего фрагмента используют белок А, иммобилизованный на твердой фазе. Пригодность белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изоформа любого домена Fc иммуноглобулина, который присутствует в данном антителе. Белок А можно использовать для очистки антител, которые основаны на человеческих тяжелых цепях гамма1, гамма2 или гамма 4 (Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)). Белок G рекомендован для всех мышинных изоформ и для человеческого гамма3 (Guss et al., EMBO J. 5:1567 1575 (1986)). Матрица, к которой присоединяется аффинный лиганд, чаще всего представляет собой агарозу, но доступны и другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с контролируемым размером пор или поли(стиролдивинил)бензол, обеспечивают более быстрые скорости тока и более короткое время обработки, чем скорости и время, которые могут достигаться с агарозой. Когда антитело содержит домен СН3, полезной для очистки является смола Bakerbond АВХ.ТМ. (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.). Также доступны другие методики очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) с обращенной фазой, хроматография на диоксиде кремния, хроматография на гепарине SEPHAROSE™, хроматография на анионо- или катионообменной смоле (как, например, на колонке с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусировка, SDS-PAGE (электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия) и осаждение сульфатом аммония, в зависимости от антитела, подлежащего выделению.

После любой(ых) предварительной(ных) стадии(дий) очистки смесь, содержащая интересующее антитело и примеси, может быть подвергнута гидрофобной хроматографии при низком рН с использованием элюционного буфера при рН примерно 2,5-4,5, предпочтительно проведенной при низких концентрациях соли (например, примерно 0-0,25 М соли).

CAR

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложен химерный рецептор антигена (CAR), содержащий антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен, костимулирующую область сигнализации и сигнальный домен TCR, в котором антигенсвязывающий домен специфично связывается с CD24 и содержит предложенный здесь антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых воплощениях данный антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab или scFv. В некоторых воплощениях предложенный здесь CAR является биспецифичным. Данный CAR способен к дополнительному специфичному связыванию со вторым антигеном, отличным от CD24, или со вторым эпитопом на CD24. В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой опухолевый антиген, ассоциированный с опухолью антиген или связанную с иммунитетом мишень, как упомянуто выше. Сигнальный домен TCR может быть выбран из группы, состоящей из последовательности областей внутриклеточной сигнализации CD3 ζ , Fc γ RII, CD27, CD28, CD137, CD134, MyD88, CD40, CD278, TLR или их комбинации. Трансмембранная область может содержать трансмембранную область CD3, CD4, CD8 или CD28. В некоторых воплощениях второй антиген представляет собой иммуноингибирующую молекулу, такую как PD-L1, SIRP α , CD47 или B2M.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложена последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая CAR, как упомянуто выше, а также клетка или вектор, содержащий такую последовательность нуклеиновой кислоты, или клетка, генетически модифицированная для экспрессии предложенного здесь CAR. Данная клетка может представлять собой иммунную клетку, возможно, где данная иммунная клетка представляет собой Т-лимфоцит, НК клетку, моноцит, макрофаг или НКТ лимфоцит.

Фармацевтическая композиция

Согласно настоящему раскрытию дополнительно предложены фармацевтические композиции, содержащие антитела против CD24 или их антигенсвязывающие фрагменты и один или более чем один фармацевтически приемлемый носитель.

Фармацевтически приемлемые носители для применения в раскрытых здесь фармацевтических композициях могут включать, например, фармацевтически приемлемую жидкость, гель или твердые носители, водные носители, неводные носители, антимикробные средства, изотоничные средства, буферы, антиоксиданты, анестетики, суспендирующие/диспергирующие агенты, секвестрирующие или

хелатирующие агенты, разбавители, адьюванты, эксципиенты или нетоксичные вспомогательные вещества, другие компоненты, известные в данной области, или их разные комбинации.

Подходящие компоненты могут включать, например, антиоксиданты, наполнители, связующие вещества, разрыхлители, буферы, консерванты, смазки, корригенты, загустители, красители, эмульгаторы или стабилизаторы, такие как сахара и циклодекстрины. Подходящие антиоксиданты могут включать, например, метионин, аскорбиновую кислоту, EDTA, тиосульфат натрия, платину, каталазу, лимонную кислоту, цистеин, тиоглицерин, тиогликолевую кислоту, тиосорбит, бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол и/или пропилгаллат. Как здесь раскрыто, включение одного или более чем одного антиоксиданта, такого как метионин, в композицию, содержащую антитело или антигенсвязывающий фрагмент и конъюгаты, как здесь предложено, уменьшает окисление антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Это уменьшение окисления предупреждает или уменьшает потерю аффинности связывания, улучшая, посредством этого, стабильность антитела и максимизируя срок хранения. Следовательно, в некоторых воплощениях предложены композиции, которые содержат одно или более чем одно антитело или антигенсвязывающий фрагмент, как здесь раскрыто, и один или более чем один антиоксидант, такой как метионин. Кроме того, предложены способы предупреждения окисления, продления срока хранения и/или улучшения эффективности антитела или антигенсвязывающего фрагмента, как здесь предложено, посредством смешивания данного антитела или антигенсвязывающего фрагмента с одним или более чем одним антиоксидантом, таким как метионин.

Для дополнительной иллюстрации фармацевтически приемлемые носители могут включать, например, водные наполнители, такие как инъекционный раствор хлорида натрия, инъекционный раствор Рингера, изотоничный инъекционный раствор декстрозы, стерильную инъекционную воду или инъекционный раствор декстрозы и Рингера с лактаном, неводные наполнители, такие как нелетучие масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло или арахисовое масло, противомикробные средства в бактериостатических или фунгистатических концентрациях, изотоничные агенты, такие как хлорид натрия или декстроза, буферы, такие как фосфатный или цитратный буферы, антиоксиданты, такие как бисульфат натрия, местные анестетики, такие как прокаина гидрохлорид, суспендирующие и

диспергирующие агенты, такие как натрий карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза или поливинилпирролидон, эмульгаторы, такие как полисорбат 80 (TWEEN-80), секвестрирующие или хелатирующие агенты, такие как EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота) или EGTA (этиленгликольтетрауксусная кислота), этиловый спирт, полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, гидроксид натрия, соляная кислота, лимонная кислота или молочная кислота. Противомикробные средства, используемые в качестве носителей, можно добавлять в фармацевтические композиции в многодозовых контейнерах, которые включают фенолы или крезолы, соединения ртути, бензиловый спирт, хлорбутанол, метиловый и пропиловый сложные эфиры *n*-гидроксibenзойной кислоты, тиомерсал, бензалкония хлорид и бензэтония хлорид. Подходящие эксципиенты могут включать, например, воду, физиологический раствор, декстрозу, глицерин или этанол. Подходящие нетоксичные вспомогательные вещества могут включать, например, увлажнители или эмульгаторы, агенты, буферизующие pH, стабилизаторы, усилители растворимости или такие агенты, как ацетат натрия, сорбитана монолаурат, триэтаноламина олеат или циклодекстрин.

Данные фармацевтические композиции могут представлять собой жидкий раствор, суспензию, эмульсию, пилюлю, капсулу, таблетку, препарат с замедленным высвобождением или порошок. Пероральные препараты могут включать стандартные носители, такие как маннит, лактозу, крахмал, стеарат магния, поливинилпирролидон, натрия сахарин, целлюлозу, карбонат магния и т. д. фармацевтического уровня качества.

В некоторых воплощениях данные фармацевтические композиции готовят в виде инъекционной композиции. Данные инъекционные фармацевтические композиции могут быть получены в любой традиционной форме, такой как, например, жидкий раствор, суспензия, эмульсия или подходящие твердые формы для получения жидкого раствора, суспензии или эмульсии. Препараты для инъекции могут включать стерильные и/или апирогенные растворы, готовые для инъекции, стерильные сухие растворимые продукты, такие как лиофилизированные порошки, готовые к объединению с растворителем сразу перед применением, включая подкожные таблетки, стерильные суспензии, готовые для инъекции, стерильные сухие нерастворимые продукты, готовые для объединения с носителем сразу перед применением, и стерильные и/или апирогенные эмульсии. Данные растворы могут быть либо водными, либо неводными.

В некоторых воплощениях однодозовые парентеральные препараты упаковывают в ампулу, флакон или шприц с иглой. Все препараты для парентерального введения

должны быть стерильными и апиrogenными, как известно и практикуется в данной области.

В некоторых воплощениях стерильный лиофилизированный порошок получают посредством растворения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, как здесь раскрыто, в подходящем растворителе. Данный растворитель может содержать эксципиент, который улучшает стабильность, или другие фармакологические компоненты порошка или восстановленного раствора, полученного из данного порошка. Эксципиенты, которые можно использовать, включают воду, декстрозу, сорбит, фруктозу, кукурузный сироп, ксилит, глицерин, глюкозу, сахарозу или другое подходящее средство, но не ограничиваются ими. Данный растворитель может содержать буфер, такой как цитратный, натрий- или калий-фосфатный, или другой такой буфер, известный специалистам в данной области, в одном воплощении – с рН около нейтрального. Последующая стерилизующая фильтрация раствора, с последующей лиофилизацией при стандартных условиях, известных специалистам в данной области, дает желательный препарат. В одном воплощении образующийся раствор будет распределен во флаконы для лиофилизации. Каждый флакон может содержать одну дозировку или много дозировок антитела против CD24 или его антигенсвязывающего фрагмента, или их композиции. Переполнение флаконов небольшим количеством, превышающим количество, необходимое для дозы или набора доз (например, примерно 10%) является приемлемым таким образом, чтобы облегчать точный отбор образца и точное дозирование. Данный лиофилизированный порошок можно хранить при подходящих условиях, как, например, при температуре от 4°C до комнатной.

Растворение лиофилизованного порошка водой для инъекции дает препарат для применения при парентеральном введении. В одном воплощении для растворения к лиофилизованному порошку добавляют стерильную и/или апиrogenную воду или другой подходящий носитель. Точное количество зависит от выбранной терапии, которую дают, и может быть определено эмпирически.

Способы применения

Согласно настоящему раскрытию также предложены терапевтические способы, включающие следующее: введение терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента, как здесь предложено, субъекту, нуждающемуся в этом, осуществляя, посредством этого, лечение или предупреждение связанного с CD24 заболевания или состояния. В некоторых воплощениях связанное с CD24

заболевание или состояние представляет собой рак, аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание, адаптивное иммунное заболевание или инфекционное заболевание.

Примеры ракового заболевания включают немелкоклеточный рак легкого (плоскоклеточный/неплоскоклеточный), мелкоклеточный рак легкого, почечно-клеточный рак, колоректальный рак, рак ободочной кишки, рак яичника, рак молочной железы (включая базальную карциному молочной железы, карциному протока и дольковую карциному молочной железы), рак поджелудочной железы, карциному желудка, рак мочевого пузыря, рак пищевода, мезотелиому, меланому, рак головы и шеи, рак щитовидной железы, саркому, рак предстательной железы, глиобластому, рак шейки матки, карциному тимуса, меланому, миеломы, грибковые микозы, рак из клеток Меркеля, печеночно-клеточную карциному (НСС), фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеогенную саркому и другие саркомы, синовиому, мезотелиому, опухоль Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, лимфоидное злокачественное заболевание, базальноклеточную карциному, аденокарциному, карциному потовой железы, медуллярную карциному щитовидной железы, папиллярную карциному щитовидной железы, феохромоцитому, карциному сальной железы, папиллярную карциному, папиллярные аденокарциномы, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, гепатому, карциному желчного протока, хориокарциному, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак яичка, семиному, классическую ходжкинскую лимфому (CHL), первичную медиастинальную В-клеточную лимфому, Т-клеточную/обогащенную гистиоцитами В-клеточную лимфому, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз, острый миелогенный лейкоз, хронический миелоцитарный (гранулоцитарный) лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, истинную полицитемию, опухоли, происходящие из тучных клеток, EBV(вирус Эпштейна-Барр)-позитивное и – негативное PTLD (посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание) и диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), плазмабластную лимфому, экстранодальную NK/Т-клеточную лимфому, носоглоточную карциному, ассоциированную с HHV8 (вирус герпеса человека 8) первичную эффузионную лимфому, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, макроглобулинемию Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей, миелодиспластический синдром, волосатоклеточный лейкоз и миелодисплазию, первичную лимфому ЦНС (центральная

нервная система), опухоль оси позвоночника, глиому ствола мозга, астроцитому, медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, нейрому слухового нерва, олигодендроглиому, менангиому, меланому, нейробластому и ретинобластому.

В некоторых воплощениях данное раковое заболевание представляет собой рак легкого, рак бронха, рак кости, рак печени и желчного протока, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак печени, рак яичника, рак яичка, рак почки, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак позвоночника, рак мозга, рак шейки матки, рак матки, рак эндометрия, рак ободочной кишки, колоректальный рак, рак прямой кишки, рак ануса, рак пищевода, желудочно-кишечный рак, рак кожи, рак предстательной железы, рак гипофиза, рак желудка, рак вагины, рак щитовидной железы, глиобластому, астроцитому, меланому, миелодиспластический синдром, саркому, тератому, аденокарциному, лейкоз, миелому и лимфому. В некоторых воплощениях данное раковое заболевание является химиорезистентным.

В некоторых воплощениях данное заболевание или состояние представляет собой гематологический рак, выбранный из В-клеточных лимфом. Примеры В-клеточных лимфом включают следующие: ходжкинская лимфома, неходжкинская лимфома (NHL), острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CMML), множественная миелома (MM), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL), В-клеточная лимфома из клеток маргинальной зоны (MZL), лимфома из клеток мантии (MCL), синдром Рихтера, лимфома Беркитта или фолликулярная лимфома, но не ограничиваются ими.

Аутоиммунные заболевания включают синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД, который представляет собой вирусное заболевание с аутоиммунным компонентом), круговую алопецию, анкилозирующий спондилоартрит, антифосфолипидный синдром, аутоиммунную болезнь Аддисона, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха (AIED), аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (ALPS), аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру (АТР), болезнь Бехчета, кардиомиопатию, целиакию-спру-герпетиформный дерматит, синдром хронической усталости и иммунной дисфункции (CFIDS), хроническую воспалительную демиелинизирующую полиневропатию (CIPD), рубцовый пемфигоид, болезнь

холодовой агглютинации, CREST-синдром, болезнь Крона, болезнь Дего, юношеский дерматомиозит, дискоидную волчанку, первичную криоглобулинемию смешанного типа, фибромиалгию-фибромиозит, болезнь Грейвса, синдром Гийена-Барре, тиреоидит Хашимото, идиопатический легочный фиброз, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП), первичную нефропатию IgA-типа, инсулинозависимый сахарный диабет, юношеский хронический артрит (болезнь Стилла), юношеский ревматоидный артрит, болезнь Менье, смешанное поражение соединительной ткани, рассеянный склероз, тяжелую миастению, пернициозную анемию, узелковый полиартериит, полихондрит, полигландулярные синдромы, ревматическую полимиалгию, полимиозит и дерматомиозит, первичную агаммаглобулинемию, первичный цирроз печени, псориаз, псориатический артрит, феномены Рейно, синдром Райтера, ревматическую лихорадку, ревматоидный артрит, саркоидоз, склеродермию (прогрессирующий системный склероз (PSS), также известный как системный склероз (SS)), синдром Шегрена, синдром мышечной скованности, системную красную волчанку, артериит Такаясу, временный артериит/узелковый периартериит, язвенный колит, увеит, витилиго и гранулематоз Вегенера, но не ограничиваются ими.

Воспалительные расстройства включают, например, хронические и острые воспалительные расстройства. Примеры воспалительных расстройств включают болезнь Альцгеймера, астму, atopическую аллергию, аллергию, атеросклероз, бронхиальную астму, экзему, гломерулонефрит, болезнь «трансплантат против хозяина», гемолитические анемии, остеоартрит, сепсис, инсульт, трансплантацию ткани и органов, васкулит, диабетическую ретинопатию и вентиляторное повреждение легких. В некоторых воплощениях состояния, ассоциированные с CD24, представляют собой воспалительные заболевания, такие как системная красная волчанка (SLE), воспаление кишечной слизистой, изнуряющая болезнь, ассоциированная с колитом, рассеянный склероз, вирусные инфекции, ревматоидный артрит, остеоартрит, болезнь Крона и воспалительное заболевание кишечника, псориаз, системная склеродермия, аутоиммунный диабет и тому подобные.

Инфекционные заболевания включают грибковую инфекцию, инфекцию паразитами/протистами или хроническую вирусную инфекцию, например, малярию, заражение *Coccidioides immitis*, гистоплазмоз, онихомикоз, аспергиллез, бластомикоз, заражение белой кандидой, паракокцидиомикоз, микроспоридиоз, кератит, вызванный *Acanthamoeba*, амебиоз, аскаридоз, бабезиоз, балантидиоз, байлисаскаридоз, болезнь

Чагаса, клонорхоз, кохлиомия, криптоспоридиоз, дифиллоботриоз, дракункулиоз, эхинококкоз, элифантиаз, энтеробиоз, фасциолез, фасциолопсиоз, филяриоз, гиардиоз, гнатостомоз, гиленолепидоз, изоспороз, лихорадку Катаямы, лейшманиоз, болезнь Лайма, метагонимоз, миаз, онхоцеркоз, педикулез, паршу, шистосомоз, сонную болезнь, стронгилодиоз, тениоз, токсокариоз, токсоплазмоз, трихиноз, трихуроз, трипаносомоз, инфекцию гельминтами, инфекцию гепатитом В (HBV), инфекцию гепатитом С (HCV), вирусом герпеса, вирусом Эпштейна-Барр, ВИЧ, цитомегаловирусом, вирусом простого герпеса типа I, вирусом простого герпеса типа II, вирусом папилломы человека, аденовирусом, вирусом иммунодефицита человека I, вирусом иммунодефицита человека II, западную саркому Капоши, ассоциированную с эпидемией, вызванной вирусом герпеса, инфекцию тонким кольцевым вирусом (Torquetenovirus), человеческим Т-лимфотрофным вирусом I, человеческим Т-лимфотрофным вирусом II, ветрянку, инфекцию вирусом JC (Джона Каннингема) или вирусом ВК (полиомавирус человека 1), но не ограничиваются ими.

В некоторых воплощениях субъект представляет собой человека.

В другом аспекте предложены способы для лечения заболевания или состояния у субъекта, который получил бы пользу от модуляции активности CD24, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающего фрагмента, как здесь предложено. Термин «заболевание или состояние» в том виде, как он здесь используется, может использоваться взаимозаменяемо с термином «заболевание или состояние, связанное с CD24».

Терапевтически эффективное количество антитела или антигенсвязывающего фрагмента, как здесь предложено, будет зависеть от разных факторов, известных в данной области, таких как, например, масса тела, возраст, история болезни, принимаемые в настоящее время лекарственные средства, состояние здоровья субъекта и потенциал для перекрестной реакции, аллергии, чувствительности и неблагоприятные побочные эффекты, а также путь введения и степень развития заболевания. Дозировки могут быть пропорционально снижены или повышены обычным специалистом в данной области (например, врачом или ветеринаром), как указывается этими и другими обстоятельствами или требованиями.

В некоторых воплощениях антитело или антигенсвязывающий фрагмент, как здесь предложено, могут вводиться в терапевтически эффективной дозировке от

примерно 0,01 мг/кг до примерно 100 мг/кг (например, примерно 0,01 мг/кг, примерно 0,5 мг/кг, примерно 1 мг/кг, примерно 2 мг/кг, примерно 3 мг/кг, примерно 5 мг/кг, примерно 10 мг/кг, примерно 15 мг/кг, примерно 20 мг/кг, примерно 25 мг/кг, примерно 30 мг/кг, примерно 35 мг/кг, примерно 40 мг/кг, примерно 45 мг/кг, примерно 50 мг/кг, примерно 55 мг/кг, примерно 60 мг/кг, примерно 65 мг/кг, примерно 70 мг/кг, примерно 75 мг/кг, примерно 80 мг/кг, примерно 85 мг/кг, примерно 90 мг/кг, примерно 95 мг/кг или примерно 100 мг/кг). В некоторых из данных воплощений антитело или антигенсвязывающий фрагмент вводится в дозировке примерно 50 мг/кг или меньше, и в некоторых из данных воплощений дозировка составляет 10 мг/кг или меньше, 5 мг/кг или меньше, 3 мг/кг или меньше, 1 мг/кг или меньше, 0,5 мг/кг или меньше, или 0,1 мг/кг или меньше. В некоторых воплощениях вводимую дозировку можно изменять по ходу лечения. Например, в некоторых воплощениях исходная вводимая дозировка может быть выше, чем последующие вводимые дозировки. В некоторых воплощениях вводимая дозировка может варьировать по ходу лечения, в зависимости от реакции субъекта.

Схемы дозировки можно корректировать для обеспечения оптимального желательного ответа (например, терапевтического ответа). Например, можно вводить одну дозу или несколько отдельных доз с течением времени.

Раскрытые здесь антитела и антигенсвязывающие фрагменты можно вводить любым путем, известным в данной области, таким как, например, парентеральный (например, подкожный, внутрибрюшинный, внутривенный, включая внутривенную инфузию, внутримышечную или внутрикожную инъекцию) или непарентеральный (например, пероральный, интраназальный, внутриглазной, подъязычный, ректальный или местный) пути.

В некоторых воплощениях раскрытые здесь антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно вводить одни или в комбинации с одним или более чем одним дополнительным терапевтическим средством или агентом. В некоторых воплощениях раскрытые здесь антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно вводить одни или в комбинации со вторым терапевтическим средством. Например, раскрытые здесь антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно вводить в комбинации со вторым терапевтическим средством, например, химиотерапевтическим средством или противораковым лекарственным средством. В некоторых воплощениях раскрытые здесь антитела или антигенсвязывающие фрагменты можно вводить в комбинации с антагонистом одной или более чем одной иммуноингибирующей молекулы, например,

CD47, SIRP α , PD-L1 или бета-2 субъединицы микроглобулина главного комплекса гистосовместимости класса I (B2M). Термин «антагонист» в том виде, как он здесь используется, может относиться к любой маленькой молекуле, маленькой или микро РНК, или антителам, или их антигенсвязывающим фрагментам, которые блокируют или ингибируют связывание CD47, SIRP α , PD-L1 или B2M с их соответствующими партнерами связывания таким образом, чтобы предупреждать индукцию иммуноингибирующих сигналов. В некоторых воплощениях раскрытые здесь антитела или антигенсвязывающие фрагменты вводятся в комбинации с антагонистом CD47, таким как слитый белок SIRP α -Fc или его вариант, антитело против CD47 или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых воплощениях раскрытые здесь антитела или антигенсвязывающие фрагменты вводятся в комбинации с антагонистом SIRP α , таким как растворимый CD47 или его вариант, антитело против SIRP α или его антигенсвязывающий фрагмент.

Термин «антитело против CD47» может относиться к любым известным антителам против CD47 или их антигенсвязывающим фрагментам, включающим, без ограничения, Hu5F9, как раскрыто в US9382320B2. Также используют Hu5F9-G4, которое представляет собой антитело против человеческого CD47, было гуманизировано прививкой его областей, определяющих комплементарность (CDR), в формат человеческого IgG4, что приводит к гуманизованному антителу 5F9 (Hu5F9-G4) (Liu J. et al., PLoS One, 2015, 10: e0137345).

В некоторых из данных воплощений антитело или антигенсвязывающий фрагмент, как здесь раскрыто, которое вводится в комбинации с одним или более чем одним дополнительным терапевтическим средством, может вводиться одновременно с одним или более чем одним дополнительным терапевтическим средством, и в некоторых из данных воплощений антитело или антигенсвязывающий фрагмент и дополнительное(ные) терапевтическое(кие) средство(ва) могут вводиться как часть той же самой фармацевтической композиции. Однако антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вводимые «в комбинации» с другим терапевтическим средством, не должны вводиться одновременно с или в той же самой композиции, что и данное средство. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, вводимые до или после другого средства, считаются вводимыми «в комбинации» с данным средством в том виде, в котором здесь используется данная фраза, даже если данное антитело или антигенсвязывающий фрагмент и второе средство вводятся посредством разных путей. Когда это возможно,

дополнительные терапевтические средства, вводимые в комбинации с раскрытыми здесь антителами или антигенсвязывающими фрагментами, вводятся согласно схеме, перечисленной в информационном листке о продукте – дополнительном терапевтическом средстве или согласно Physicians' Desk Reference 2003 (Physicians' Desk Reference, 57th Ed; Medical Economics Company; ISBN: 1563634457; 57th edition (November 2002)), или протоколам, хорошо известным в данной области.

В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены способы выявления присутствия или количества CD24 в образце, включающие приведение в контакт образца с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, и определение присутствия или количества CD24 в данном образце.

В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию предложены способы диагностики заболевания или состояния, связанного с CD24, у субъекта, включающие следующее: а) получение образца от субъекта; б) приведение в контакт образца, полученного от субъекта, с предложенным здесь антителом или его антигенсвязывающим фрагментом; в) определение присутствия или количества CD24 в данном образце; и г) установление взаимосвязи CD24 с заболеванием или состоянием, связанным с CD24, у субъекта.

В некоторых воплощениях согласно настоящему раскрытию также предложено применение предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в изготовлении лекарственного средства для лечения связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта, в изготовлении диагностического реактива для диагностики связанного с CD24 заболевания или состояния.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложен способ модулирования активности CD24 в клетке, экспрессирующей CD24, включающий подвергание клетки, экспрессирующей CD24, воздействию предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложен способ выявления присутствия или количества CD24 в образце, включающий приведение в контакт данного образца с предложенным здесь антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, и определение присутствия или количества CD24 в образце.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложен способ диагностики связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта, включающий следующее: а) получение образца от субъекта; б) приведение в контакт образца,

полученного от субъекта, с предложенным здесь антителом или его антигенсвязывающим фрагментом; в) определение присутствия или количества CD24 в данном образце; и г) связывание присутствия или количества CD24 с существованием или статусом связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложено применение предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в изготовлении лекарственного средства для лечения связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта. Данное лекарственное средство может дополнительно содержать второе терапевтическое средство, например, антагонист CD47, возможно, где антагонист CD47 представляет собой слитый белок SIRP α -Fc или его вариант, или антитело против CD47 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложено применение предложенного здесь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в изготовлении диагностического реактива для диагностики связанного с CD24 заболевания или состояния.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложен набор, содержащий предложенное здесь антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, полезные в выявлении CD24, возможно рекомбинантного CD24, CD24, экспрессируемого на поверхности клетки, или клеток, экспрессирующих CD24. Термин «рекомбинантный» в том виде, как он здесь используется, относится к искусственной манипуляции с одной или более чем одной биологической молекулой, такой как полинуклеотидные или полипептидные молекулы, с использованием одной или более чем одной методики молекулярной биологии для переделывания такой(ких) биологической(ких) молекулы(кул) во что-то, отличное от ее природного состояния.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложен способ стимулирования иммунного ответа, опосредованного T-клетками, в отношении клетки или ткани, экспрессирующей CD24, у млекопитающего, включающий введение данному млекопитающему эффективного количества генетически модифицированной клетки для экспрессии CAR, содержащего антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен, костимулирующую сигнальную область и сигнальный домен TCR, где антигенсвязывающий домен специфично связывается с CD24 и содержит предложенный здесь антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых воплощениях данный антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab или scFv. В некоторых

воплощениях предложенный здесь CAR является биспецифичным. Данный CAR способен к дополнительному специфичному связыванию со вторым антигеном, отличным от CD24, или со вторым эпитопом на CD24. В некоторых воплощениях данный второй антиген представляет собой опухолевый антиген, как упомянуто выше. Сигнальный домен TCR может быть выбран из группы, состоящей из последовательности внутриклеточных сигнальных областей CD3 ζ , Fc γ R1 γ , CD27, CD28, CD137, CD134, MyD88, CD40, CD278, TLR или их комбинации. Трансмембранная область может содержать трансмембранную область CD3, CD4, CD8 или CD28. В некоторых воплощениях данный второй антиген представляет собой иммуноингибирующую молекулу, например, PD-L1, SIRP α , CD47 или B2M.

В другом аспекте согласно настоящему раскрытию также предложен способ лечения млекопитающего, имеющего связанное с CD24 заболевание или состояние, включающий введение данному млекопитающему эффективного количества клетки, которая является генетически модифицированной для экспрессии предложенного здесь CAR (например, аутологической клетки), осуществляя, посредством этого, лечение данного млекопитающего. В некоторых воплощениях связанное с CD24 заболевание или состояние представляет собой рак. В некоторых воплощениях данное млекопитающее представляет собой человеческого субъекта.

Следующие примеры приводятся для лучшей иллюстрации заявленного изобретения, и их не следует интерпретировать как ограничивающие объем данного изобретения. Все конкретные композиции, материалы и способы, описанные ниже, полностью или частично попадают в пределы объема настоящего изобретения. Данные конкретные композиции, материалы и способы не предназначены для того, чтобы ограничивать данное изобретение, но просто для того, чтобы проиллюстрировать конкретные воплощения, попадающие в пределы объема данного изобретения. Специалист в данной области может разработать эквивалентные композиции, материалы и способы без применения изобретательских способностей и без отступления от объема данного изобретения. Будет понятно, что в описанных здесь методиках могут быть сделаны многие изменения, все еще оставаясь в пределах границ настоящего изобретения. Намерением авторов данного изобретения является именно то, что такие изменения включаются в пределы объема данного изобретения.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1: разработка гибридомы

1. Способы

1.1 Иммунизация и определение сывороточного титра

1.1.1 Иммуноген и стратегии иммунизации

Клеточная иммунизация: человеческие клетки, сверхэкспрессирующие CD24 (HEK293F-hCD24)

Генетическая иммунизация: экспрессионная конструкция полноразмерного человеческого CD24

Белковая иммунизация: рекомбинантный человеческий белок CD24

Мышей Balb/c и SJL иммунизировали, как показано в Таблице 2. После первичной иммунизации следовали несколько повторных иммунизаций, пока у животных не развивались удовлетворительные титры антисыворотки, подходящие для разработки гибридомы. Все стратегии иммунизации проводили параллельно для того, чтобы сравнивать эффективность и иммунный ответ в сывороточном уровне.

Таблица 2

Группа	Иммуноген	Путь	Животное/ штамм	Размер группы	Дозировка
1	клетки hCD24	в.б.	SJL	5	0,5-1×10 ⁷ клеток
2	клетки hCD24	в.б.	Balb/c	5	0,5-1×10 ⁷ клеток
3	экспрессионная конструкция hCD24	Генная пушка	SJL	5	4 мкг
4	экспрессионная конструкция hCD24	Генная пушка	Balb/c	5	4 мкг
5	Рекомбинантный белок hCD24	в.б.	SJL	5	25-50 мкг

1.1.2 Схемы иммунизации

Таблица 3: схема иммунизации (клеточная иммунизация)

Сутки 0	Предварительный отбор крови (15- 30 мкл сыворотки/мышь) Первичная: 0,5 – 1 × 10 ⁶ /мышь в.б.
14	Бустерная 1: 0,5 – 1 × 10 ⁷ клеток на мышь в.б.
21	Опытный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь) (ТВ1)
22	FACS (флуоресцентная сортировка клеток) опытного отбора крови

35	Бустерная 2: в.б., $0,5 - 1 \times 10^7$ клеток на мышь в.б.
42	Опытный отбор крови (15- 30 мкл сыворотки/мышь) (ТВ2)
43	FACS опытного отбора крови
44	Анализ данных и завершение фазы
56	Бустерная перед слиянием (конечная), в.б., $0,5-1 \times 10^7$ клеток на мышь
<ul style="list-style-type: none"> Животные, не отобранные для слияния клеток, будут содержаться в клетке, и им можно давать дополнительные бустерные иммунизации. 	

Таблица 4: схема иммунизации (генетическая иммунизация)

Сутки 0	Предварительный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь) Первичная иммунизация, 1 мкг/укол, 4 укола/животное
14	Бустерная 1: 1 мкг/укол, 4 укола/животное
21	Опытный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь)
22	FACS опытного отбора крови
28	Бустерная 2: 1 мкг/укол, 4 укола/животное
35	Опытный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь)
36	FACS опытного отбора крови
42	Бустерная 3: 1 мкг/укол, 4 укола/животное
49	Опытный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь)
50	FACS опытного отбора крови
51	Анализ данных и завершение фазы
63	Бустерная перед слиянием (конечная): $0,5-1 \times 10^6$ на мышь
67	Слияние
<ul style="list-style-type: none"> Животные, не отобранные для слияния клеток, будут содержаться в клетке, и им могут даваться дополнительные бустерные иммунизации. 	

Таблица 5: схема иммунизации (иммунизация белком)

Сутки 0	Предварительный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь) Первичная: 50 мкг/мышь в.б., CFA (полный адъювант Фрейнда)
14	Бустерная 1: 25 мкг/мышь в.б., IFA (неполный адъювант Фрейнда)
21	Опытный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь) (ТВ1)
22	FACS опытного отбора крови

35	Бустерная 2: 25 мкг/мышь в.б., IFA
42	Опытный отбор крови (15-30 мкл сыворотки/мышь) (ТВ2)
43	FACS опытного отбора крови
44	Анализ данных и завершение фазы
56	Бустерная перед слиянием (конечная), в.б., 25 мкг/мышь
<ul style="list-style-type: none"> Животные, не отобранные для слияния клеток, будут содержаться в клетке, и им могут даваться дополнительные бустерные иммунизации. 	

1.1.3 Анализ антисыворотки опытного отбора крови

Скрининг: проводили опытные отборы крови и оценивали посредством анализа с использованием FACS на линии клеток 293F, стабильно сверхэкспрессирующей человеческий CD24 (293F-hCD24), и клетках MCF7.

1.2 Получение и скрининг гибридомы

1.2.1 Слияние и скрининг клеток

Слияние: слияния спленоцитов проводили на мышах, которые лучше всего отвечали на иммунизации при определении опытных отборов крови посредством FACS. Лимфоциты из селезенок и лимфатических узлов сливали с линией клеток Sp2/0-Ag14 с использованием оптимизированного протокола электрослияния. Проводили многократные слияния для обеспечения успеха проекта.

Скрининг и размножение: продукт слияния высаживали (от 10^4 до 10^5 на лунку) в стопку 96-луночных планшетов. Планшеты отслеживали на рост и еженедельно осуществляли подпитку. Лунки с ростом клеток подвергали скринингу посредством анализов первичного скрининга за 10-14 суток с использованием Acumen и/или других возможных анализов. Проводили многочисленные слияния для каждого целевого антигена и осуществляли скрининг посредством Acumen. Позитивные родительские клоны, которые демонстрировали позитивное связывание с 293F-hCD24 от первичного скрининга, размножали в 24-луночных планшетах для вторичного скрининга.

Дополнительный скрининг антител: после первичного скрининга положительные родительские клоны, размноженные в 24-луночных планшетах, вновь подвергали скринингу посредством анализа, описанного ниже, в воронке для скрининга гибридомы.

Интересующие гибридомы выбирали для перехода к субклонированию.

1.2.2 Субклонирование, скрининг и криоконсервация гибридомы

Субклонирование: родительские гибридомы с желательной реактивностью и изотипами из описанной выше воронки для скрининга затем субклонировали посредством многих циклов предельного разведения или сортировки одиночных клеток, пока не получают моноклоны.

Скрининг и размножение: планшеты для субклонирования подвергали скринингу посредством анализа Acumen, и субклоны с хорошей способностью к связыванию размножали до 24 лунок для подтверждающих анализов. Специфичность и перекрестную реактивность данных субклонов подтверждали с использованием анализа FACS. Вкратце, родительские клетки 293F, 293F-hCD24, клетки рака молочной железы (MCF7, MDA-MB-468), клетки рака мочевого пузыря (5637), клетки хронического миелоцитарного лейкоза (Nalm1), клетки СКОК1-hCD24, клетки колоректального рака (HT29), клетки рака яичника (SKOV3) и клетки карциномы легкого (H1975 и A549) инкубировали с антителами, продуцированными каждым субклоном соответственно. Для выявления связывания первичного антитела с клетками использовали вторичное антитело, конъюгированное с флуоресцентным красителем. Медианную интенсивность флуоресценции (MFI) измеряли посредством анализа FACS.

Криоконсервирование: желательные субклональные линии клеток секвенировали и далее размножали в культуральных колбах для криоконсервирования. Исходно криоконсервировали 4-6 флаконов на линию клеток в количестве $0,5-1,0 \times 10^7$ клеток/флакон. Маточный банк клеток и рабочий банк клеток могли быть получены для отобранных самых ценных линий клеток, если это желательно.

2. Результаты

Авторы данного изобретения открыли целый ряд антител с уникальными последовательностями, демонстрирующими положительное связывание с клеткой 293F, стабильно сверхэкспрессирующей человеческий белок CD24 (293F-hCD24). MFI FACS антител, окрашивающих клетки 293F, 293F-hCD24, клетки рака молочной железы (MCF7, MDA-MB-468), клетки рака мочевого пузыря (5637), клетки хронического миелоцитарного лейкоза (Nalm1), клетки СКОК1-hCD24, клетки колоректального рака (HT29), клетки рака яичника (SKOV3) и клетки карциномы легкого (H1975 и A549), были обобщены в Таблице 6 ниже. Два клона – 110D4G4 и 81A1F8 - также применяли для окрашивания клеток DLBCL (диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома) OCI-LY1, OCI-LY 7 и также клеток SU-DHL-10 (Таблица 7).

Таблица 6. MFI антител, связывающихся с разными линиями клеток

Клон	MFI FACS 293F контроль	MFI FACS 293F-hCD24	MFI FACS клетки MCF7	MFI FACS клетки MDA-MB- 468	MFI FACS клетки Nalm1	MFI FACS клетки 5637
Контр. mIgG	176	185	187	190	175	185
SN3	187	6560	1077	6692	11830	9396
33E7E12	182	24235	5412	10907	45524	14097
71A4F12	499	7351	2425	32523	45015	18649
56A7E3	833	26425	9191	15265	74602	18461
58F10-1F6	774	7421	17352	49793	20923	34233
73H5-1G2	466	20125	373	6404	58514	6358
110D4G4	1225	56479	21225	52775	76230	47100
81A7A10	529	54424	3838	45877	74041	23184
111F3A2	382	58833	2251	35842	73783	18221
100F2E3	249	44060	7162	43976	58827	22138
81A1F8	698	10301	11477	24869	24797	22198

Таблица 7. MFI связывания антител с разными линиями клеток

Клон	MFI FACS CHOK1- hCD24	MFI FACS HT-29	MFI FACS A549	MFI FACS H1975	MFI FACS OCI-LY 1	MFI FACS OCI-LY 7	MFI FACS SU-DHL6
Контр. mIgG	177	194	167	203	197	186	188
SN3	29701	5897	8820	5206			
33E7E12	24117	2453		6113			
71A4F12	28808	4780	4409	7195			
56A7E3	36721	1461	3319	2189			
58F10-1F6	28095	4902	12604	17462			
73H5-1G2	19885	4817	5696	2198			
110D4G4	28908	5610	18352	24926	4353	2930	3286
81A7A10	27774	5890	12218	10855			
111F3A2	33600	4332	16253	10533			

100F2E3	22261	2419	8667	6898			
81A1F8	45923	3053	8659	10644	5339	3855	3824

По сравнению с SN3, несколько из антител авторов данного изобретения демонстрировали значительно большую MFI на проанализированных клетках. Большинство из антител авторов данного изобретения демонстрировали более сильные сигналы на клетках MCF7 с низкой экспрессией CD24.

ПРИМЕР 2: характеристика антител: аффинность

1. Способы

1.1 Аффинность связывания на основе клеток на человеческом CD24

Последовательности некоторых антител из Таблицы 1 отбирали для получения и продукции человеческих химерных антител IgG4. Аффинность связывания данных антител и реперного антитела – SN3 (см., напр. *T Fukukawa et al., Exp Hematol. 1986 Oct; 14(9):850-5*) с клетками 293F-hCD24 и клетками рака молочной железы человека (MCF7, MDA-MB-468), клетками рака мочевого пузыря (5637), клетками хронического миелоцитарного лейкоза (Nalm1), клетками СКОК1-hCD24, клетками колоректального рака (HT29), клетками рака яичника (SKOV3) и клетками карциномы легкого (H1975 и A549) определяли посредством анализа FACS. Протокол для анализа FACS описывается следующим образом:

а. Расщепляли клетки с использованием фермента TrypLE™ Express (1×); центрифугировали отобранные клетки при 400 g в течение 5 мин и отбрасывали супернатант.

б. 2 раза промывали клетки холодным буфером для FACS посредством центрифугирования при 400 g в течение 5 мин и отбрасывали супернатант.

в. Ресуспендировали клетки, и 2×10^5 клеток/лунку высевали в планшет для анализа в 50 мкл буфера FACS, затем добавляли 50 мкл первичного антитела (конечная концентрация первичного антитела: 50,00; 16,67; 5,56; 1,85; 0,62; 0,21; 0,07; 0,02; 0,01; 0,00 мкг/мл). Инкубируют при 40°C в течение 1 ч.

г. Дважды промывали клетки с использованием условий на стадии б. Ресуспендировали клетки со 100 мкл/лунку разведенного 2-го антитела, инкубировали при 4 градусах в течение 1 ч в темноте.

д. Дважды промывали клетки с использованием условий на стадии б. Ресуспендировали клетки со 100 мкл/лунку холодного буфера для FACS. Выдерживали клетки в темноте для анализа FACS.

2. Результат

Анализировали аффинность связывания предложенных здесь антител на клетках 293F-hCD24 и линии клеток рака молочной железы человека, клетках рака молочной железы (MCF7 и MDA-MB-468), клетках рака мочевого пузыря (5637), клетках хронического миелоцитарного лейкоза (Nalm1), клетках острого лимфобластного лейкоза (Nalm6), клетках SKOK1-hCD24, клетках колоректального рака (HT29), клетках рака яичника (SKOV3), клетках карциномы легкого (NCI-H1975 и A549), клетках В-клеточной лимфомы (SU-DHL6 и DoHH2), человеческих В-клетках и клетках печеночно-клеточной карциномы (Huh7). Некоторые были сравнимыми с реперным антителом SN3. Однако mAb-110D4G4 и mAb-81A7F8 авторов данного изобретения вели себя значительно лучше, чем SN3 (Таблица 8А-8Б).

По сравнению с SN3, максимальная MFI (концентрация первичного антитела 50 мкг/мл) некоторых антител (110D4G4, 81A1F8) на клетке MCF7 с низкой экспрессией CD24 и A549 была выше, чем MFI SN3 (Таблица 8 и Таблица 9).

Некоторые из антител авторов данного изобретения (110D4G4-hIgG4, 81A1F8-hIgG4) были более чувствительными на клетке MCF7 с низкой экспрессией CD24 и A549 по сравнению с SN3 (ФИГ. 1), с более высокой максимальной MFI и большей или сравнимой аффинностью связывания (Таблица 8А-8Б, ФИГ. 1).

Таблица 8А

Клон	293F пустые		293F- hCD24		5637		MCF7		MDA-MB- 468		Nalm1	
	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)
mIgG контр.	176	/	185	/	185	/	187	/	190	/	175	/
SN3	187	/	34070	3,25	9396	2,7	761	8,0	10831	4,2	48376	3,43
33E7E12	182	/	24235	2,4	14097	4,37	5412	2,38	10907	3,45	45524	6,2
71A4F12	499	/	39416	6,74	18649	39,66	12572	120,7	32523	11,71	45015	6,28

56A7E3	833	/	26425	7,52	18461	31,64	9191	81,67	15265	16,67	74602	20,92
58F10-1F6	774	/	58228	24,11	34233	22,38	17352	43,38	49793	38,86	60299	8,723
73H5-1G2	466	/	20125	16,24	7442	24,64	373	45,91	6404	27,98	58514	33,82
110D4G4	1225	/	56479	6,55	47100	5,889	21225	5,2	52775	12,23	76230	3,27
81A7A10	529	/	54424	12,14	23184	37,65	3838	61,21	45877	60,99	74041	25,75
111F3A2	382	/	58833	12,3	18221	10,56	2251	10,81	35842	18,79	73783	10,61
100F2E3	249	/	44060	11,43	22138	9,474	7162	8,08	43976	19,65	58827	8,88
81A1F8	698	/	10301	1,702	22198	3,31	11477	3	24869	5,23	24797	1,9

Таблица 8Б

	СНОК1		СНОК1-hCD24		MCF7		Nalm1		MDA-MB-468		5637		293F		293F-hCD24	
	MFI	EC50 (нМ)	MFI	EC50 (нМ)	MFI	EC50 (нМ)	MFI	EC50 (нМ)	MFI	EC50 (нМ)	MFI	EC50 (нМ)	MFI	EC50 (нМ)	MFI	EC50 (нМ)
mIgG1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SN3	/	/	121 77	8,67	570	6,537	547 30	5,08	508 2	7,371	388 4	5,74	/	/	105 13	3,5
107D10 D11	/	/	180 41	1,3	3814	25,36	929 81	1,61	341 94	4,294	177 13	5,322	/	/	235 62	1,778

Таблица 9

Клон	СНОК1-hCD24		HT-29		A549		H1975	
	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)
Контр. - mIgG	189	/	194	/	167	/	203	/
SN3	29701	3,632	5897	6,614	8820	2,996	5206	8,262
33E7E12	24117	1,864	2453	3,397			6113	8,148
71A4F12	28808	1,715	4780	5,458	4409	1,972	7195	71,88
56A7E3	36721	4,851	1461	18,07	3319	92,42	2189	93,09

58F10-1F6	28095	9,7	4902	10,81	12604	12,64	17462	53,11
73H5-1G2	19885	23,8	4817	39,95	5696	36	2198	31,3
110D4G4	28908	1,52	5610	2,921	18352	2,719	24926	5,219
81A7A10	27774	19,36	5890	25,51	12218	11,7	10855	75,32
111F3A2	33600	8,189	4332	11,91	16253	10,05	10533	11,53
100F2E3	22261	1,706	2419	9,552	8667	6,584	6898	10,04
81A1F8	45923	1,525	3053	2,931	8659	2,374	10644	2,032

Таблица 10

Клон	Пустые 293F		293F-hCD24		5637		MCF7		MDA-MB- 468		Nalm1		CHOK1- hCD24	
	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)	Макс. MFI	EC50 (нМ)
Контр. - hIgG														
ch33E7E12- hIgG1	231	/	80907	3,55	42895	6,44	20614	4,35	56743	9,07	108680	5,8	62147	2,265
ch33E7E12- hIgG4	130	/	55225	4,56	25604	7,27	16084	4,75	20088	6,8	34434	11,81	56567	2,664
ch56A7E3- hIgG4	485	/	57107	3,7	61080	138,8	22756	83,68	54153	18,73	80263	66,44	54119	3,04
ch110D4G4- hIgG4	1027	/	112190	2,82	49913	2,18	22713	2,01	89748	5,44	110671	1,945	99530	35,36
ch111F3A2- hIgG4	468	/	89638	2,94	21894	22,89	3649	92,64	40367	8,79	74662	4,22	88076	10,49
ch100F2E3- hIgG4	295	/	60388	3,73	20184	3,42	7959	6,85	71893	7,39	77702	2,78	59308	>100
ch81A1F8- hIgG4	1382	/	116917	3,35	54063	2,47	25390	2,31	90847	5,75	101261	1,31	85348	3239

В Таблице 10 показана аффинность связывания антител на клетках 293F, 293F-hCD24, клетках рака молочной железы (MCF7, MDA-MB-468), клетках рака мочевого пузыря (5637), клетках хронического миелоцитарного лейкоза (Nalm1), клетках СКОК1, клетках СКОК1-hCD24, клетках колоректального рака (HT29), клетках рака яичника

(SKOV3) и клетках карциномы легкого (H1975 и A549). Приставка «ch-» означает химерный, где hIgG1 представляет константную область тяжелой цепи человеческого изотипа IgG1, и hIgG4 представляет константную область тяжелой цепи человеческого изотипа IgG4.

На **ФИГ. 1Й-1С** показана аффинность связывания антител на клетках острого лимфобластного лейкоза (Nalm6), клетках В-клеточной лимфомы (SU-DHL6 и DoHH2), человеческих В-клетках, клетках колоректального рака (HT29), клетках печеночно-клеточной карциномы (Huh7), клетках рака молочной железы (MCF7) и клетках карциномы легкого (NCI-H1975 и A549).

ПРИМЕР 3. Характеристика антитела: фагоцитоз

1. Способы

Моноциты отделяли от PBMC (одноядерные клетки периферической крови) с использованием набора II позитивной селекции человеческого CD14 Easysep™ (StemCell, 17858). Происходящие от моноцитов *макрофаги (MDM)* индуцировали посредством культивирования моноцитов в течение 7 суток в среде RPMI 1640, дополненной 10% FBS (фетальная телячья сыворотка) и 100 нг/мл rhM-CSF (рекомбинантный человеческий макрофагальный колониестимулирующий фактор); заменяли половину среды и поставляли цитокины каждые 3-4 суток. Добавляют 100 нг/мл rhTGF-β (рекомбинантный человеческий трансформирующий фактор роста-бета) и rhIL-10 (рекомбинантный человеческий интерлейкин-10) и культивируют в течение дополнительных 5 суток; заменяли половину среды и добавляли цитокины каждые 3-4 суток.

Клетки HT-29 (линия клеток колоректальной аденокарциномы человека) метили лигандом, усиливающим флуоресценцию (CFSE (сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина), Invitrogen, C34554), согласно рабочим материалам (метка $1 \cdot 10^6$ /мл клеток с 2 мкМ CFSE и инкубировали в течение 20 мин при 37°C в инкубаторе для клеток). Высевают 40000 клеток/лунку в 100 мкл в 96 лунок стерильного планшета с U-образным дном (Corning, кат. № 3894). После этого добавляли 50 мкл серийно разведенных антител, перечисленных в Таблице 6, в каждую лунку и инкубировали планшет при 37°C, 5% CO₂ в течение 2 ч. Тем временем, отбирали клетки MDM и ресуспендировали в среде RPMI1640 (Gibco, кат. № 11835-030) плюс 10% FBS (фетальная телячья сыворотка) до $1 \cdot 10^6$ /мл. Вышеупомянутые клетки MDM диссоциировали трипсином и ресуспендировали в полной среде 1640 в количестве 10^6

клеток/мл. 50 мкл MDM (40000 клеток), как упомянуто выше, поставляли в каждую лунку планшета для анализа. После 2 часов инкубации при 37°C, 5% CO₂, промывали смесь клеток и окрашивали клетки антителом против CD11b-APC в течение 20 мин при 4°C. Промывали клетки и анализировали образцы проточным цитометром.

2. Результат

2.1 Антитела против CD24 могли усиливать поглощение клеток колоректальной карциномы HT-29

Все антитела авторов данного изобретения усиливали эффект фагоцитоза на клетках HT-29. Антитела авторов данного изобретения демонстрировали более высокий максимальный показатель фагоцитоза (*фагоцитарный показатель* = (число макрофагов, содержащих поглощенные клетки/общее число подсчитанных макрофагов) × 100) на клетках HT-29, и четыре из них демонстрировали меньшую EC50 (полу максимальная эффективная концентрация) по сравнению с реперным антителом – SN3 (Таблица 11, ФИГ. 2). Анализ фагоцитоза проводили, следуя вышеупомянутому способу. Отношение эффектора к клетки мишени (E:T) (отношение E/T) макрофагов и опухолевых клеток составляло 1:1.

Таблица 11. Максимальный показатель фагоцитоза HT29 и EC50 химерных антител

Клон	Фагоцитоз против клеток HT-29	
	Максимальный показатель фагоцитоза (%)	EC50 (нМ)
SN3	68,19	2,098
ch33E7E12-hIgG4	33,30	3,255
ch56A7E3-hIgG4	55,24	4,736
ch81A7A10-hIgG4	78,38	0,157
ch100F2E3-hIgG4	71,16	1,895
ch81A1F8-hIgG4	76,63	0,098
ch33E7E12-hIgG1	80,38	0,042

Некоторые из химерных антител авторов данного изобретения также усиливали эффект фагоцитоза на клетках HEK293F, которые сверхэкспрессируют hCD24, а также на линии клеток HT-29 колоректальных раковых заболеваний (CRC). Некоторые

демонстрировали более высокий максимальный показатель фагоцитоза на данных клетках, и некоторые демонстрировали значительно более сильный EC50 по сравнению с эталонным антителом – SN3. Химерное антитело типа hIgG1 индуцировало ADCP таким образом, что мог быть выявлен значительно лучший фагоцитозный эффект (Таблица 11, ФИГ. 2).

2.2 Комбинация антител против CD24 с антителами против CD47

Анализировали комбинацию антитела против CD47 с химерными антителами против CD24 авторов данного изобретения (chAb110D4G4, chAb111F3A2 и chAb81A1F8). В качестве клеток-мишеней отбирали клетки колоректальной опухоли HT29.

Применяли химерное антитело chAb110D4G4, chAb111F3A2 и chAb81A1F8 для объединения с разными концентрациями антитела против CD47 (на ФИГ. 3 взаимозаменяемо используются hu5F9, hu5F9-hIgG4 или hu5F9-G4) для выявления общего фагоцитозного эффекта. Устанавливали концентрацию химерных антител против CD24 0,1 нМ, и устанавливали концентрацию hu5F9 0,0033 нМ, 0,013 нМ, 0,052 нМ и 0,208 нМ. Комбинация антитела против CD24 и антитела против CD47 улучшала показатель фагоцитоза. На ФИГ. 3 показано то, что комбинация антитела против CD24 с антителом против CD47 индуцировала значимо лучший фагоцитозный эффект, чем одно антитело против CD47.

2.3 Биспецифичное антитело (формат IgG плюс scFv) исследовали для анализа фагоцитоза

Конструировали формат биспецифичного антитела IgG-scFv с использованием chAb81A1F8-IgG4 и scFv, происходящего от Hu5F9, содержащего две тяжелые цепи в формате VH-CH1-Шарнир-CH2-CH3-спейсер-scFv, ассоциированные с легкой цепью в формате VL-CL соответственно. Анализировали аффинность данного биспецифичного антитела и затем также проводили анализы фагоцитоза (см. ФИГ. 4). Устанавливали концентрацию всех антител 100 нМ, которая была достаточной для максимального фагоцитоза. Устанавливали отношение Е/Т 1:5 и 1:1. Биспецифичное антитело демонстрировало улучшенный фагоцитоз по сравнению с hu5F9, а группа комбинации демонстрировала почти 100%-ный фагоцитоз при отношении Е/Т 1:5. Как показано на ФИГ. 4, анализировали биспецифичное антитело, а также комбинацию антитела против CD24 и антитела против CD47 посредством анализа фагоцитоза. Максимальный показатель мог достигать 85%, когда отношение Е/Т составляло 1:1, как и в анализах

ранее, и 98% с отношением Е/Т 1:5. Биспецифичное антитело демонстрировало очень хорошую эффективность фагоцитоза.

ПРИМЕР 4. Гуманизация антител

Гуманизацию 81A1F8 и 101H9G9A2 проводили с использованием следующих стадий: 1) моделирование доменов VH и VL мышинового антитела; 2) выравнивание с рядом предпочтительных последовательностей человеческой зародышевой линии; 3) оценка конфликтов между CDR, не являющихся человеческими, и человеческими FR и конструирование обратных мутаций для предупреждения потери аффинности в конечных продуктах; и 4) прививка CDR на предпочтительные остовы зародышевой линии. Получали 5 разных гуманизированных последовательностей, с последующим клонированием и мелкомасштабным производством всех гуманизированных вариантов и химерных антител в системе экспрессии млекопитающего.

ПРИМЕР 5. Характеристика гуманизированного антитела: аффинность

Гуманизированные варианты 81A1F8-VH-11/VL-21(81A1F8-1121), 81A1F8-VH-21/VL-21(81A1F8-2121), 81A1F8-VH-11/VL-41(81A1F8-1141) и 81A1F8-VH-21/VL-41(81A1F8-2141) анализировали посредством анализа связывания на основе клеток с использованием CD24-позитивных клеток HT-29 и Nalm6. Гуманизированные варианты 101H9G9A2 анализировали посредством анализа связывания на основе клеток с использованием CD24-позитивных клеток HT-29.

Вкратце, клетки HT-29 и Nalm6 три раза промывали с использованием PBS (фосфатно-солевой буферный раствор) и сначала инкубировали с гуманизированными вариантами. После трехкратной промывки с клетками инкубировали вторичное антитело. MFI образцов анализировали с использованием проточной цитометрии, и рассчитывали аффинность на основе клеток.

Аффинности связывания с HT29 и Nalm6 вышеупомянутых гуманизированных антител 81A1F8 были сравнимыми с химерным 81A1F8, как показано на ФИГ. 5А и ФИГ. 5Б соответственно.

Аффинности связывания с HT29 вышеупомянутых гуманизированных антител 101H9G9A2 были показаны на ФИГ. 5В.

Анализировали КД на основе белка гуманизированных антител 81A1F8 с использованием системы Gatorprime (белок hCD24-Fc в качестве антигена), и данные по КД были показаны на ФИГ. 5Г.

ПРИМЕР 6. Эпитоп гликозилирования/сигналирования CD24

Анализировали картину эпитопов, распознаваемых предложенными здесь антителами. Обнаружили, что некоторые из предложенных здесь антител распознают гликозилированную или сиалированную модификацию эпитопа CD24.

Клетки HT-29, Nalm6, HEK293T-hCD24 и MCF7-hCD24 расщепляли нейраминидазой или набором с дегликозилирующей смесью. По сравнению с контролем в виде PBS, 81A1F8 и 110D4G4 поддерживали аффинность против клеток-мишеней, и сигнал MFI не снижался. Однако MFI 81A7A10, 111F3A2, 100F2E3, 101H9G9A2 и 107D10D11 сильно снижалась после обработки клеток-мишеней нейраминидазой или дегликозилирующей смесью, как показано на ФИГ. 6А и ФИГ. 6Б. Реперное антитело SN3 также распознавало гликозилированный эпитоп, о котором сообщали ранее. Как показано на ФИГ. 6В и ФИГ. 6Г, 101H9G9A2 связывалось с клетками HT-29 с высокой аффинностью, но совсем не могло связываться с 293T-hCD24. 107D10D11 связывалось с 293T-hCD24 с низкой аффинностью. Однако SN3 нормально связывалось с 293T-hCD24 и HT-29.

ПРИМЕР 7. Анализ аффинности для mAb против CD24, а также гуманизированных антител посредством SPR (поверхностный плазмонный резонанс)

Аффинность антител против человеческого CD24, меченного mFc (hCD24-mFc-биотин), определяли посредством BIAcore 8K (GE Healthcare). 0,8 или 2,5 мкг/мл hCD24-mFc-биотина иммобилизовали на сенсорном чипе SA серии S при скорости тока 10 мкл/мин в течение 120 с с достижением уровня иммобилизации около 1200 RU (резонансная единица). Антитела инъецировали при скорости тока 30 мкл/мин при комнатной температуре с концентрационным градиентом (1,56~50 нМ). Устанавливали время контакта 180 с, и время диссоциации составляло 400 с. В конце каждого цикла инъецировали 10 мМ глицин, pH 1,5, для удаления с поверхности проанализированных антител. Наконец, рассчитывали кинетику связывания с использованием программы BIAcore Insight Evaluation, и для аппроксимации кривой использовали модель связывания 1:1.

Результаты анализа SPR для некоторых предложенных здесь mAb против CD24 были показаны на ФИГ. 7А. Результаты анализа SPR для гуманизированных кандидатов 81A1F8 были показаны на ФИГ. 7Б.

ПРИМЕР 8. Анализ связывания рецептора на основе ELISA для 81A1F8

1. Способы

Человеческими белками CD24-mFc покрывали планшеты. Биотинилированные человеческие белки SigLec10 (SIG-HM510B, Cactus) смешивали совместно с разными концентрациями 81A1F8 и затем добавляли на планшеты. Буфер для связывания, который применяли авторы данного изобретения, представлял собой 1% Triton-X, 0,3 mM MnCl₂, 1 mM CaCl₂, 25 mM Tris, 150 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, pH 7,6. Образцы три раза промывали буфером 1× PBS. Выявляли сигналы данных образцов и нормировали с использованием исходного показания SigLec-10.

2. Результаты

Результаты анализа связывания рецептора на основе ELISA для разных концентраций 81A1F8 были показаны на ФИГ. 8.

ПРИМЕР 9. Анализы эффективности *in vitro* для 81A1F8 и его гуманизированных вариантов

1. Анализ фагоцитоза

Человеческие моноциты отделяли и индуцировали, как упомянуто в ПРИМЕРЕ 3.

А и Б: фагоцитоз опухолевых клеток-мишеней (HT-29 и Nalm6) осуществлялся с использованием mAb против CD24 (Fc hIgG4) и реперного антитела SWA11, а также mAb против CD47 5F9-IgG4. Результаты были показаны на ФИГ. 9А и ФИГ. 9Б.

В: 81A1F8-LALAPG с редкими зависимыми от Fc функциями объединяли с ритуксимабом для того, чтобы увидеть, могло ли оно усиливать эффект ADCP ритуксимаба. Авторы данного изобретения обнаружили, что мог быть выявлен аддитивный эффект (см. ФИГ. 9В).

Г: химерное антитело 81A1F8-hIgG4 также усиливало фагоцитозный эффект антитела против CD47 hu5F9 при введении в комбинации (см. ФИГ. 9Г).

2. Анализы ADCC и CDC

А: Анализировали эффекты ADCC 81A1F8 и его гуманизированных вариантов на клетке-мишени HT-29. Клетки HT-29 инкубировали с РВМС. К образцам добавляли разные концентрации 81A1F8, а также гуманизированных вариантов 81A1F8-1141 и 81A1F8-2141. Лизис клеток-мишеней анализировали посредством набора LDH. Как показано на ФИГ. 10А, эффект ADCC мог быть индуцирован лишь антителами изотипа hIgG1.

Б: Анализировали эффекты CDC 81A1F8 и его гуманизированных вариантов на клетке-мишени hCD24-MCF7. С клетками-мишенями и системой комплемента инкубировали разные концентрации антител. Как показано на ФИГ. 10Б, могло быть

выявлено более 90% лизиса клеток-мишеней при высоких концентрациях вариантов антитела 81A1F8.

ПРИМЕР 10. Анализы эффективности *in vivo* антител против CD24

Эффективность *in vivo* 81A1F8 анализировали в сингенной мышинной модели C57BL/6J. Вкратце, 1 миллион клеток MC38-hCD24 подкожно имплантировали самкам 6-8 недельных мышей C57BL/6J. При достижении среднего объема опухоли ~60 мм³ мышей случайным образом делили на группы и обрабатывали, как показано ниже. Антитело изотипа hIgG4 анализировали в виде одиночного средства (10 мг/кг, Q3D (один раз в трое суток)) или в комбинации с оксалиплатином (6 мг/кг, QW (один раз в неделю)). Объем опухоли и массу тела мышей измеряли дважды в неделю. Эффективность *in vivo* 81A1F8 продемонстрирована на ФИГ. 11А – ФИГ. 11Г.

Все обработанные группы демонстрировали ингибирование роста опухоли (см. ФИГ. 11А). При комбинации с оксалиплатином 81A1F8-hIgG4 демонстрировало значительно лучшую эффективность, и мог наблюдаться синергический эффект; масса тела всех мышей не снижалась (см. ФИГ. 11Б). Обобщение анализа эффективности *in vivo* было показано на ФИГ. 11В. Из опухолевой ткани выделяли инфильтрующие опухоль лимфоциты и анализировали посредством проточной цитометрии. На ФИГ. 11Г показано, что отношение CD8/CD4, а также отношение макрофагов M1/M2 значительно возрастало при обработке комбинацией 81A1F8-hIgG4 и оксалиплатина по сравнению с контролем (КОНТР.).

Также оценивали эффективность *in vivo* 81A1F8-mIgG2a (гомолог человеческого IgG1) на сингенной модели MC38-hCD24. Проводили анализ доза-эффективность, и авторы данного изобретения обнаружили то, что дозировка 6 мг/кг демонстрировала наилучшую эффективность, так как 4 из 6 мышей не имели опухоли после введения 81A1F8-mIgG2a (см. ФИГ. 12А).

Проводили анализ повторного заражения посредством инокулирования вновь клеток MC38-hCD24, и опухоли могли вырастать. Однако опухоли опять не давали рецидив в группах обработки, демонстрируя то, что после обработки 81A1F8 формировалась иммунная память (см. ФИГ. 12Б).

На ФИГ. 12В показаны кривые роста опухоли для каждой мыши, обработанной контролем в виде носителя или 81A1F8-mIgG2a.

На ФИГ. 12Г показано обобщение для эффективности *in vivo* 81A1F8-mIgG2a (также названного «ATG031-mAb011-mIgG2a»).

Также анализировали эффективность *in vivo* гуманизированного 81A1F8 (81A1F8-2141-mIgG2a). Вкратце, инокулировали опухолевые клетки MC38-hCD24. При достижении среднего объема опухоли ~120 мм³ мышей делили на группы и обрабатывали одним средством (81A1F8-2141-mIgG2a, оксалиплатин или атезолизумаб) или комбинированной стратегией. Опухولةингибирующий эффект проанализированного гуманизированного 81A1F8 (81A1F8-2141-mIgG2a) был показан на ФИГ. 13А – ФИГ. 13В, где на ФИГ. 13А показана кривая роста опухоли после введения лекарственных средств, на ФИГ. 13Б показана кривая роста опухоли для каждой мыши группы обработки, и на ФИГ. 13В показано обобщение эффективности *in vivo* 81A1F8-2141-mIgG2a.

Также проводили анализ эффективности *in vivo* для 101H9G9A2-mIgG2a. Вкратце, опухолевые клетки MC38-hCD24 инокулировали, как упомянуто выше. При достижении среднего объема опухоли ~120 мм³ мышам вводили 101H9G9A2-mIgG2a, 81A1F8-2141-mIgG2a, оксалиплатин и атезолизумаб или их комбинацию. Опухولةингибирующий эффект проанализированного 101H9G9A2-mIgG2a и гуманизированного 81A1F8 (81A1F8-2141-mIgG2a) был показан на ФИГ. 14А – ФИГ. 14В, где на ФИГ. 14А показана кривая объема опухоли мышей, которые были разделены на группы, как показано выше, на ФИГ. 14Б показана масса тела мышей, и на ФИГ. 14В показано обобщение эффективности разных обработок.

ПРИМЕР 11. Открытие антитела против CD24 яванского макака (*Macaca fascicularis*) (cmCD24)

Мышей Balb/c и SJL иммунизировали клетками 293F, которые сверхэкспрессировали cmCD24-Flag, и идентифицировали два антитела для распознавания CD24 яванского макака. Данные по связыванию на основе клеток показаны на ФИГ. 15.

Проводили исследование эффективности *in vitro* антител против cmCD24, и результаты из которого были показаны на ФИГ. 16А – ФИГ. 16В, где на ФИГ. 16А показаны результаты из анализа фагоцитоза предложенных здесь антител против cmCD24, на ФИГ. 16Б показан эффект ADCC предложенных здесь антител против cmCD24, и на ФИГ. 16В показан эффект CDC предложенных здесь антител против cmCD24.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее 1, 2 или 3 последовательности области, определяющей комплементарность (CDR), тяжелой цепи, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 95, 96, 97, 104, 105, 106, 113, 114, 115, 126, 127, 128, 136, 137, 150, 151, 152, 160, 161, 162, 168, 169, 170, 222, 223 и 224, и/или 1, 2 или 3 последовательности CDR легкой цепи, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 15, 20, 22, 24, 26, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 98, 99, 100, 107, 108, 116, 117, 129, 130, 131, 138, 139, 140, 145, 153, 154, 155, 163, 171, 172, 173, 184, 185, 186, 187, 188, 225, 226 и 227.

2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

а) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 5;

б) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 11;

в) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 11;

г) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18;

д) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 23;

е) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28;

ж) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 28;

з) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 36;

и) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40 и SEQ ID NO: 42;

й) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 48;

к) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97;

л) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106;

м) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114 и SEQ ID NO: 115;

н) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127 и SEQ ID NO: 128;

о) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 137;

п) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151 и SEQ ID NO: 152;

р) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 161 и SEQ ID NO: 162;

с) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 170; и

т) вариабельной области тяжелой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223 и SEQ ID NO: 224.

3. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-2, содержащее переменную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из:

а) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 6;

б) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 12;

в) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 15;

г) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

д) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

е) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 31;

ж) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 37;

з) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 и SEQ ID NO: 43;

и) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47 и SEQ ID NO: 49;

й) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100;

к) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

л) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 117;

м) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130 и SEQ ID NO: 131;

н) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139 и SEQ ID NO: 140;

о) переменной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 145 и SEQ ID NO: 24;

п) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

р) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

с) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172 и SEQ ID NO: 173;

т) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

у) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ф) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

х) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ц) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37; и

ч) вариабельной области легкой цепи, содержащей 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 227.

4. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-3, содержащее следующее:

а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 5; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 6;

б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 11; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 12;

в) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 11; и вариабельную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 15;

г) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 и SEQ ID NO: 18; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 10 и SEQ ID NO: 15;

д) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21 и SEQ ID NO: 23; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

е) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27 и SEQ ID NO: 28; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 24;

ж) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 28; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 22 и SEQ ID NO: 31;

з) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34 и SEQ ID NO: 36; и переменную область легкой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 37;

и) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40 и SEQ ID NO: 42; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 и SEQ ID NO: 43;

й) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 48; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47 и SEQ ID NO: 49;

к) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3

последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100;

л) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

м) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 114 и SEQ ID NO: 115; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 117;

н) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127 и SEQ ID NO: 128; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 130 и SEQ ID NO: 131;

о) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 137; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 138, SEQ ID NO: 139 и SEQ ID NO: 140;

п) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30 и SEQ ID NO: 28; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 145 и SEQ ID NO: 24;

р) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 151 и SEQ ID NO: 152; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 153, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

с) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 160, SEQ ID NO: 161 и SEQ ID NO: 162; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 163, SEQ ID NO: 154 и SEQ ID NO: 155;

т) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 168, SEQ ID NO: 169 и SEQ ID NO: 170; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172 и SEQ ID NO: 173;

у) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 184, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ф) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

х) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ц) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 187, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37;

ч) переменную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106; и переменную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3

последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 188, SEQ ID NO: 108 и SEQ ID NO: 37 или

ш) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 222, SEQ ID NO: 223 и SEQ ID NO: 224; и вариабельную область легкой цепи каппа, содержащую 1, 2 или 3 последовательности CDR, выбранные из SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 226 и SEQ ID NO: 227.

5. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-4, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 101, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122, SEQ ID NO: 132, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 156, SEQ ID NO: 164, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 194 и гомологичных последовательностей с по меньшей мере 80%-ной идентичностью последовательности с ними.

6. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-5, содержащее вариабельную область легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 124, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 143, SEQ ID NO: 148, SEQ ID NO: 158, SEQ ID NO: 166, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 221 и гомологичных последовательностей с по меньшей мере 80%-ной идентичностью последовательности с ними.

7. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, содержащее:

а) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 50, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 52;

б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 54, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 56;

шш) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 193, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 201;

щщ) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 193, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 202;

aaa) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 193, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 203;

ббб) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 200;

ввв) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 201;

ггг) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 202; или

ддд) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую SEQ ID NO: 194, и вариабельную область легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 203.

8. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-7, дополнительно содержащее одну или более чем одну замену или модификацию аминокислотного остатка, которое при этом все еще сохраняет аффинность специфического связывания с человеческим CD24 или CD24 яванского макака.

9. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-8, в котором замена происходит в одной или более чем одной последовательности CDR и/или в одной или более чем одной последовательности VH или VL, но не в любой из последовательностей CDR.

10. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-9, дополнительно содержащее константную область иммуноглобулина, возможно константную область человеческого Ig или возможно константную область человеческого IgG.

11. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 10, в котором константная область содержит константную область человеческого IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-11, которое является химерным или гуманизированным.

13. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-12, которое представляет собой диатело, Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv-фрагмент, Fv-фрагмент,

стабилизированный дисульфидом (dsFv), (dsFv)₂, биспецифичный dsFv (dsFv-dsFv'), стабилизированное дисульфидом диатело (ds диатело), молекулу одноцепочечного антитела (scFv), димер scFv (двухвалентное диатело), мультиспецифичное антитело, камелизированное однодоменное антитело, нанотело, доменное антитело и двухвалентное доменное антитело.

14. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-13, которое является биспецифичным.

15. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 14, способное к специфичному связыванию с первым и вторым эпитопом CD24 или способное к специфичному связыванию с CD24 и вторым антигеном.

16. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 15, которое связывается с CD24 посредством Fab или связывается со вторым антигеном посредством scFv.

17. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 16, в котором второй антигенсвязывающий scFv связан функциональным образом с С-концом константной области тяжелой цепи после Fab, связывающего CD24.

18. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 17, где молекула биспецифичного антитела содержит тяжелую цепь в формате VH(против CD24)-CH1-шарнир-CH2-CH3-спейсер-второй антигенсвязывающий scFv, ассоциированную с легкой цепью в формате VL(против CD24)-CL.

19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 15-18, в котором второй антиген представляет собой связанную с иммунитетом мишень, возможно выбранную из группы, состоящей из следующих: PD-L1 (лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 1), PD-L2 (лиганд рецептора программируемой клеточной гибели 2), PD-1 (рецептор белка программируемой клеточкой гибели), CLTA-4 (цитотоксический белок-4, ассоциированный с Т-лимфоцитами), TIM-3 (Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина-3), LAG3 (белок активации лимфоцитов-3), CD160, 2B4 (рецептор естественных киллеров), TGF β (трансформирующий фактор роста β), VISTA (Ig-супрессор V-домена активации Т-клеток), BTLA (В- и Т-лимфоцитарный аттенуатор), TIGIT (Т-клеточный рецептор с доменами иммуноглобулина и ITIM (ингибирующий мотив иммунорецептора на основе тирозина)), LAIR1 (иммуноглобулино-подобный рецептор, ассоциированный с лейкоцитами, тип 1), OX40 (лиганд рецептора из надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли), CD2, CD27,

ICAM-1 (молекула клеточной адгезии), NKG2C (интегральный мембранный белок), SLAMF7 (мембранный белок CD319), NKp80 (лектин-подобный рецептор надсемейства F клеток-киллеров), CD160, B7-H3 (белок контрольной точки), LFA-1 (антиген, ассоциированный с функцией лимфоцитов-1), ICOS (белок контрольной точки), 4-1BB (представитель надсемейства лигандов фактора некроза опухоли), GITR (белок, родственник семейству индуцируемых глюкокортикоидами рецепторов фактора некроза опухоли), CD30, CD40, BAFFR (рецептор фактора, активирующего В-лимфоциты), HVEM (медиатор проникновения вируса герпеса), CD7, LIGHT, IL-2, IL-15, CD3, CD16, SIRP α (сигнальный регуляторный белок α), Siglec 10, LILRB2 (мембранный белок 2 семейства иммуноглобулиноподобных рецепторов B), Clever-1, Macs, LILRB4 (мембранный белок 4 семейства иммуноглобулиноподобных рецепторов B), Siglec15, CSF1R (рецептор колониестимулирующего фактора 1), PSGL-1 (гликопротеиновый лиганд Р-селектина 1), VSIG-4 (V-набор и иммуноглобулиновый домен, содержащий 4), B2M и CD83.

20. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 16, в котором второй антиген содержит опухолевый антиген.

21. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 20, в котором опухолевый антиген содержит CA-125, ганглиозиды G(D2), G(M2) и G(D3), CD19, CD20, CD33, CD47, CD52, Ep-CAM, CEA, CLDN18.2 (клаудин), пептиды, подобные бомбезину, PSA (протеостатический специфический антиген), HER2/neu, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), erbB2, erbB3/HER3, erbB4, CD44v6, CD44v9, Ki-67, муцин, ассоциированный с раковым заболеванием, VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), VEGFR (например, VEGFR3), рецепторы эстрогена, антиген Льюиса-Y, TGF β 1 (трансформирующий фактор роста β 1), рецептор IGF-1, EGF α , рецептор c-Kit, рецептор трансферрина, IL-2R, CDH6, CEA, FOLR1 (рецептор фолиевой кислоты), TROP2 (связанный с опухолью преобразователь сигнала кальция 2), PTK7 (тирозин-протеинкиназа-подобная 7), SLITRK6, CD142, NECTIN-4, ROR1 (трансмембранная рецепторная протеинтирозинкиназа 1), ROR2 (трансмембранная рецепторная протеинтирозинкиназа 2), CD142, CD123, CD22, CD79b, DLL3 (дельта-подобный белок-3), семейство SLC или CO17-1A.

22. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 21, в котором опухолевый антиген представляет собой CD47.

23. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 22, которое содержит

тяжелую цепь в формате VH(против CD24)-CH1-шарнир-CH2-CH3-спейсер-scFv(против CD47), ассоциированную с легкой цепью в формате VL(против CD24)-CL.

24. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-23, где данное антитело или антигенсвязывающий фрагмент связаны с одним или более чем одним конъюгатом, возможно, где данный конъюгат ковалентно присоединен либо непосредственно, либо через линкер.

25. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 24, где данный конъюгат содержит агент, модифицирующий клиренс, химиотерапевтический агент, токсин, радиоактивный изотоп, лантанид, люминисцентную метку, флуоресцентную метку, метку фермент-субстрат, ДНК-алкиляторы, ингибитор топоизомеразы, средства, связывающие тубулин, или другие противораковые лекарственные средства.

26. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-25, где данное антитело или антигенсвязывающий фрагмент способны к специфичному связыванию с CD24 и возможно где CD24 происходит от человека или яванского макака, и возможно где CD24 представляет собой рекомбинантный CD24 или CD24, экспрессируемый на поверхности клетки.

27. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое конкурирует за тот же самый эпитоп с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-26.

28. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 27, которое конкурирует за тот же самый эпитоп с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106, соответственно; и вариабельную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где LCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 107, 184, 185, 186, 187 и 188, и LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108, и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37.

29. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 27, которое конкурирует за тот же самый эпитоп с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим вариабельную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответственно; и вариабельную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 SEQ ID NO:

98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100 соответственно.

30. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 28 или 29, которое селективно связывается с CD24, экспрессируемым в раковой клетке, по сравнению с нераковой клеткой.

31. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-30 и фармацевтически приемлемый носитель.

32. Фармацевтическая композиция по п. 31, дополнительно содержащая второе терапевтическое средство, возможно, представляющее собой антагонист против одной или более чем одной иммуноингибирующей молекулы или противораковое средство (например, оксалиплатин, атезолизумаб, ритуксимаб).

33. Фармацевтическая композиция по п. 32, где второе терапевтическое средство представляет собой антагонист CD47, возможно, где антагонист CD47 представляет собой слитый белок SIRP α -Fc или его вариант, или антитело против CD47 или его антигенсвязывающий фрагмент.

34. Выделенный полинуклеотид, кодирующий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-26.

35. Выделенный полинуклеотид по п. 34, который содержит нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 102, 110, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219 и 220.

36. Вектор, содержащий выделенный полинуклеотид по п. 34 или 35.

37. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п. 36.

38. Способ осуществления экспрессии антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-26, включающий культивирование клетки-хозяина по п. 37 в условиях, при которых экспрессируется вектор по п. 36.

39. Способ лечения заболевания или состояния у субъекта, которому будет полезна модуляция активности CD24, включающий введение данному субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-26 или фармацевтической композиции по любому из пп. 31-33.

40. Способ по п. 39, где заболевание или состояние представляет собой связанное с CD24 заболевание или состояние.

41. Способ по п. 39, где заболевание или состояние представляет собой рак, адаптивное иммунное заболевание, аутоиммунное заболевание, воспалительное заболевание или инфекционное заболевание.

42. Способ по п. 41, где рак представляет собой рак легкого, рак бронхов, рак кости, рак печени и желчного протока, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак печени, рак яичника, рак яичка, рак почки, рак мочевого пузыря, рак головы и шеи, рак спинного мозга, рак мозга, рак шейки матки, рак матки, рак эндометрия, рак толстой кишки, рак толстой и ободочной кишки, рак прямой кишки, рак ануса, рак пищевода, желудочно-кишечный рак, рак кожи, рак предстательной железы, рак гипофиза, рак желудка, рак вагины, рак щитовидной железы, глиобластома, астроцитому, меланому, миелодиспластический синдром, саркому, тератому, аденокарциному, лейкоз, миелому и лимфому, возможно, где данное рак является химиорезистентным.

43. Способ по п. 41, где данное заболевание или состояние представляет собой гематологическое раковое заболевание, выбранное из следующих: В-клеточные лимфомы, возможно ходжкинская лимфома, неходжкинская лимфома (NHL), острый лимфоцитарный лейкоз (ALL), острый миелоидный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CML), множественная миелома (MM), диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (DLBCL), В-лимфома маргинальной зоны (MZL), мантийноклеточная лимфома (MCL), синдром Рихтера, лимфома Беркитта или фолликулярная лимфома.

44. Способ по п. 39, где субъект представляет собой человека.

45. Способ по п. 39, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества второго терапевтического средства, возможно, где второе терапевтическое средство представляет собой антагонист одной или более чем одной иммуноингибирующей молекулы.

46. Способ по п. 45, где второе терапевтическое средство представляет собой антагонист CD47, возможно, где антагонист CD47 представляет собой слитый белок SIRP α -Fc или его вариант, или антитело против CD47 или его антигенсвязывающий фрагмент.

47. Способ по любому из пп. 39-46, в котором введение осуществляется посредством перорального, назального, внутривенного, подкожного, подъязычного или внутримышечного введения.

48. Способ модулирования активности CD24 в клетке, экспрессирующей CD24, включающий подвергание клетки, экспрессирующей CD24, воздействию антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-26.

49. Способ выявления присутствия или количества CD24 в образце, включающий приведение данного образца в контакт с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-26 и определение присутствия или количества CD24 в данном образце.

50. Способ диагностики связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта, включающий: а) получение образца от субъекта; б) приведение образца, полученного от субъекта, в контакт с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по любому из пп. 1-26; в) определение присутствия или количества CD24 в образце; и г) установление взаимосвязи между присутствием или количеством CD24 и существованием или статусом связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта.

51. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-26 в изготовлении лекарственного средства для лечения связанного с CD24 заболевания или состояния у субъекта.

52. Применение по п. 51, где данное лекарственное средство дополнительно содержит второе терапевтическое средство, возможно, где второе терапевтическое средство представляет собой антагонист против одной или более чем одной иммуноингибирующей молекулы.

53. Применение по п. 52, где второе терапевтическое средство представляет собой антагонист CD47, возможно, где антагонист CD47 представляет собой слитый белок SIRP α -Fc или его вариант, или антитело против CD47, или его антигенсвязывающий фрагмент.

54. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1-26 в изготовлении диагностического реактива для диагностики связанного с CD24 заболевания или состояния.

55. Набор, содержащий антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-26, полезные в выявлении CD24, возможно рекомбинантный CD24, CD24, экспрессируемый на поверхности клетки, или клетки, экспрессирующие CD24.

56. Химерный рецептор антигена (CAR), содержащий антигенсвязывающий домен, трансмембранный домен, костимулирующую сигнальную область и сигнальный домен TCR (Т-клеточный рецептор), где антигенсвязывающий домен специфично

связывается с CD24 и содержит антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-26.

57. CAR по п. 56, в котором антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab или scFv.

58. CAR по п. 56 или 57, который является биспецифичным.

59. CAR по п. 58, способный к дополнительному специфичному связыванию со вторым антигеном, отличным от CD24, или вторым эпитопом на CD24.

60. CAR по п. 59, где второй антиген представляет собой опухолевый антиген.

61. CAR по п. 56, в котором сигнальный домен TCR выбран из группы, состоящей из последовательности внутриклеточных сигнальных областей CD3 ζ , Fc ϵ RI γ , CD27, CD28, CD137, CD134, MyD88, CD40, CD278, TLR или их комбинации.

62. CAR по п. 56, в котором трансмембранная область содержит трансмембранную область CD3, CD4, CD8 или CD28.

63. Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая химерный рецептор антигена (CAR) по любому из пп. 56-62.

64. Клетка, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты по п. 63.

65. Клетка, генетически модифицированная для экспрессии CAR по любому из пп. 56-62.

66. Клетка по п. 65, представляющая собой иммунную клетку, возможно где данная иммунная клетка представляет собой Т-лимфоцит, НК клетку (природный киллер), моноцит, макрофаг или NKT лимфоцит.

67. Вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты по п. 63.

68. Способ стимулирования опосредованного Т-клетками иммунного ответа на клетку или ткань, экспрессирующую CD24, у млекопитающего, включающий введение данному млекопитающему эффективного количества генетически модифицированной клетки для экспрессии CAR по любому из пп 56-62.

69. Способ лечения млекопитающего, имеющего связанное с CD24 заболевание или состояние, включающий введение данному млекопитающему эффективного количества клетки по п. 65, посредством этого осуществляя лечение данного млекопитающего.

70. Способ по п. 69, где данная клетка представляет собой аутологическую Т-клетку.

71. Способ по п. 69, где связанное с CD24 заболевание или состояние представляет собой рак.

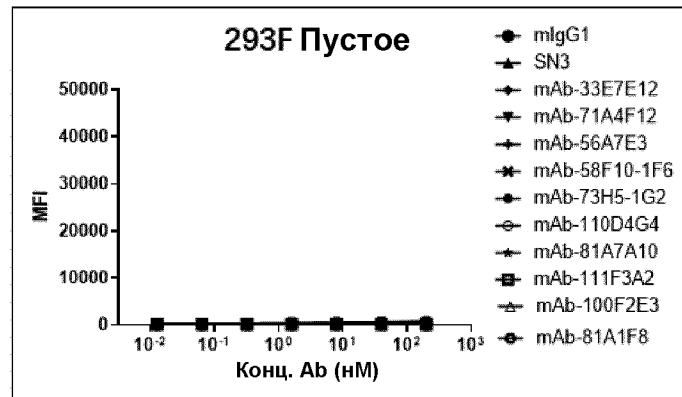
72. Способ по п. 69, где млекопитающее представляет собой субъекта-человека.

73. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение антитела против CD24 или его антигенсвязывающего фрагмента, который связывается только с гликозилированным или сиалированным CD24, предпочтительно связывается только с сиаловой кислотой CD24.

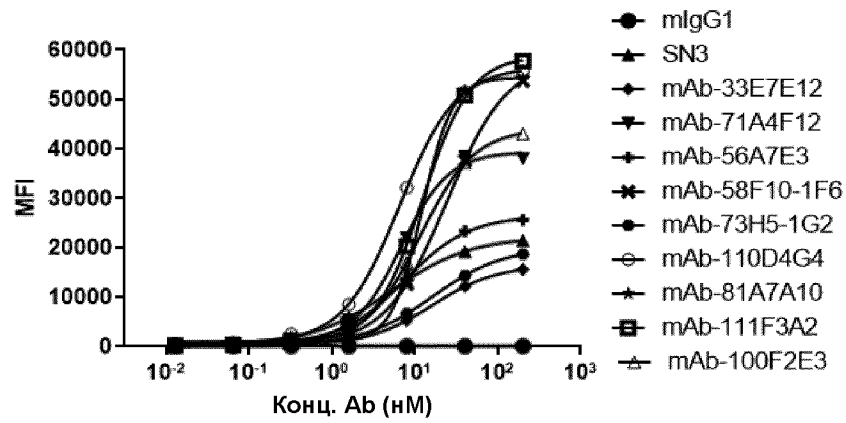
74. Способ по п. 73, в котором антитело против CD24 или его антигенсвязывающий фрагмент селективно связывается с CD24, экспрессируемым в раковой клетке, по сравнению с нераковой клеткой.

75. Способ по п. 74, в котором антитело против CD24 или его антигенсвязывающий фрагмент конкурирует за тот же самый эпитоп с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где данная LCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 107, 184, 185, 186, 187 и 188, LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108, и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или содержащим переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100 соответственно.

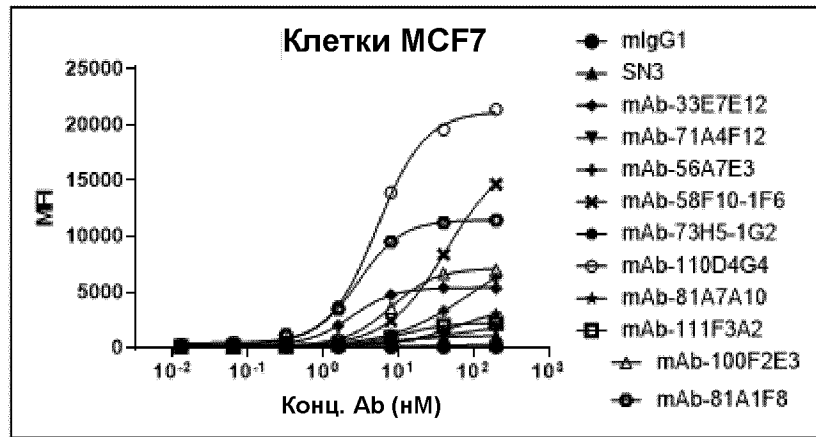
76. Способ по п. 75, в котором антитело против CD24 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 105 и SEQ ID NO: 106, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где данная LCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 107, 184, 185, 186, 187 и 188, LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 108, и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37, или содержит: переменную область тяжелой цепи, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3 с SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97, соответственно; и переменную область легкой цепи, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3 с SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99 и SEQ ID NO: 100 соответственно.



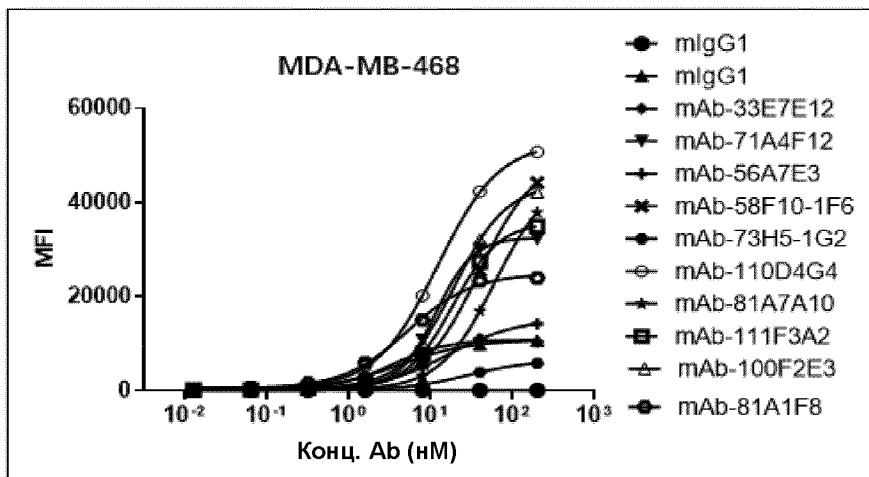
ФИГ. 1А



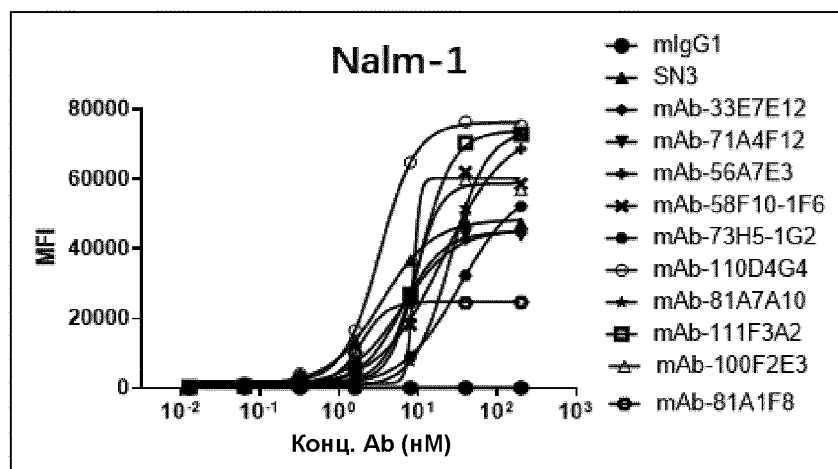
ФИГ. 1Б



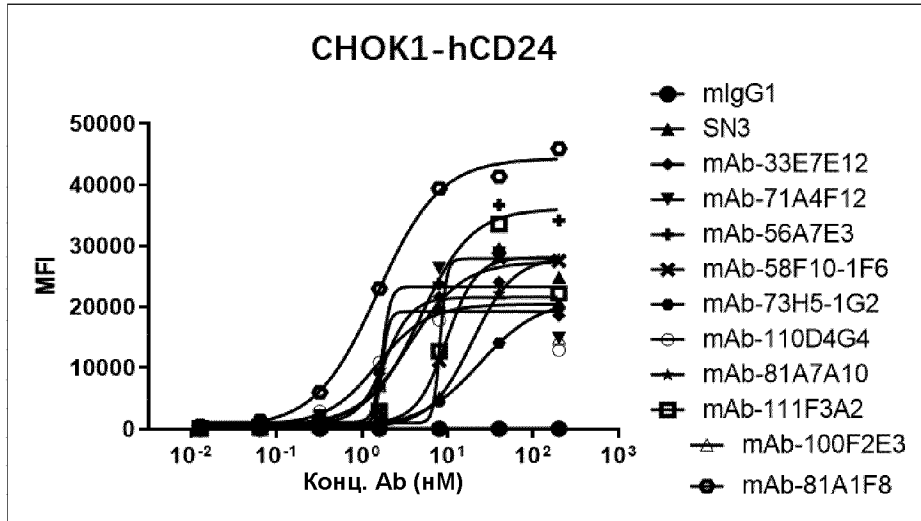
ФИГ. 1В



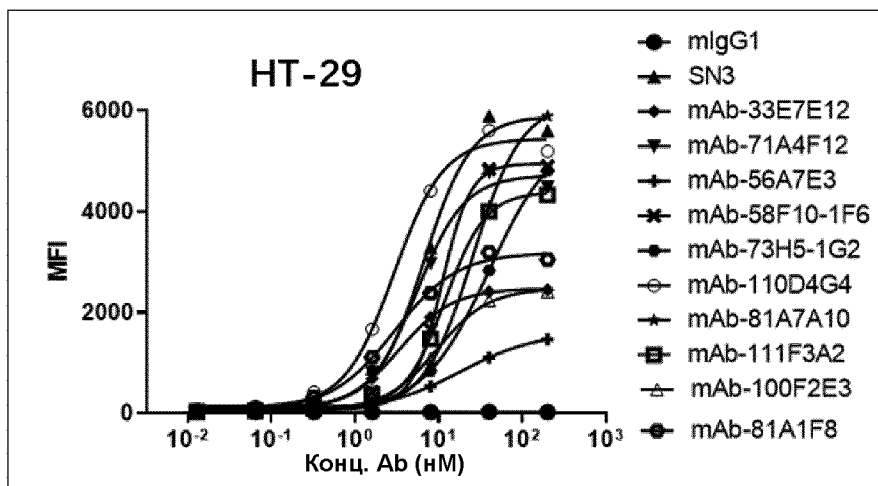
ФИГ. 1Г



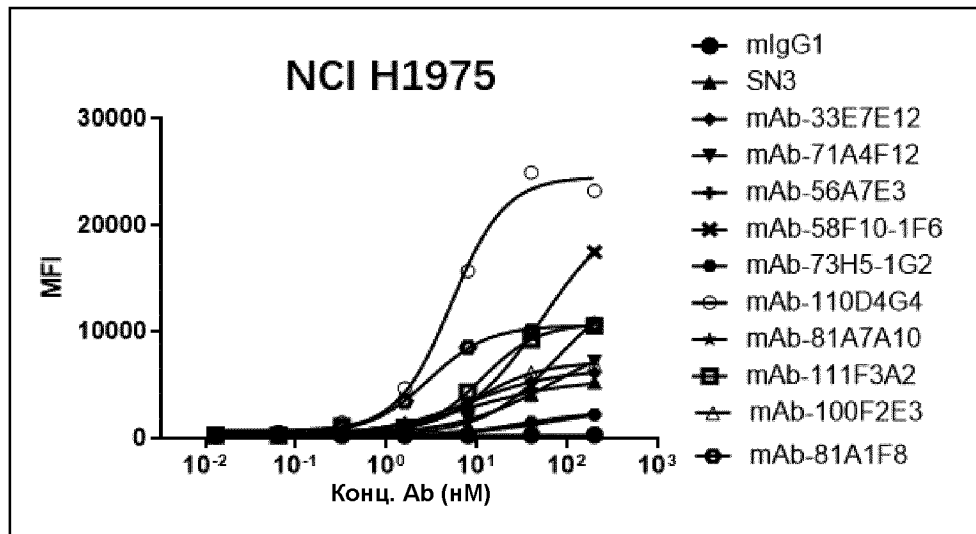
ФИГ. 1Д



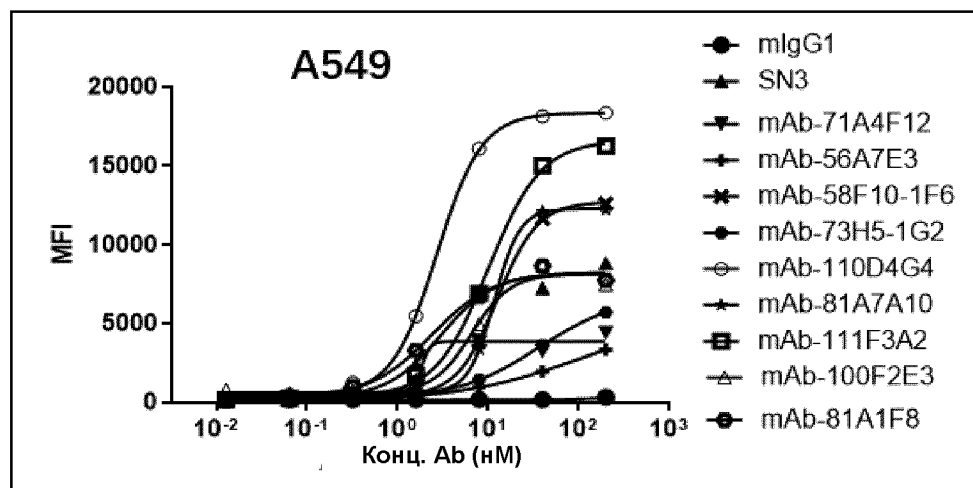
ФИГ. 1Е



ФИГ. 1Ж

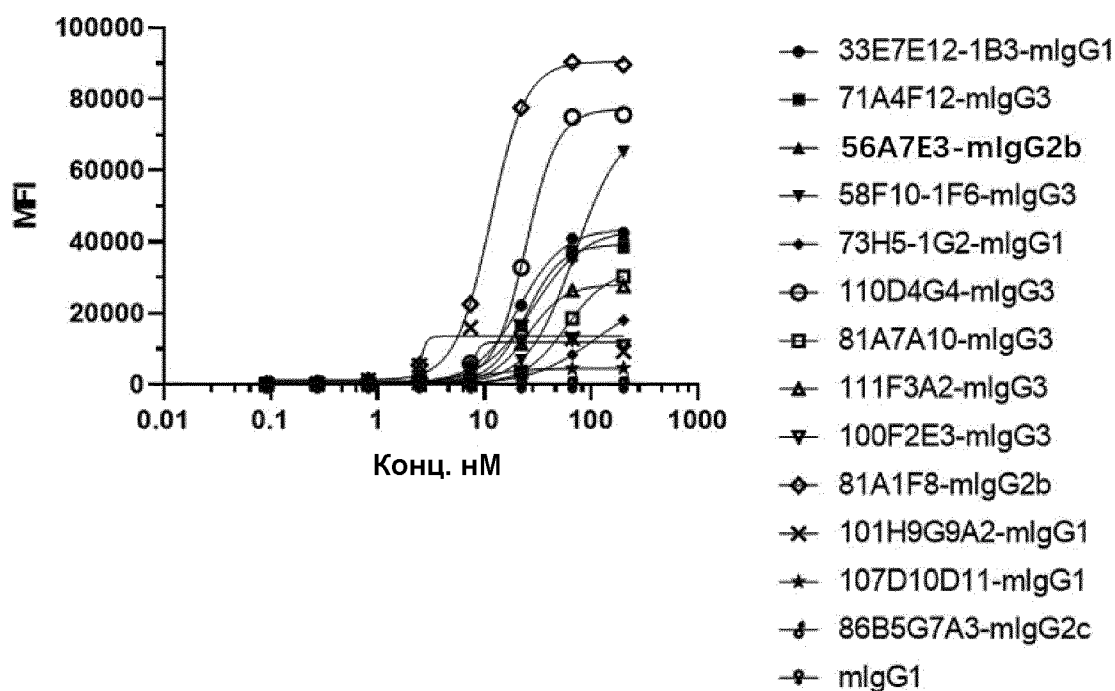


ФИГ. 13



ФИГ. 1И

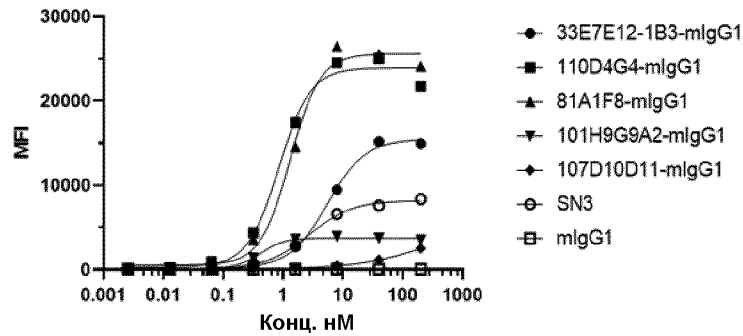
Аффинность связывания mAb против CD24 на Nalm6



mAb	EC50	Максимальная MFI
33E7E11-mIgG1	21.5	42537
71A4F12-mIgG3	24.88	38480
56A7E3-mIgG2b	29.18	42040
58F10-1F6-mIgG3	70.58	65208
73H5-1G2-mIgG1	108.1	18012
110D4G4-mIgG3	24.65	75626
81A7A10-mIgG3	58.45	30282
111F3A2-mIgG3	25.66	27558
100F2E3-mIgG3	7.84	10849
81A1F8-mIgG2b	11.41	89612
101H9G9A2-mIgG1	2.554	9310
107D10D11-mIgG1	8.808	4585
86B5G7A3-mIgG2c	83.04	36.3
mIgG1	Нестабильное	26.5

ФИГ. 1Й

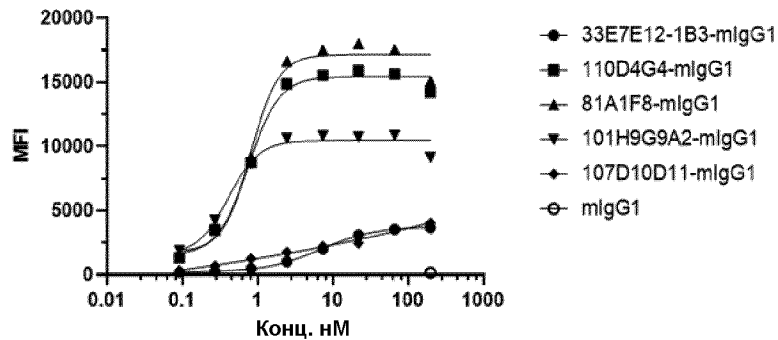
Аффинность связывания mAb против CD24 на SU-DHL6



	33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1	SN3
EC50	5.552	0.8547	1.319	0.4228	383.3	2.738

ФИГ. 1К

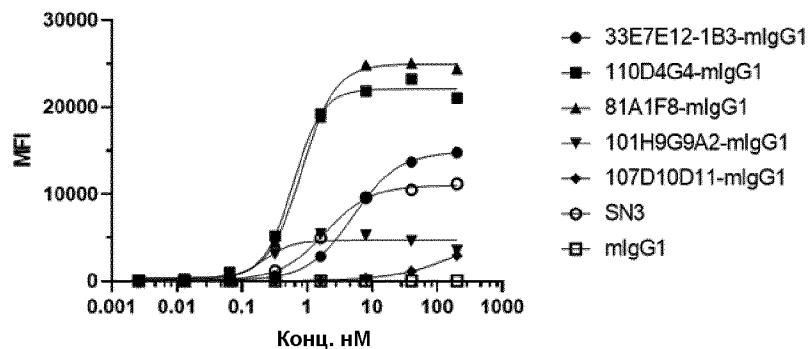
Аффинность связывания mAb против CD24 на человеческой В-клетке



	33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1
EC50	6.919	0.7594	0.8161	0.4125	4.547e+026

ФИГ. 1Л

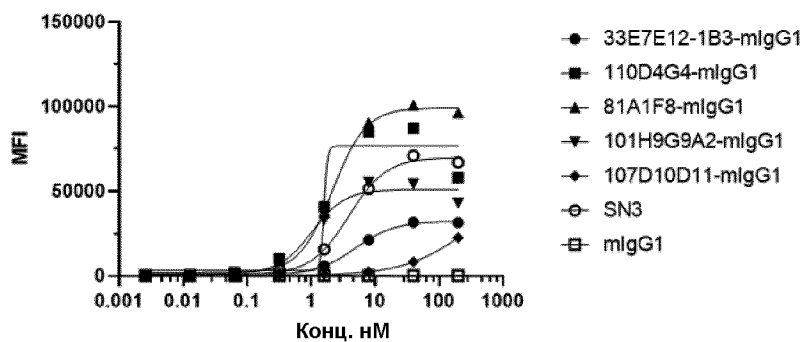
Аффинность связывания mAb против CD24 на DoHH2



	33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1	SN3
EC50	5.076	0.6095	0.8186	0.2185	200.5	1.872

ФИГ. 1М

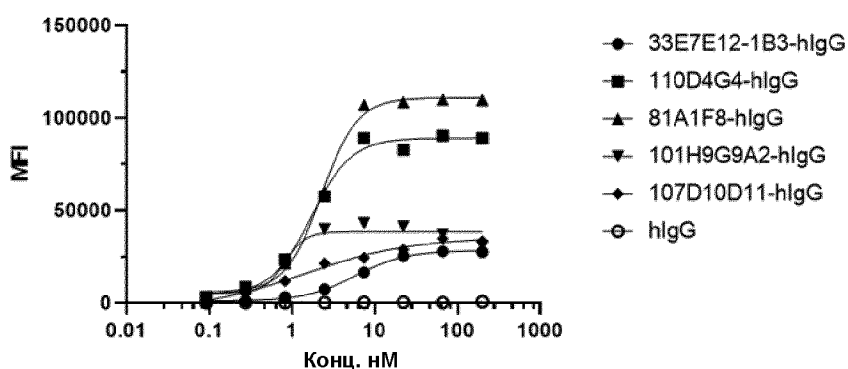
Аффинность связывания mAb против CD24 на HT29



	33E7E12-1B3-mIgG1	110D4G4-mIgG1	81A1F8-mIgG1	101H9G9A2-mIgG1	107D10D11-mIgG1	SN3
EC50	4.927	1.596	2.170	1.036	281.0	3.886

ФИГ. 1H

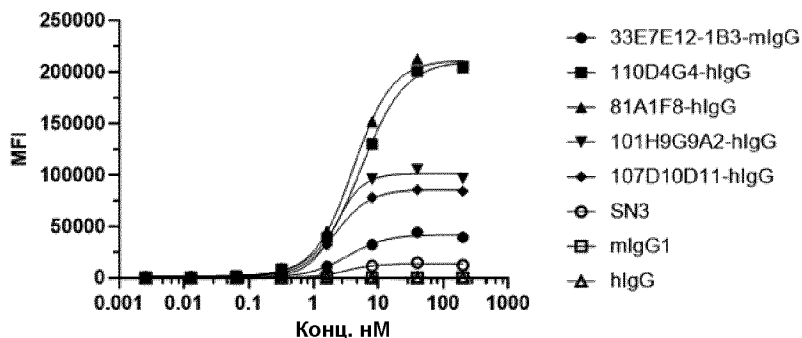
Аффинность связывания mAb против CD24 на Huh7



	33E7E12-1B3-hIgG	110D4G4-hIgG	81A1F8-hIgG	101H9G9A2-hIgG	107D10D11-hIgG
EC50	5.799	1.718	2.270	0.8146	1.388

ФИГ. 1O

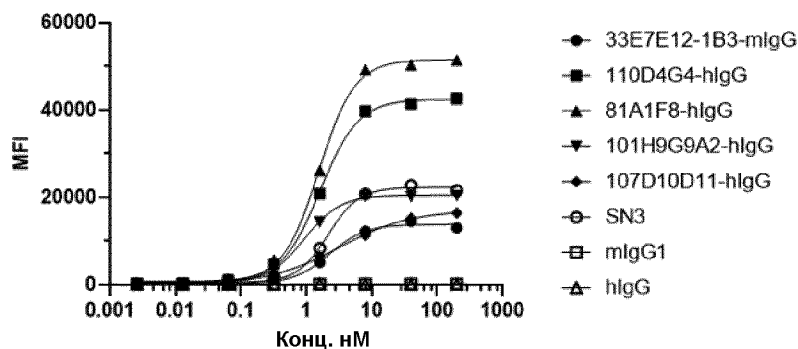
Аффинность связывания mAb против CD24 на MCF7



	33E7E12-1B3-mIgG	110D4G4-hIgG	81A1F8-hIgG	101H9G9A2-hIgG	107D10D11-hIgG	SN3
EC50	3.332	5.380	4.095	2.197	2.192	3.178

ФИГ. 1П

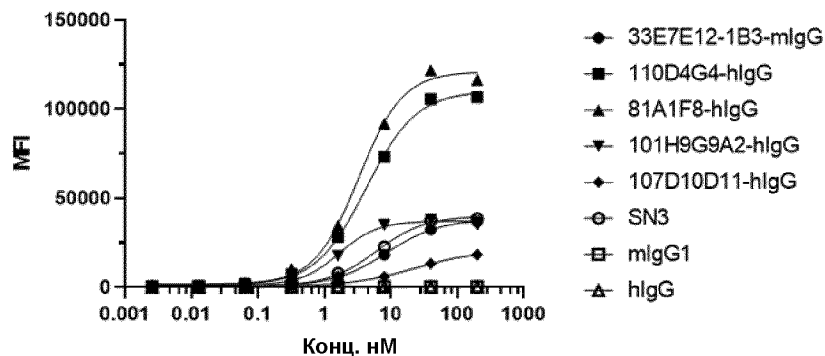
Аффинность связывания mAb против CD24 на A549



	33E7E12-1B3-mIgG	110D4G4-hIgG	81A1F8-hIgG	101H9G9A2-hIgG	107D10D11-hIgG	SN3
EC50	2.279	1.621	1.555	0.9256	3.179	2.150

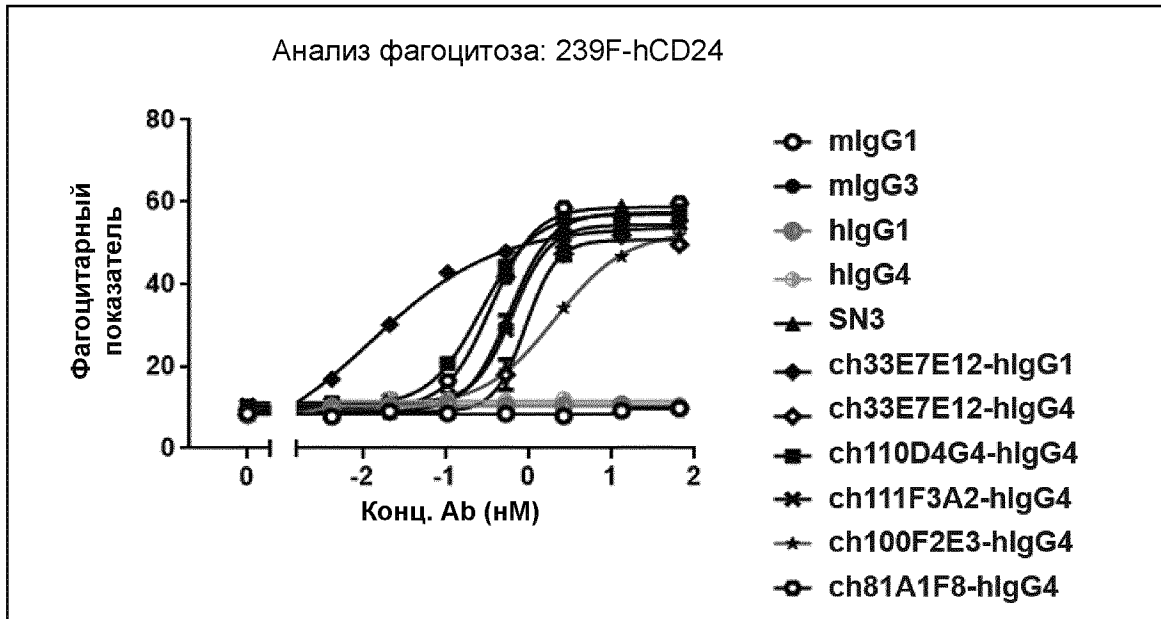
ФИГ. 1Р

Аффинность связывания mAb против CD24 на NCI-H1975

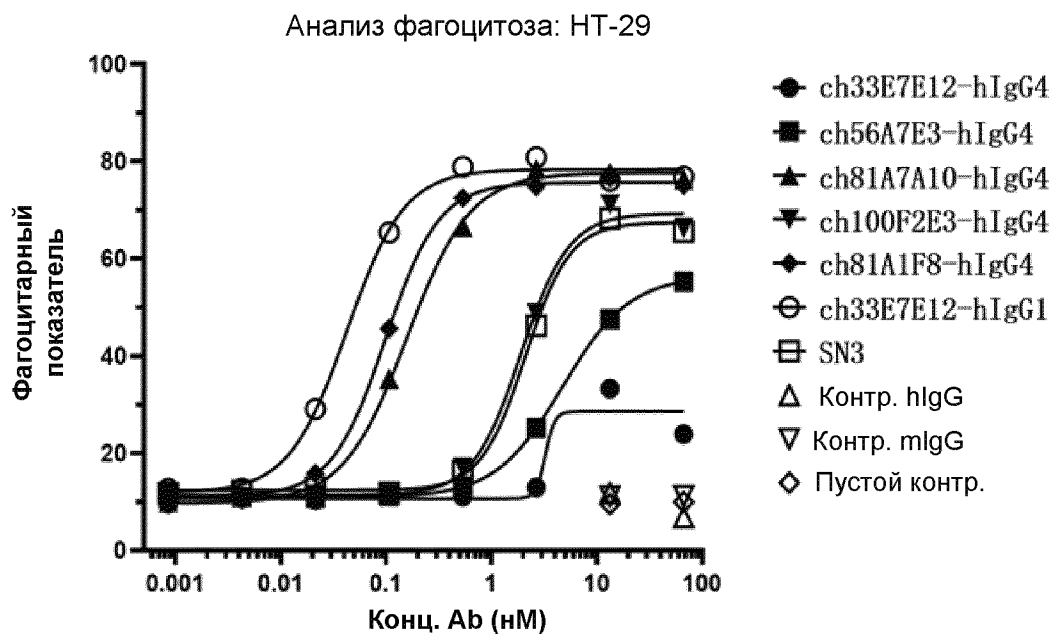


	33E7E12-1B3-mIgG	110D4G4-hIgG	81A1F8-hIgG	101H9G9A2-hIgG	107D10D11-hIgG	SN3
EC50	8.559	4.250	3.279	1.673	22.96	6.056

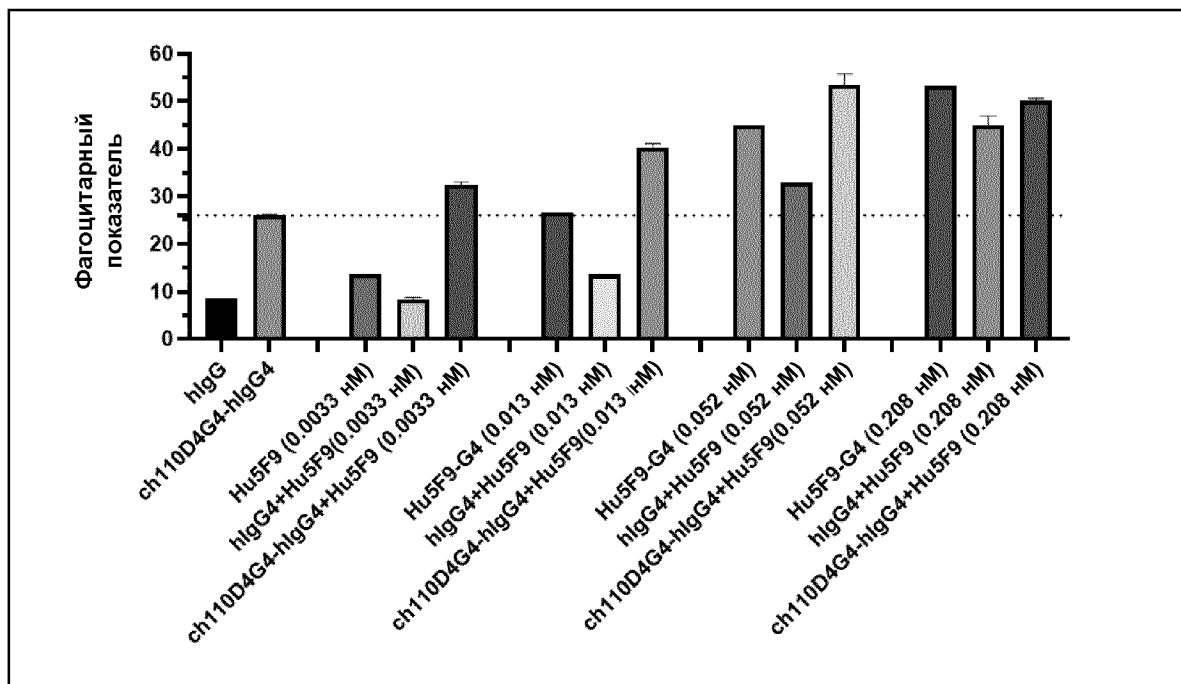
ФИГ. 1С



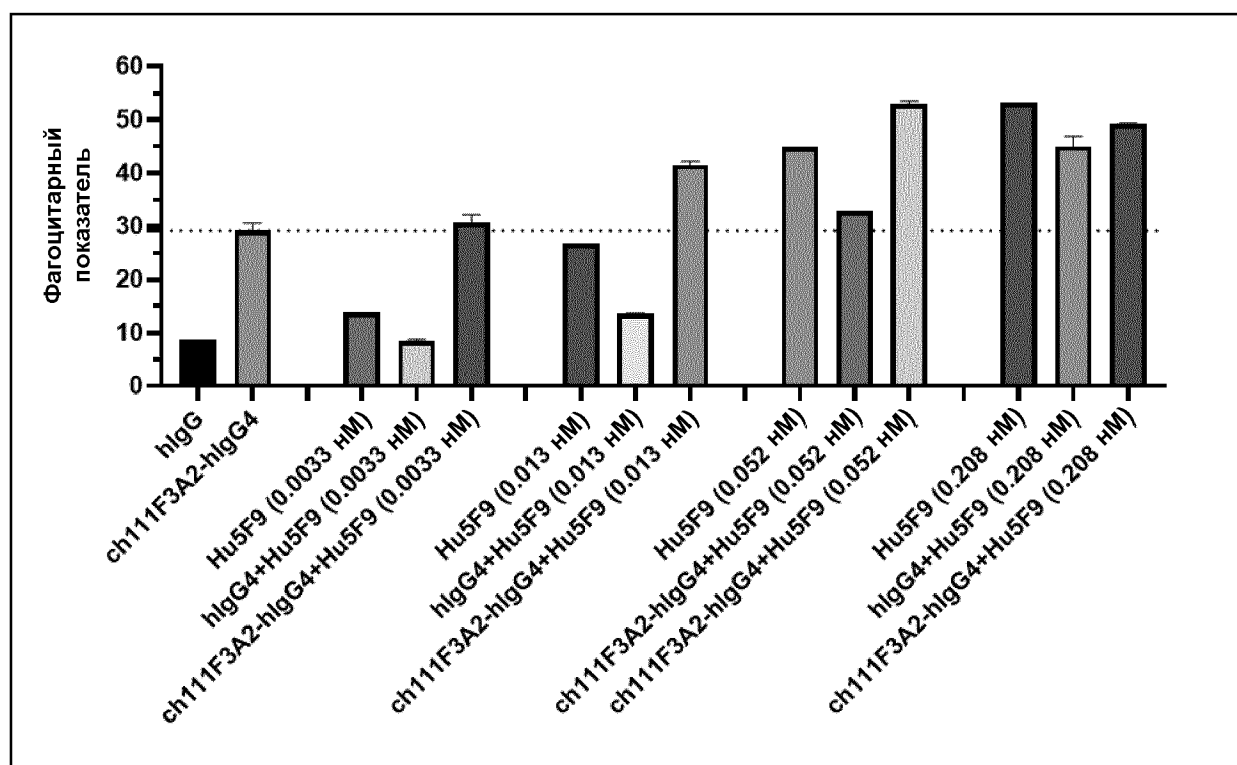
ФИГ. 2А



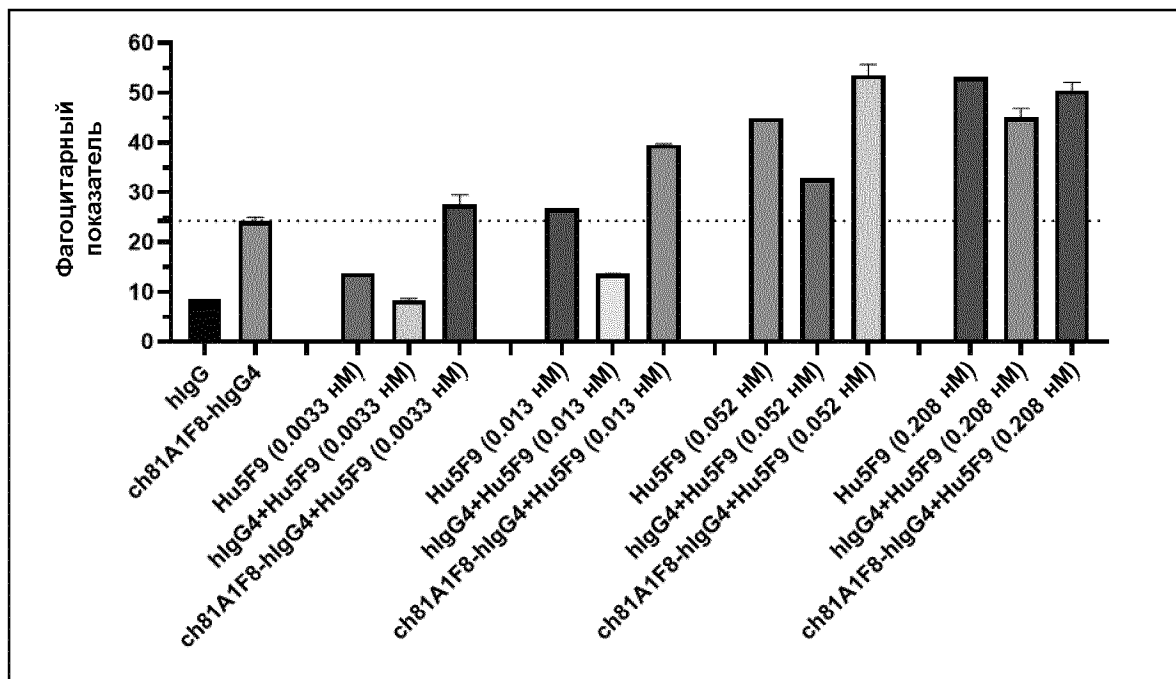
ФИГ. 2Б



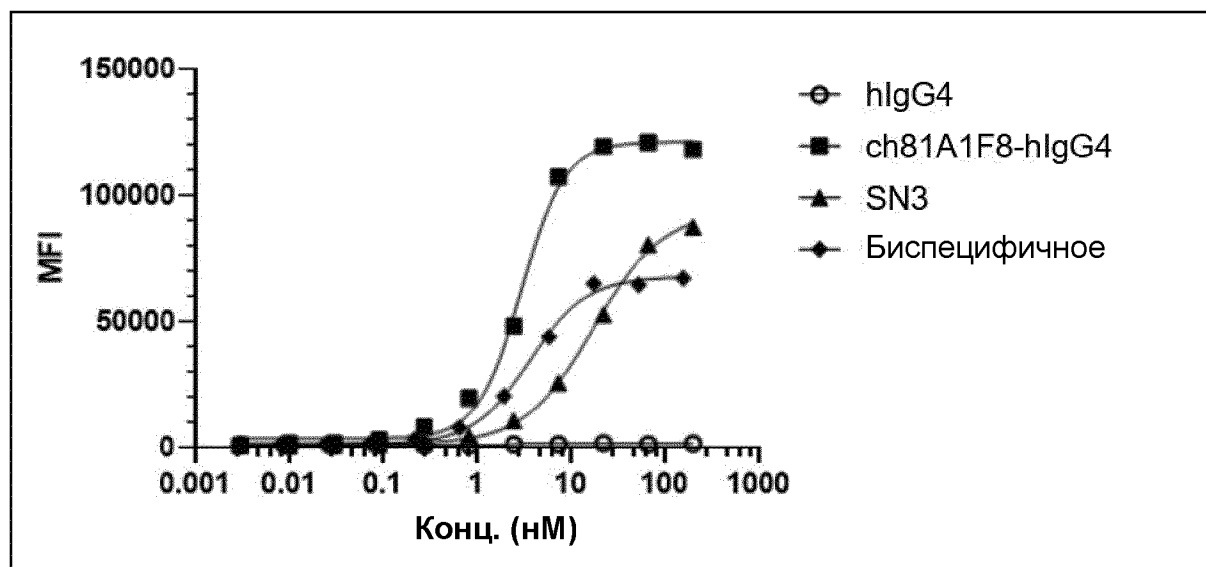
ФИГ. 3А



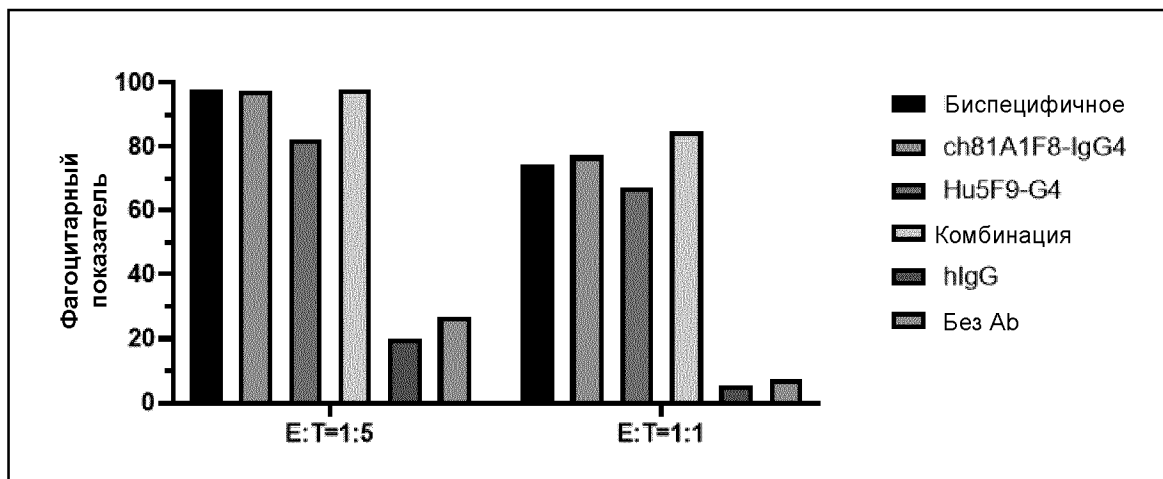
ФИГ. 3Б



ФИГ. 3В

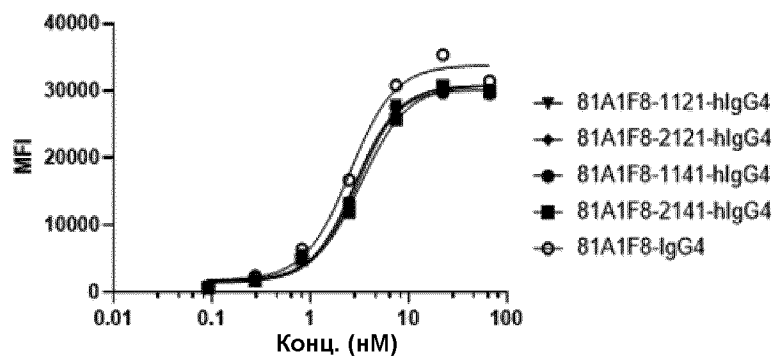


ФИГ. 4А



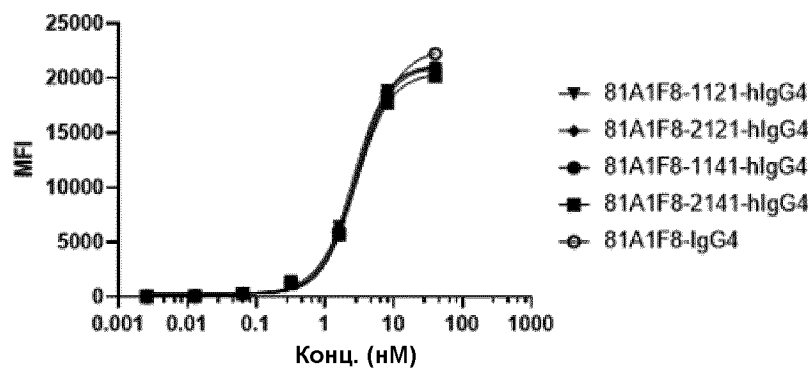
ФИГ. 4Б

Аффинность связывания гуманизированных mAb против CD24 на HT29



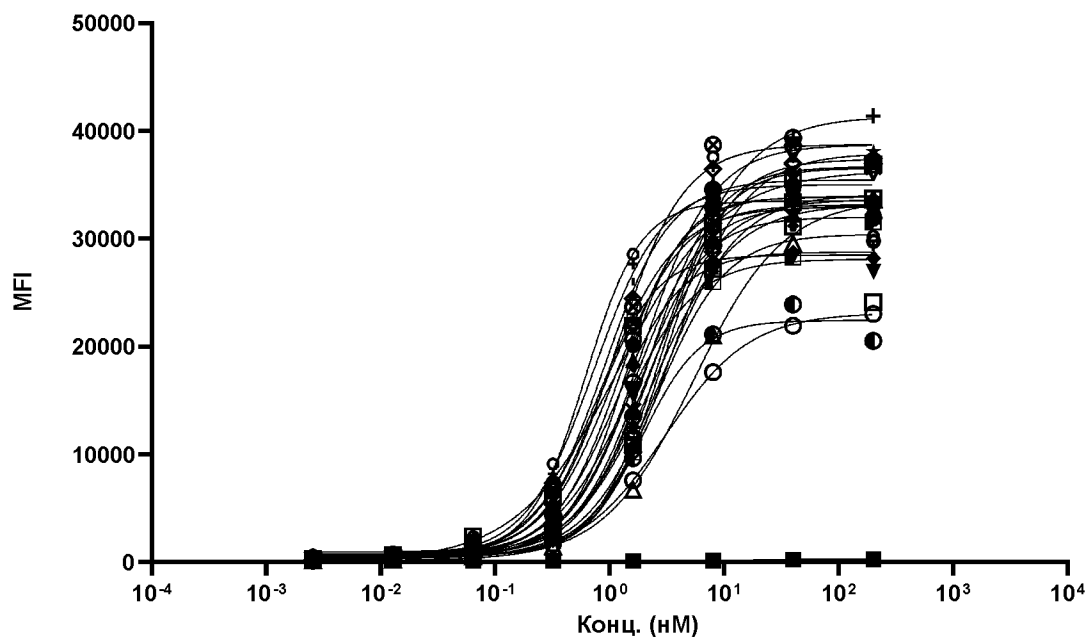
ФИГ. 5А

Аффинность связывания гуманизированных mAb против CD24 на Nalm6



ФИГ. 5Б

Аффинность связывания гуманизированных 101H9G9A2 на HT29



- | | |
|-------------------------|-----------------------|
| ● 101H9G9A2-mVH-mVL | ⊕ 101H9G9A2-hVH3-hVL1 |
| ■ 101H9G9A2-mVH-mVL-V1 | ⊖ 101H9G9A2-hVH3-hVL2 |
| ▲ 101H9G9A2-mVH-mVL-V2 | ⊗ 101H9G9A2-hVH3-hVL3 |
| ▼ 101H9G9A2-mVH-mVL-V3 | ⊠ 101H9G9A2-hVH3-hVL4 |
| ◆ 101H9G9A2-mVH--mVL-V4 | ● 101H9G9A2-hVH4-hVL1 |
| ⊖ 101H9G9A2-mVH-mVL-V5 | ⊕ 101H9G9A2-hVH4-hVL2 |
| ⊠ 101H9G9A2-hVH1-hVL1 | ♀ 101H9G9A2-hVH4-hVL3 |
| ▲ 101H9G9A2-hVH1-hVL2 | ┌ 101H9G9A2-hVH4-hVL4 |
| ▼ 101H9G9A2-hVH1-hVL3 | + 101H9G9A2-hVH5-hVL1 |
| ◇ 101H9G9A2-hVH1-hVL4 | ⊖ 101H9G9A2-hVH5-hVL2 |
| * 101H9G9A2-hVH2-hVL1 | ● 101H9G9A2-hVH5-hVL3 |
| ★ 101H9G9A2-hVH2-hVL2 | ◇ 101H9G9A2-hVH5-hVL4 |
| + 101H9G9A2-hVH2-hVL3 | ⊕ 101H9G9A2-hlgG |
| × 101H9G9A2-hVH2-hVL4 | ■ hlgG1 |

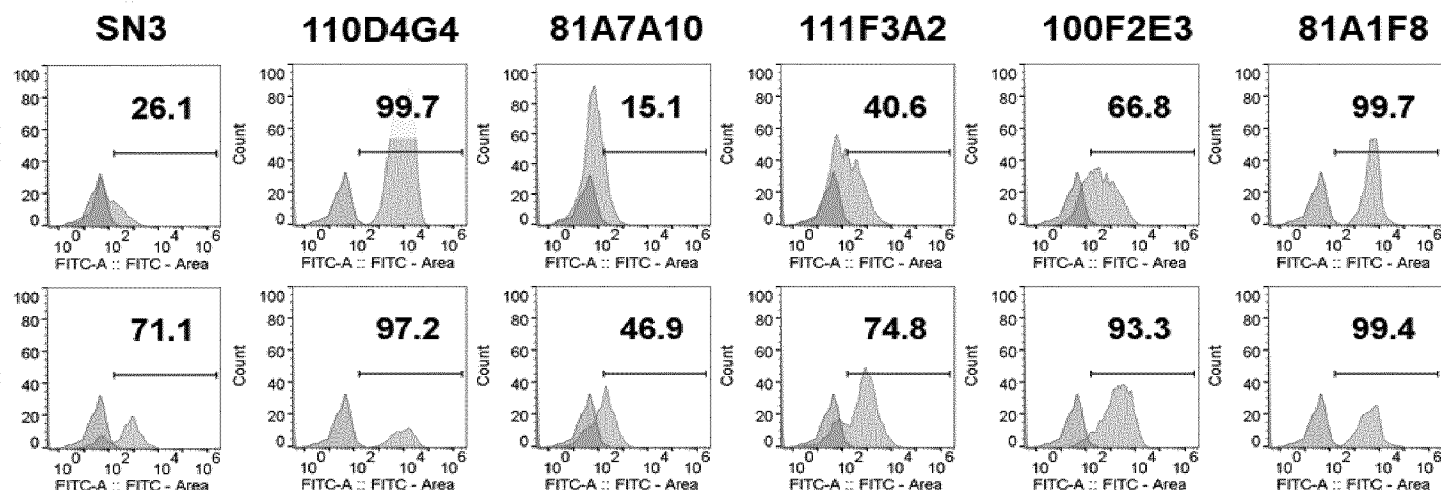
ФИГ. 5В

гуманизированные варианты	KD(M)	Кратность относительно мышинового антитела
81A1F8-VH-11/VL-11	2.04E-11	0.084647303
81A1F8-VH-21/VL-11	1.58E-11	0.065560166
81A1F8-VH-31/VL-11	2.47E-10	1.024896266
81A1F8-VH-11/VL-21	1.39E-10	0.576763485
81A1F8-VH-21/VL-21	8.19E-11	0.339834025
81A1F8-VH-31/VL-21	слишком слабая	/
81A1F8-GVH-11/VL-31	слишком слабая	/
81A1F8-VH-21/VL-31	7.12E-10	2.954356846
81A1F8-VH-31/VL-31	1.11E-09	4.605809129
81A1F8-VH-11/VL-41	6.19E-10	2.56846473
81A1F8-VH-21/VL-41	5.25E-10	2.178423237
81A1F8-VH-31/VL-41	0.0000216	89626.55602
мышинное антитело 81A1F8-G4	2.41E-10	

ФИГ. 5Г

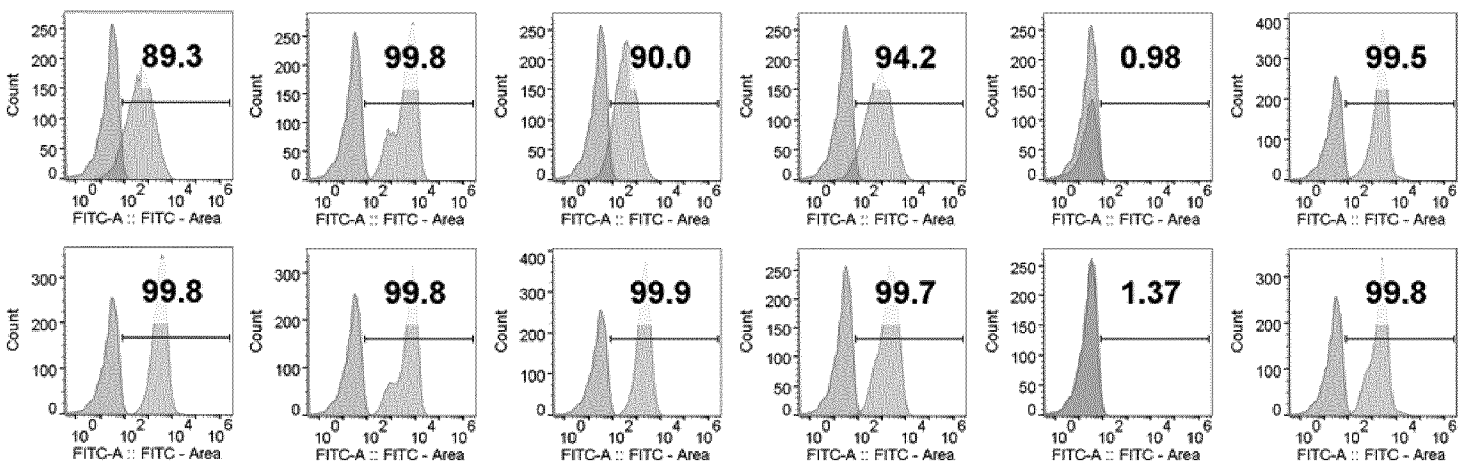
MCF7-hCD24

Распеленное пероминдазой А
Контр.



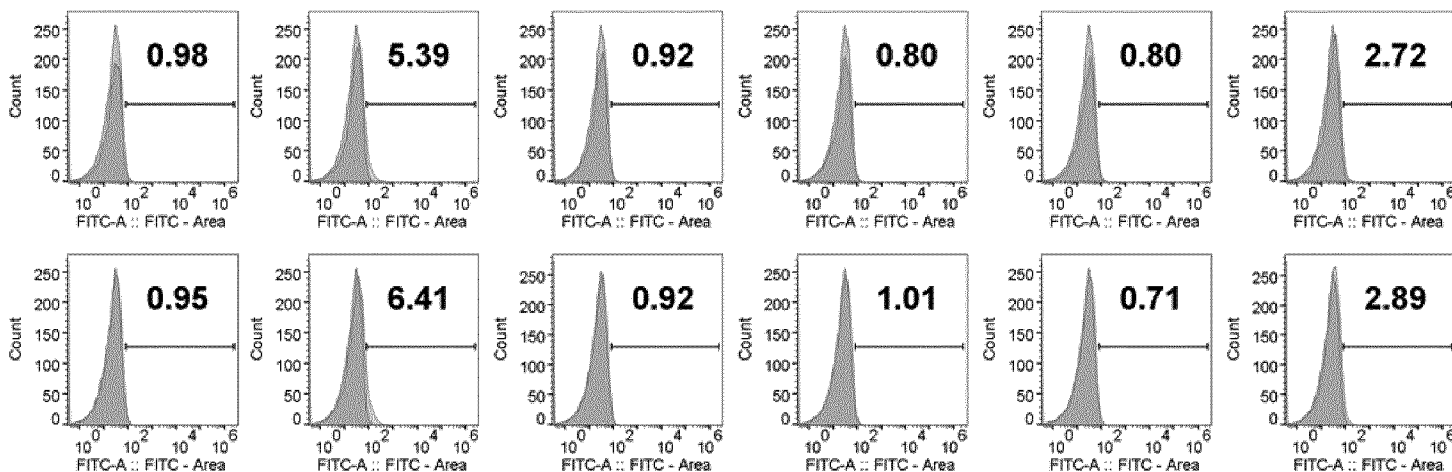
293T-hCD24

Распеленное пероминдазой А
Контр.



HCT116

Распеленное пероминдазой А
Контр.



Фиг. 6А

HT-29

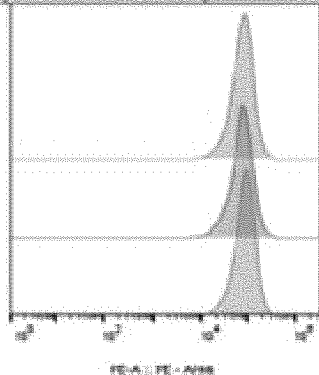
Контр. - PBS

Дегликозилирующая смесь II
(NEB, P6044S)

α 2-3,6,8,9-нейраминидаза A
(NEB, P0722L)

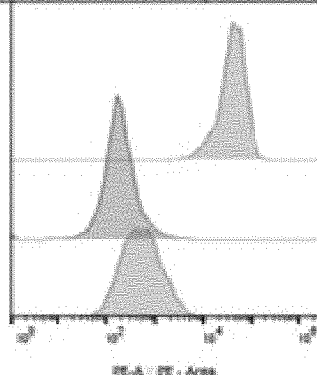
81A1F8

Назв. образца	Средн.: PE-A
A03 Well - A03.fcs	79358
A02 Well - A02.fcs	77491
A01 Well - A01.fcs	88816



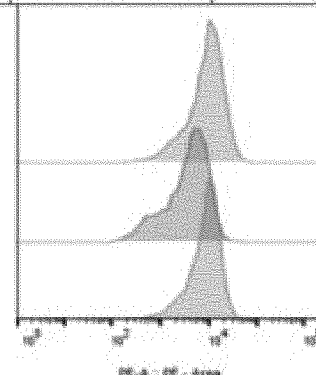
101H9G9A2

Назв. образца	Средн.: PE-A
B03 Well - B03.fcs	43686
B02 Well - B02.fcs	259
B01 Well - B01.fcs	796



107D10D11

Назв. образца	Средн.: PE-A
C03 Well - C03.fcs	10739
C02 Well - C02.fcs	4851
C01 Well - C01.fcs	9698



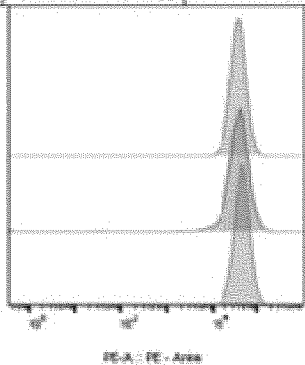
Nalm6

Контр. - PBS

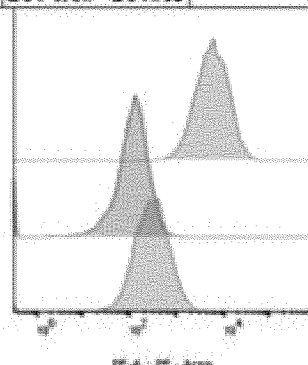
Дегликозилирующая смесь II
(NEB, P6044S)

α 2-3,6,8,9-нейраминидаза A
(NEB, P0722L)

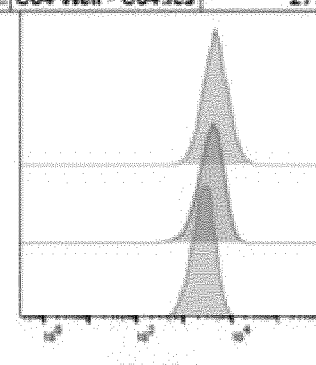
Назв. образца	Средн.: PE-A
A06 Well - A06.fcs	38992
A05 Well - A05.fcs	40935
A04 Well - A04.fcs	47947



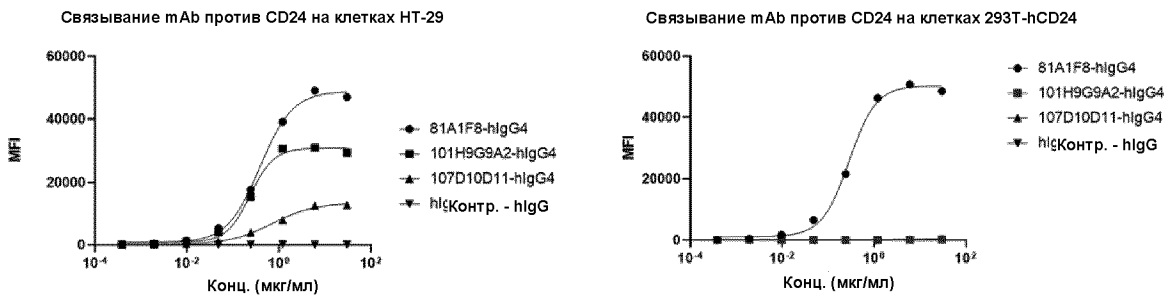
Назв. образца	Средн.: PE-A
B06 Well - B06.fcs	6948
B05 Well - B05.fcs	149
B04 Well - B04.fcs	408



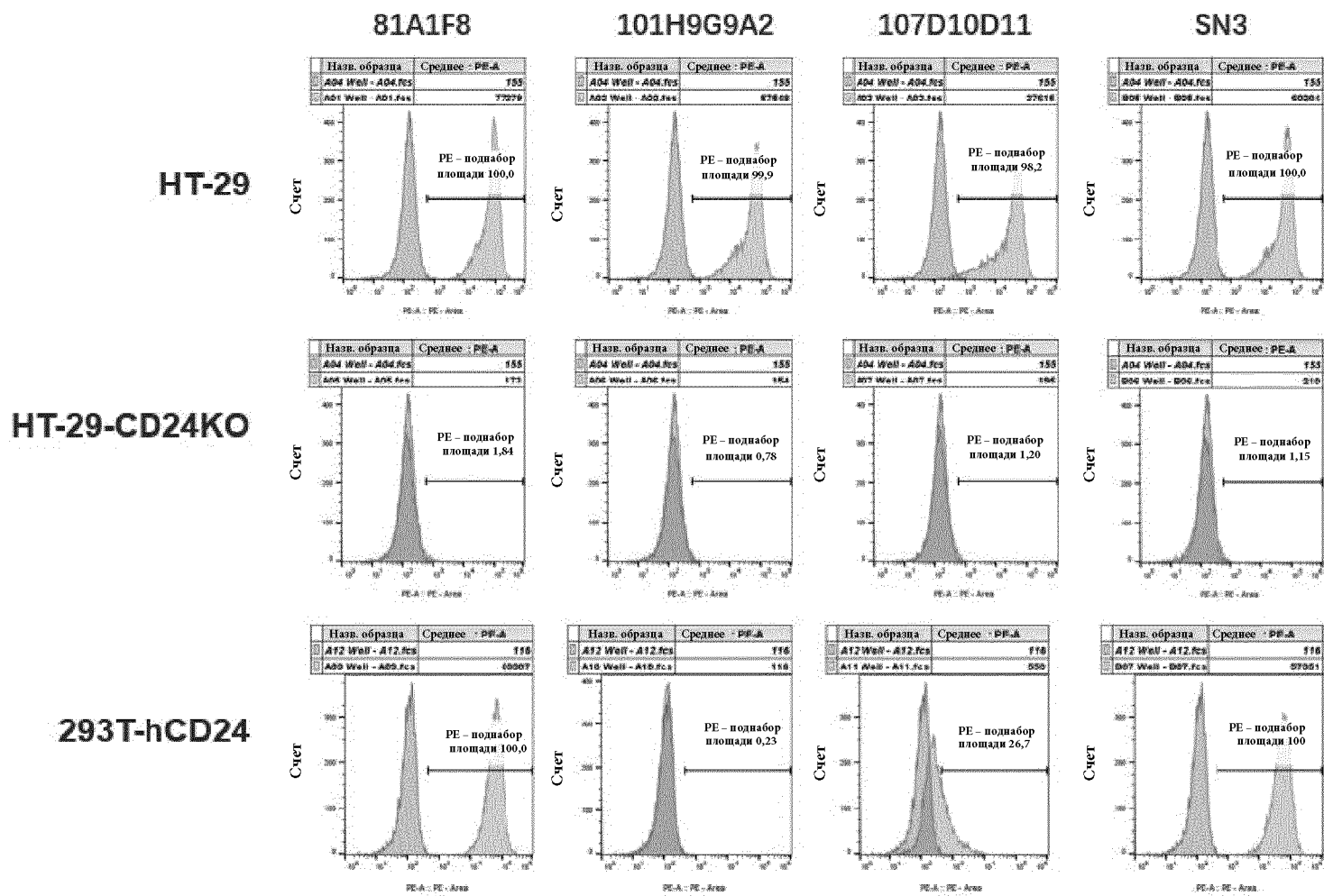
Назв. образца	Средн.: PE-A
C06 Well - C06.fcs	5143
C05 Well - C05.fcs	4062
C04 Well - C04.fcs	2775



Фиг. 6Б



ФИГ. 6В



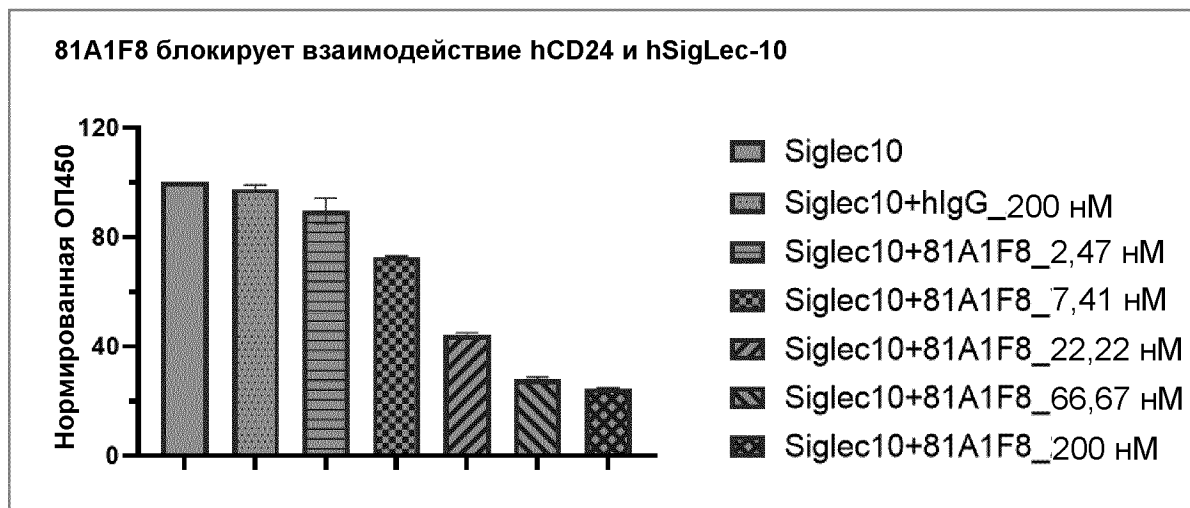
Фиг. 6Г

Запись	Кинетическая модель	Иммобилизованный лиганд	Раствор анализата 1	Chi ² кинетики (RU ²)	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)
1	связывание 1:1	2,5 мкг/мл hCD24- mFc-биотин	101H9G9A2	3.42E-02	2.57E+06	3.20E-03	1.24E-09
2	связывание 1:1	0,8 мкг/мл hCD24- mFc-биотин	33E7E12	4.97E-02	2.40E+05	7.40E-04	3.08E-09
3	связывание 1:1	0,8 мкг/мл hCD24- mFc-биотин	SWA11	5.35E-02	5.74E+05	1.07E-03	1.86E-09
4	связывание 1:1	0,8 мкг/мл hCD24- mFc-биотин	110D4G4	5.77E-01	5.32E+06	6.59E-04	1.24E-10
5	связывание 1:1	0,8 мкг/мл hCD24- mFc-биотин	81A1F8	8.90E-01	2.12E+06	2.01E-04	9.50E-11
6	связывание 1:1	2,5 мкг/мл hCD24- mFc-биотин	107D10D11	6.23E-01	9.10E+05	6.94E-04	7.62E-10

ФИГ. 7А

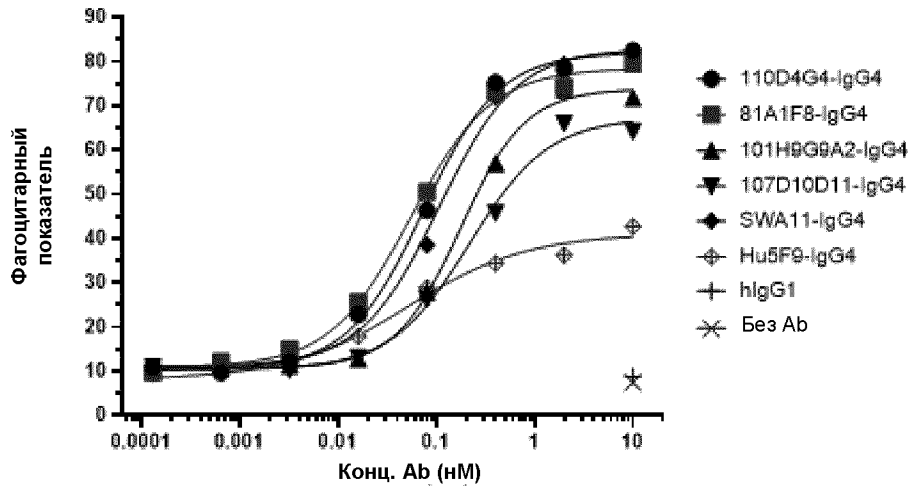
Запись	Кинетическая модель	Раствор захвата 1	Раствор аналита 1	Хи ² кинетики (RU ²)	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)
1	связывание 1:1	1 мкг/мл 81A1F8-hlgG1	hCD24-мFc-Биотин	5.80E-01	1.23E+05	2.82E-04	2.29E-09
2	связывание 1:1	1 мкг/мл 81A1F8-1141-hlgG1	hCD24-мFc-Биотин	1.15E+00	1.06E+05	5.94E-04	5.63E-09
3	связывание 1:1	1 мкг/мл 81A1F8-2141-hlgG1	hCD24-мFc-Биотин	3.27E-01	1.22E+05	5.45E-04	4.48E-09
4	связывание 1:1	1 мкг/мл 81A1F8-hlgG4	hCD24-мFc-Биотин	7.67E-01	1.43E+05	3.20E-04	2.23E-09
5	связывание 1:1	1 мкг/мл 81A1F8-1141-hlgG4	hCD24-мFc-Биотин	2.51E-01	1.13E+05	6.22E-04	5.52E-09
6	связывание 1:1	1 мкг/мл 81A1F8-2141-hlgG4	hCD24-мFc-Биотин	3.70E-01	1.38E+05	5.47E-04	3.97E-09

ФИГ. 7Б



ФИГ. 8

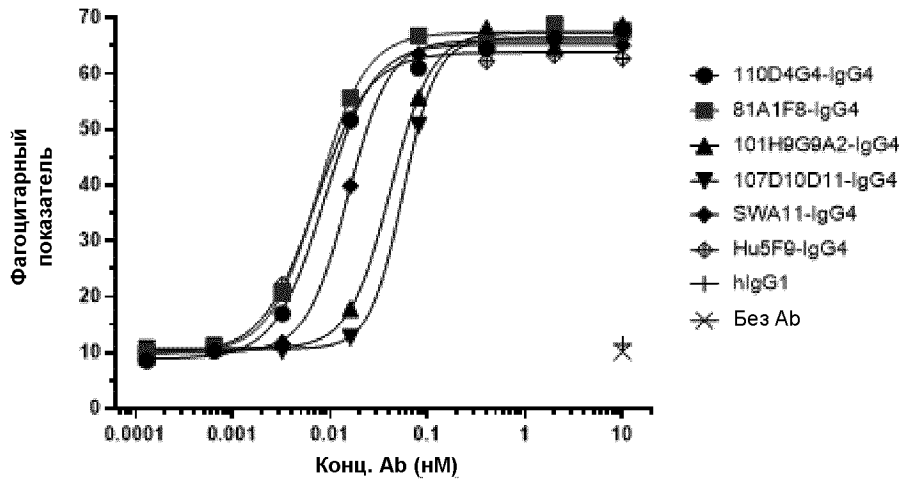
тАb против CD24 индуцируют фагоцитоз клеток HT-29



	110D4G4-IgG4	81A1F8-IgG4	101H9G9A2-IgG4	107D10D11-IgG4	SWA11-IgG4	Hu5F9-IgG4	hlgG1	× Без Ab
EC50	0.07330	0.05447	0.1755	0.2164	0.1057	0.05138		

ФИГ. 9А

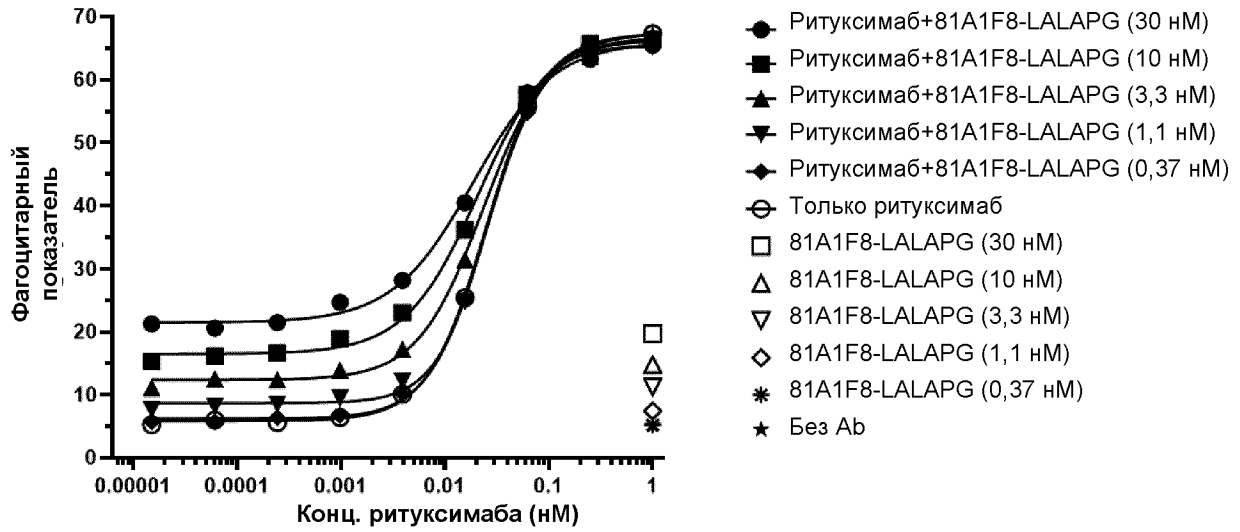
тАb против CD24 индуцируют фагоцитоз клеток Nalm-6



	110D4G4-IgG4	81A1F8-IgG4	101H9G9A2-IgG4	107D10D11-IgG4	SWA11-IgG4	Hu5F9-IgG4	hlgG1	× Без Ab
EC50	0.008585	0.007403	0.04114	0.05554	0.01509	0.007031		

ФИГ. 9Б

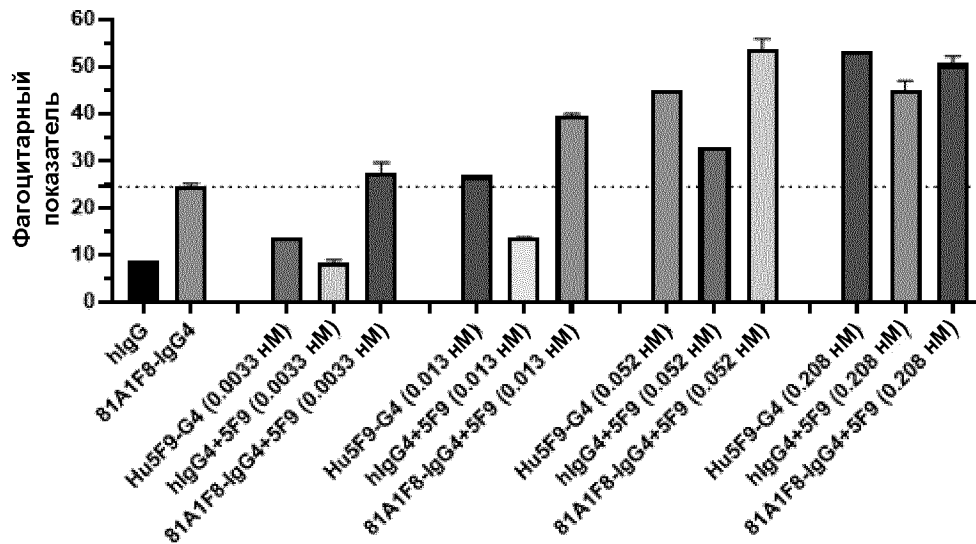
81A1F8 усиливает индуцированный ритуксимабом ADCP на клетках SU-DHL-6



	Rit A1FA1F8-LALAPG (30 нМ)	ritu A1FA1F8-LALAPG (10 нМ)	itu A1FA1F8-LALAPG (3,3 нМ)	itu A1FA1F8-LALAPG (1,1 нМ)	itu A1FA1F8-LALAPG (0,37 нМ)	Только ritu
EC50	0.0188	0.0213	0.0234	0.0259	0.02515	0.025

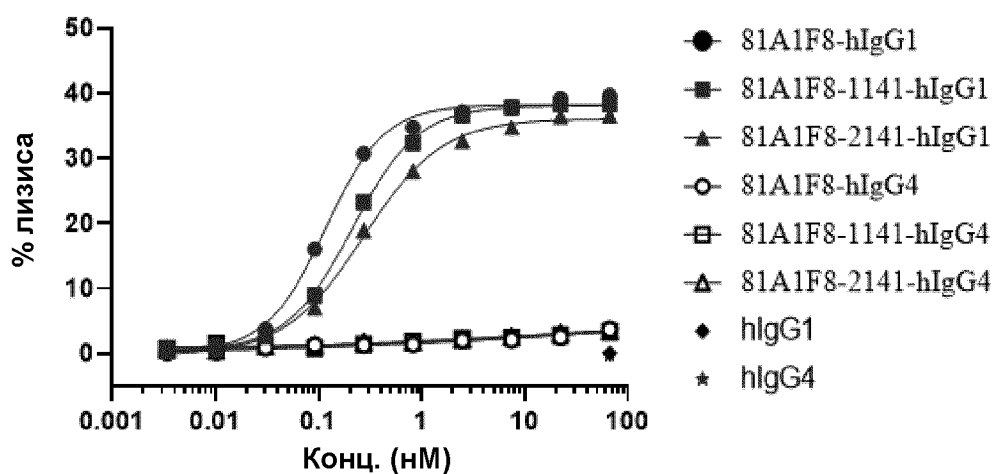
ФИГ. 9В

Комбинация 81A1F8 с антителом против CD47 усиливала фагоцитоз клеток HT29
81A1F8=0,1 нМ



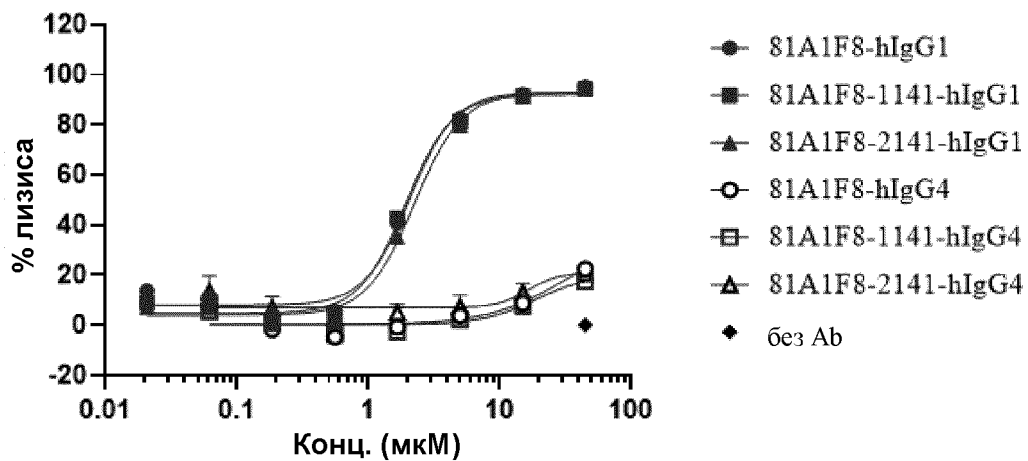
ФИГ. 9Г

ADCC, индуцированная гуманизированным
81A1F8 на клетках HT-29

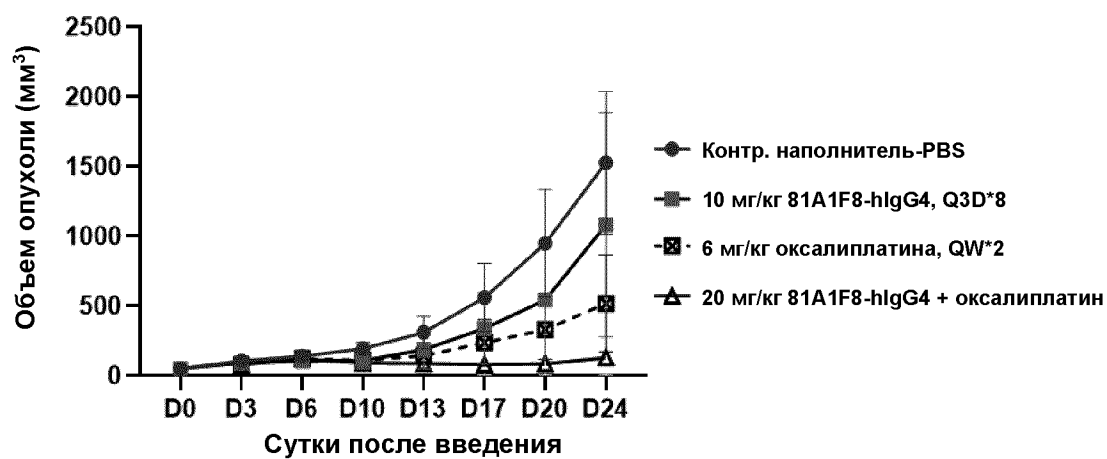


ФИГ. 10А

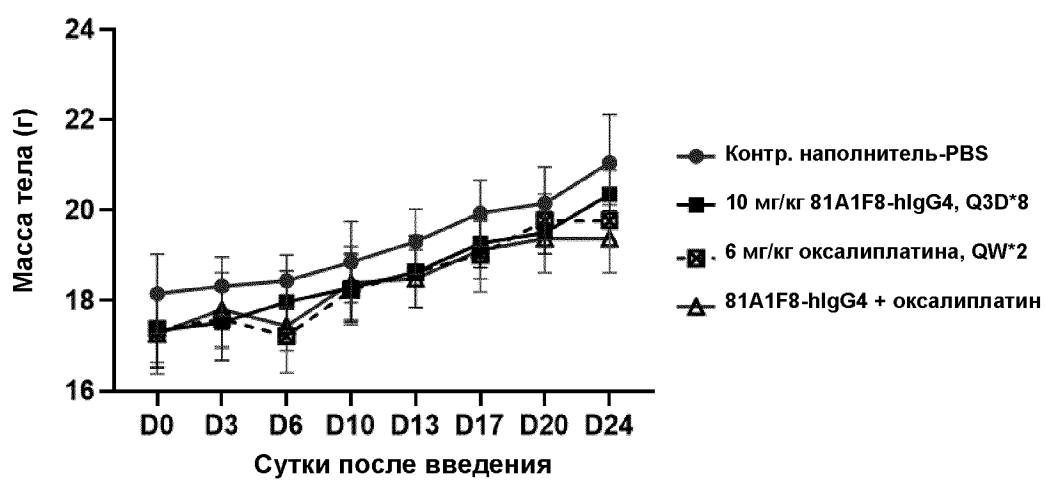
CDC, индуцированная гуманизированным
81A1F8 на hCD24-MCF7



ФИГ. 10Б



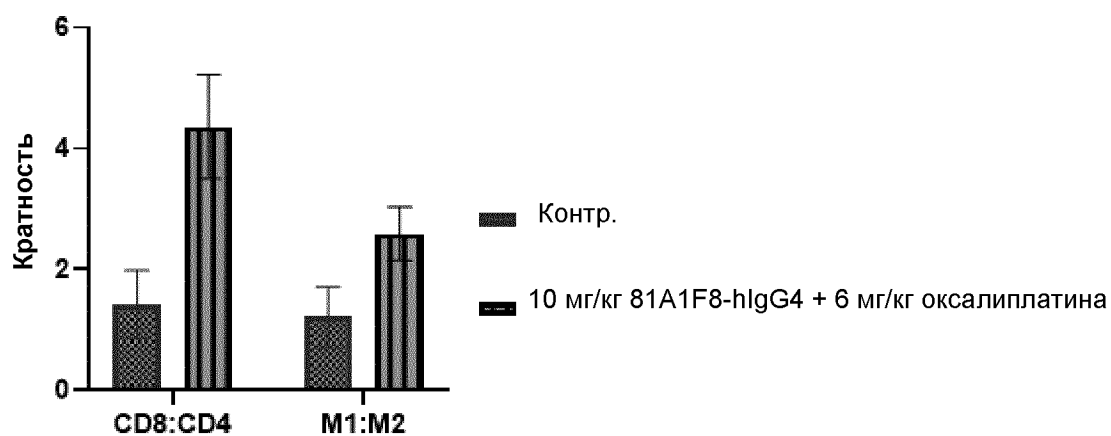
ФИГ. 11А



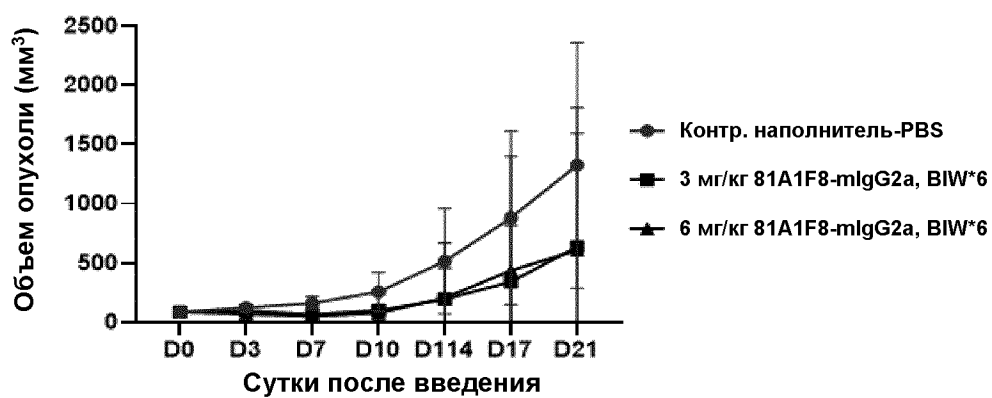
ФИГ. 11Б

Группа (6 мышей на группу)	TGI	Без опухоли
Контр. наполнитель-PBS	/	/
10 мг/кг 81A1F8-hlgG4 Q3D	33%	0
6 мг/кг оксалиплатина QW	65%	1
Оксалиплатин + 81A1F8-hlgG4	92,4%	1

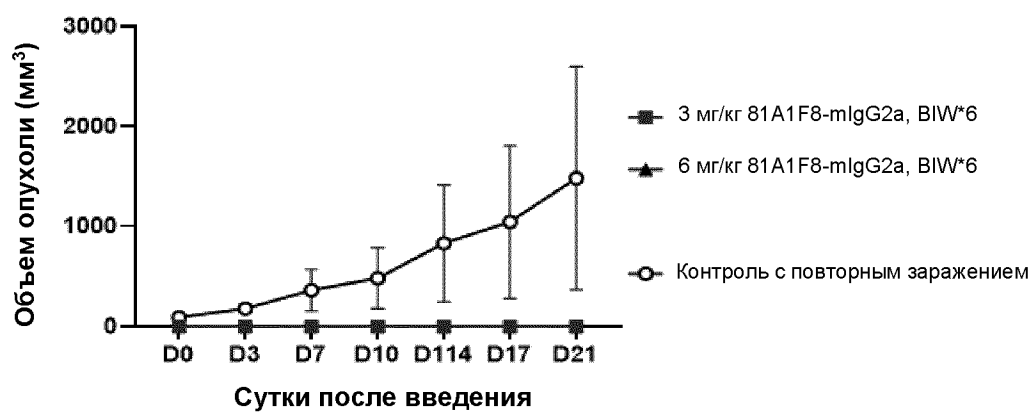
ФИГ. 11В



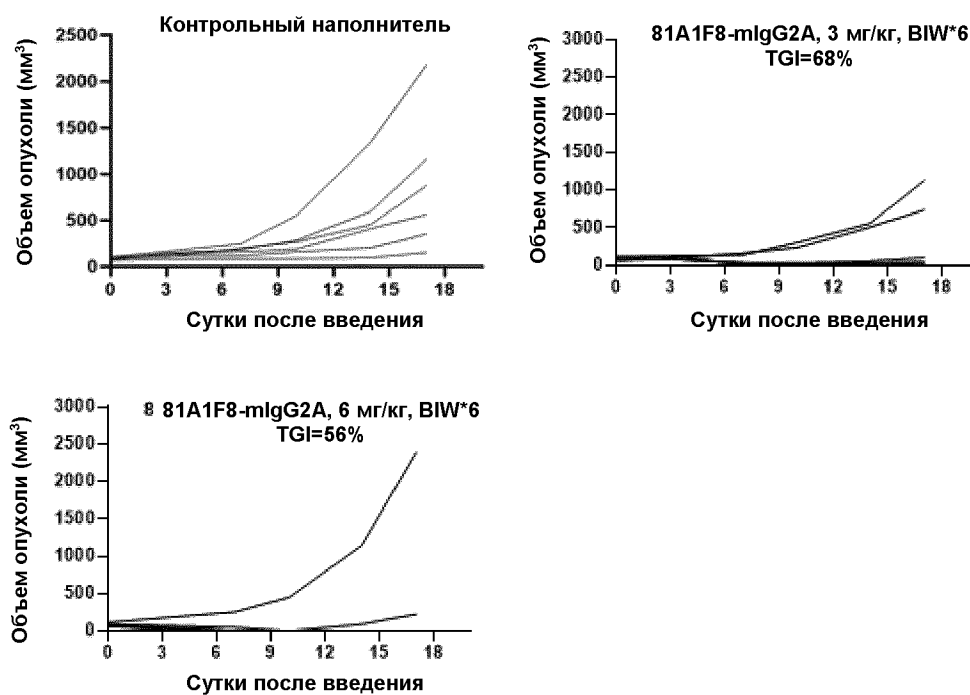
ФИГ. 11Г



ФИГ. 12А



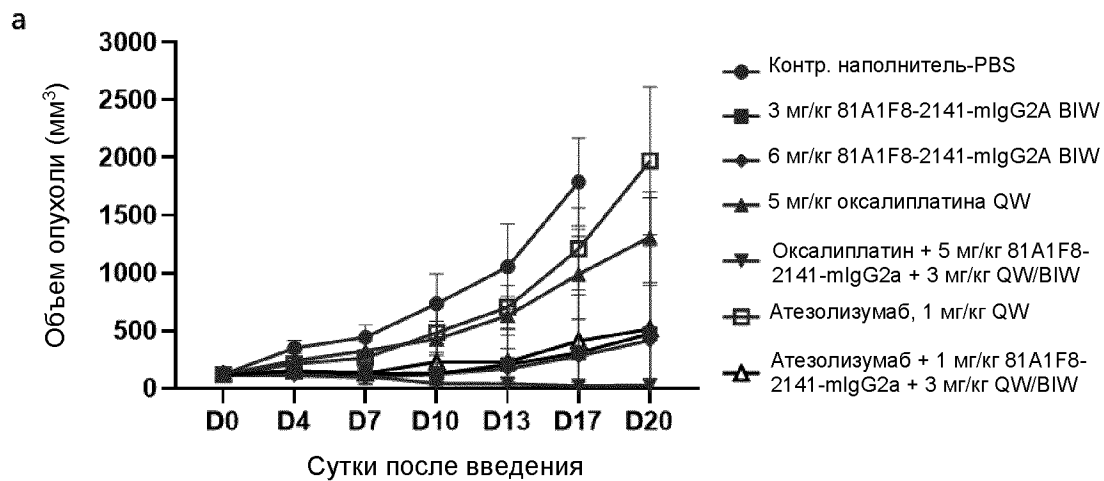
ФИГ. 12Б



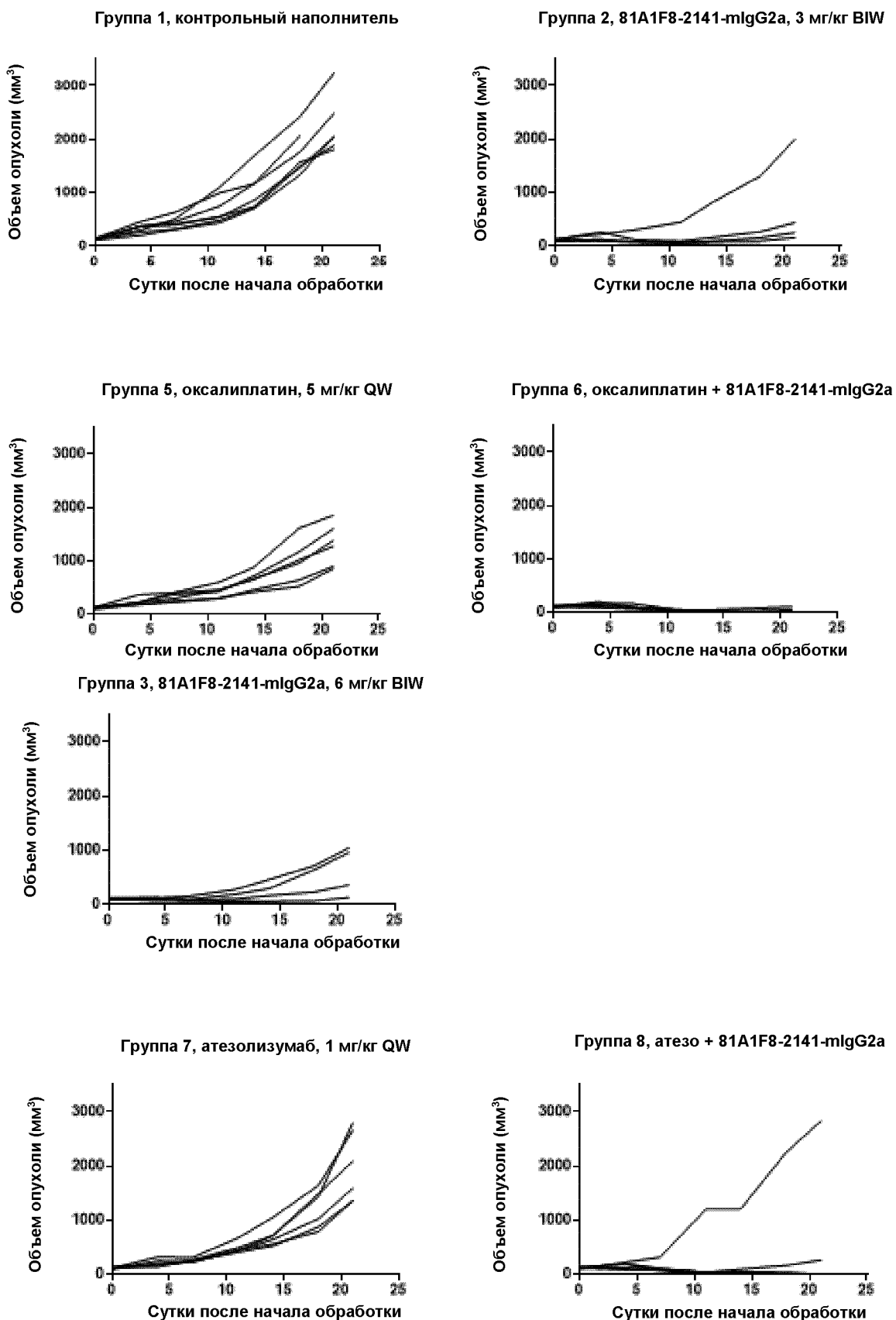
ФИГ. 12В

Группа (6 мышей на группу)	TGI	Без опухоли
Контр. наполнитель-PBS	/	/
3 мг/кг 81A1F8-mIgG2a BIW	68%	1
6 мг/кг 81A1F8-mIgG2a BIW	56%	5 - 4

ФИГ. 12Г



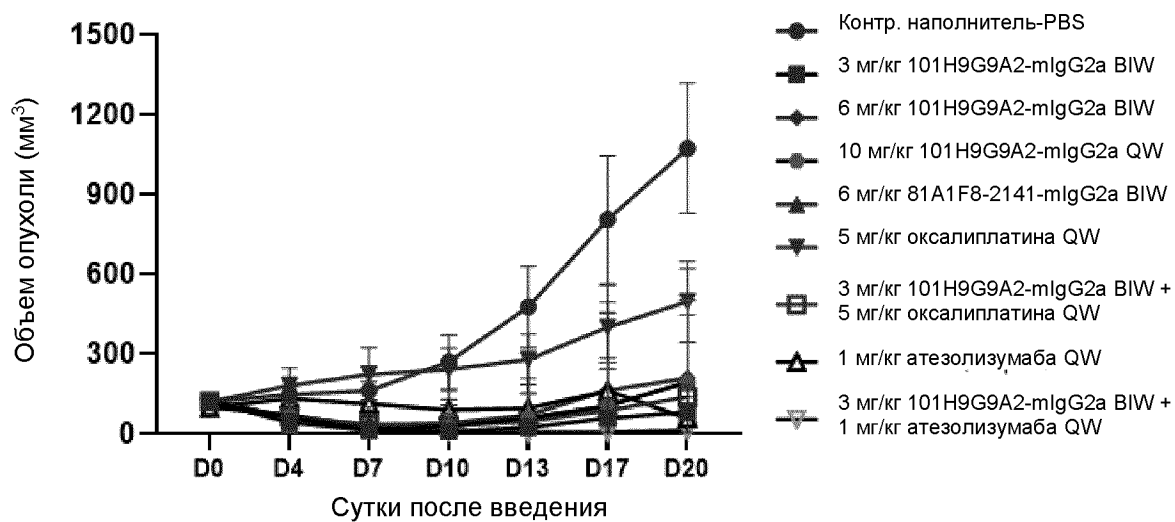
ФИГ. 13А



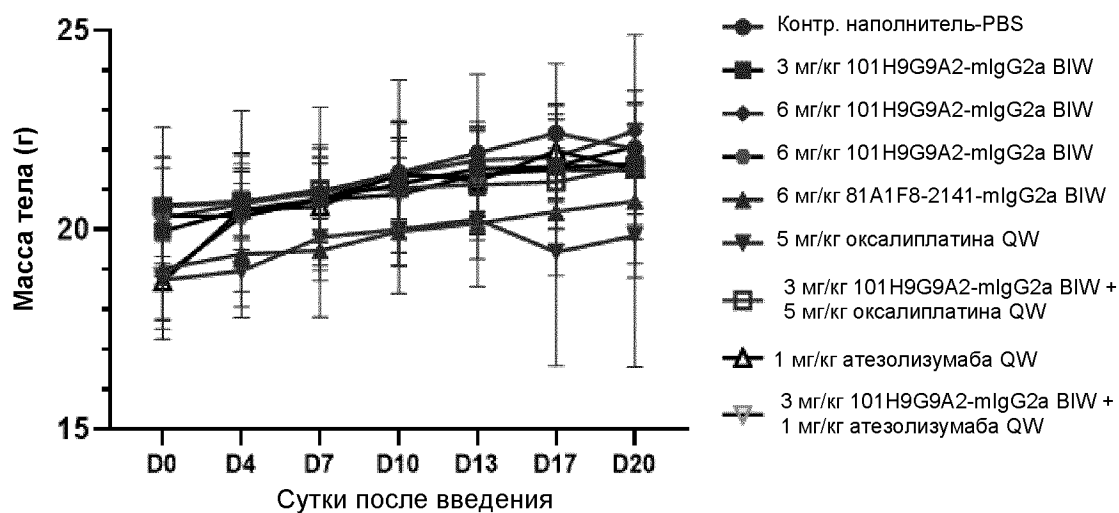
ФИГ. 13Б

		Без опухоли
Контр. наполнитель	/	/
3 мг/кг 81A1F8-2141-mIgG2a; BIW	95,3	2
6 мг/кг 81A1F8-2141-mIgG2a; BIW	98,5	2
5 мг/кг оксалиплатина QW	46,6	/
Оксалиплатин + 81A1F8-2141-mIgG2a 5+3, QW/BIW	>100	4
1 мг/кг атезолизумаба; QW	35,7	/
Атезолизумаб + 81A1F8-2141-mIgG2a 1+3, QW/BIW	81,5	4

ФИГ. 13В



ФИГ. 14А

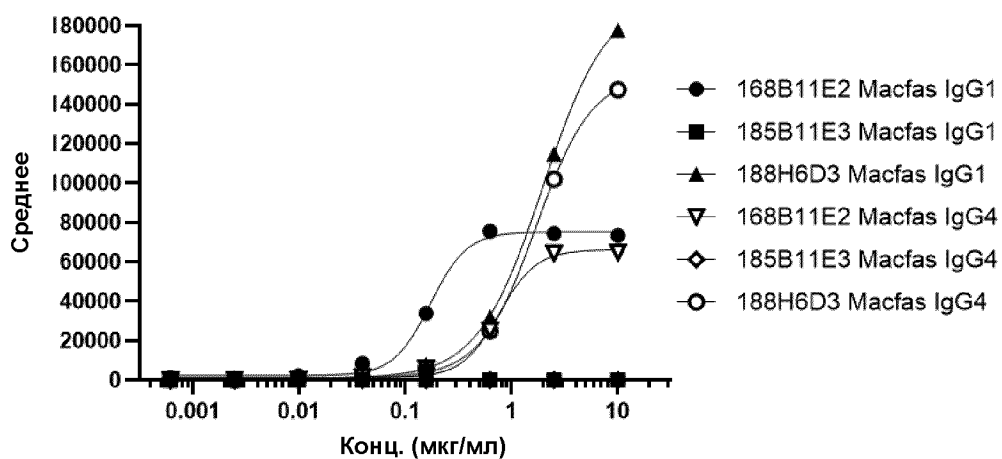


ФИГ. 14Б

Группа (6 мышей на группу)	TGI	Без опухоли
Контр. наполнитель-PBS	/	/
3 мг/кг 101H9G9A2-mIgG2a BIW	103,9%	2
6 мг/кг 101H9G9A2-mIgG2a BIW	90,7%	2
10 мг/кг 101H9G9A2-mIgG2a QW	92,26%	4
6 мг/кг 81A1F8-2141-mIgG2a BIW	110,2%	5
5 мг/кг оксалиплатина QW	60%	/
Оксалиплатин + 101H9G9A2-mIgG2a 5 мг/кг + 3 мг/кг QW/BIW	98,24%	4
1 мг/кг атезолизумаба QW	91%	2
Атезолизумаб + 101H9G9A2-mIgG2a 1 мг/кг + 3 мг/кг QW/BIW	108,9%	4

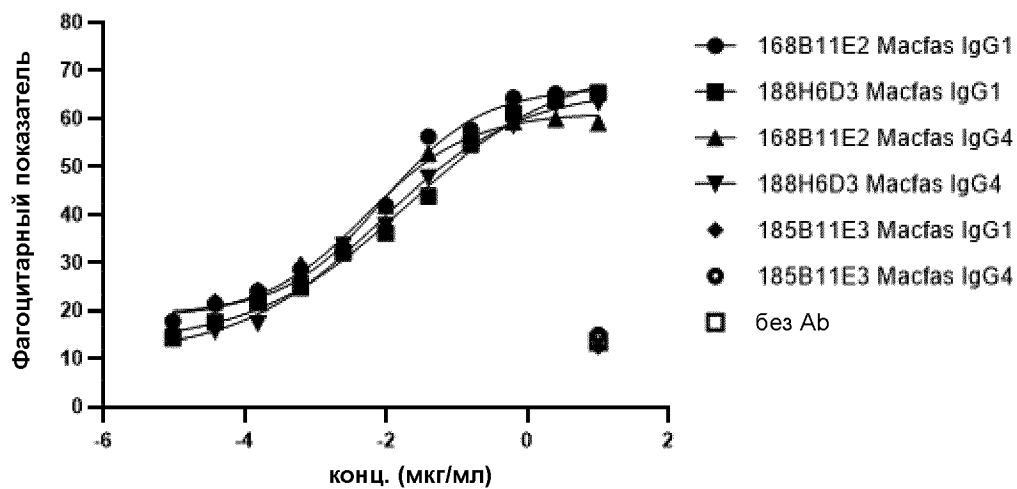
ФИГ. 14В

Ранжирование аффинности mAb против cmCD24 на cmCD24-293F



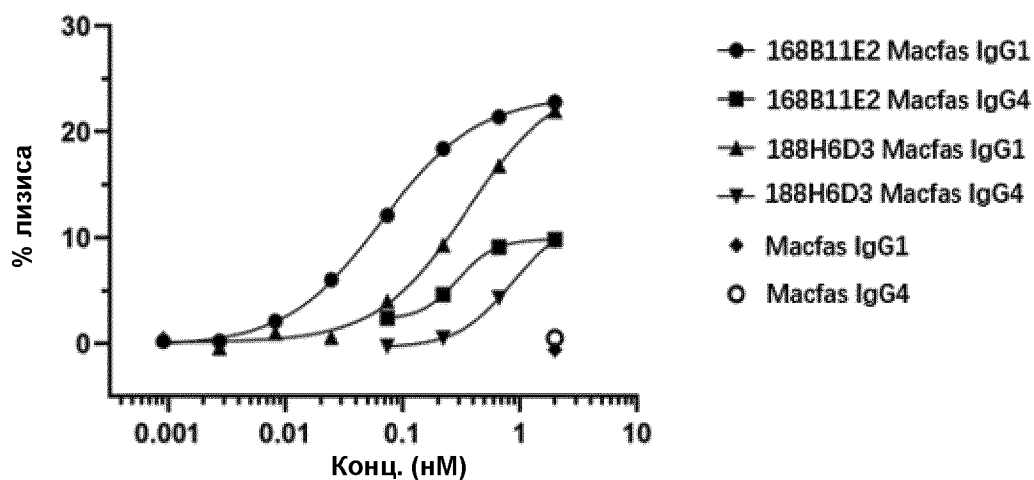
ФИГ. 15

Анализ фагоцитоза на клетках супоCD24-293F



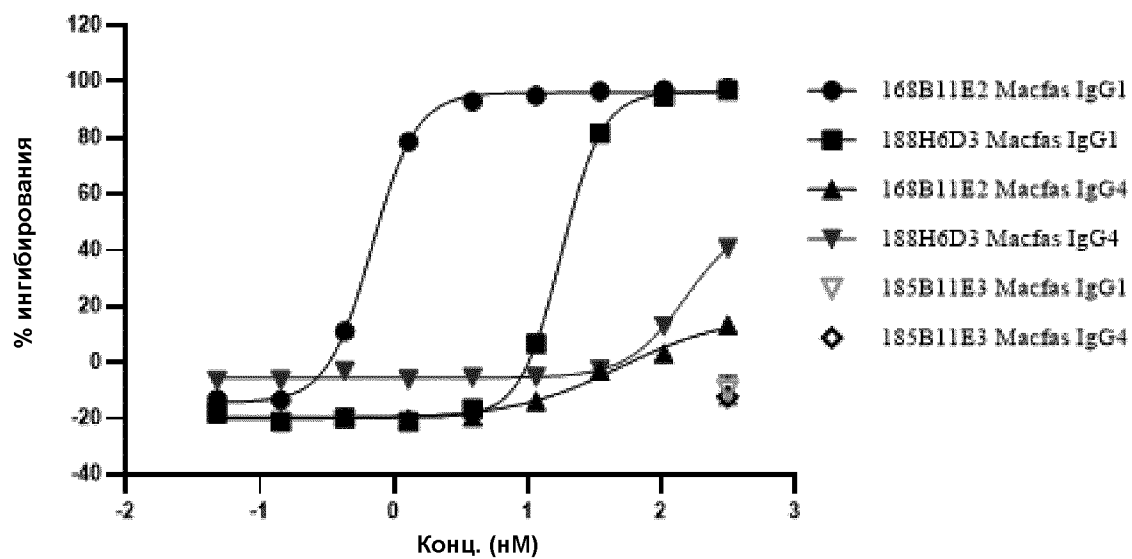
ФИГ. 16А

Анализ ADCC на 293-стCD24 с РВМС яванского макака



ФИГ. 16Б

Анализ CDC на CD24-293F яванского макака



ФИГ. 16В