

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392530

(13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.12.20

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.04.13

(54) АНТИТЕЛА К CD122 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 63/174,772; 63/279,762

(32) 2021.04.14; 2021.11.16

(33) US

(86) PCT/US2022/024620

(87) WO 2022/221409 2022.10.20

(71) Заявитель:

ВИЛЛАРИС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

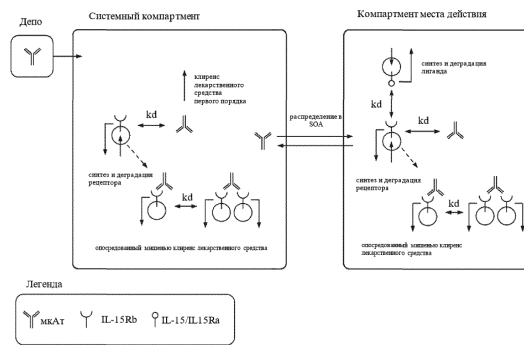
(72) Изобретатель:

Финли Уильям Джеймс Джонатан
(GB), Харрис Джон И. (US)

(74) Представитель:

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

(57) В данном документе предложены молекулы антител, которые специфически связываются с CD122, и их антигенсвязывающие части, а также связанные с ними композиции, молекулы нуклеиновой кислоты, векторы и клетки-хозяева. В данном документе также предложено применение в медицинских целях таких молекул антител.



A1

202392530

202392530

A1

АНТИТЕЛА К CD122 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 63/279762, поданной 16 ноября 2021 г., и предварительной заявке на патент США № 63/174772, поданной 14 апреля 2021 г., каждая из которых полностью включена в данный документ посредством ссылки для всех целей.

ОПИСАНИЕ ТЕКСТОВОГО ФАЙЛА, ПРЕДСТАВЛЕННОГО В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

[0002] Содержание текстового файла, представленного в электронном виде, полностью включено в данный документ посредством ссылки: Копия Перечня последовательностей в машиночитаемом формате (имя файла: VLRS_001_02WO_SeqList_ST25.txt, дата записи: 13 апреля 2022 г., размер файла: ~ 87964 байт).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Настоящее изобретение относится к терапевтическим молекулам антител и их медицинскому применению.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] CD122 представляет собой рецептор клеточной поверхности, который является членом суперсемейства иммуноглобулинов и в основном экспрессируется на натуральных киллерах (NK) и Т-клетках. CD122 был предложен в качестве мишени при различных патологических состояниях, вызванных любым из этих типов иммунных клеток, включая диабет 1 типа (T1D), целиакию, лейкемию, витилиго и другие. Существует потребность в терапевтических средствах, направленных на лечение таких иммуноопосредованных заболеваний. В частности, для витилиго не существует системных методов лечения и не существует одобренных Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США медицинских препаратов, улучшающих течение болезни.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где: (a) аминокислотная

последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

[0006] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1 и аминокислотная последовательность VL-области включает SEQ ID NO: 17; или (b) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1, а аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 9.

[0007] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть являются гуманизированными или химерными.

[0008] В некоторых вариантах осуществления область VH, область VL или как область VH, так и область VL содержат одну или более аминокислотных последовательностей каркасной области человека. В некоторых вариантах осуществления область VH, область VL или как область VH, так и область VL содержат аминокислотную последовательность каркаса вариабельной области человека, в которую были вставлены аминокислотные последовательности CDR. В некоторых вариантах осуществления область VH содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGHV3-23, в которую были вставлены аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3. В некоторых вариантах осуществления область VL содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGKV1-33, в которую были вставлены аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3.

[0009] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 содержит константную область иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина представляет собой IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина представляет собой IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2. В некоторых вариантах осуществления константная

область иммуноглобулина является иммунологически инертной. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина представляет собой константную область IgG4 человека дикого типа, константную область IgG4 человека, содержащую аминокислотную замену S228P, константную область IgG1 человека дикого типа, константную область IgG1 человека, содержащую аминокислотные замены L234A, L235A и G237A, или константную область человеческого IgG2 дикого типа, где нумерация соответствует индексу EU, как в Kabat. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина содержит любую из SEQ ID NO: 32-38.

[0010] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть представляют собой Fab, Fab', F(ab')₂, F_v, scF_v, макситело, миниантитело, диатело, триатело, тетратело или бис-scF_v. В некоторых вариантах осуществления антитело является моноклональным. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой тетрамерное антитело, четырехвалентное антитело или полиспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой биспецифическое антитело, которое специфически связывается с первым антигеном и вторым антигеном, при этом первый антиген представляет собой CD122, а второй антиген не является CD122.

[0011] В данном документе предложен иммуноконъюгат, содержащий антитело или его антигенсвязывающую часть, описанные в данном документе, связанные с терапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой цитотоксин, радиоизотоп, химиотерапевтический агент, иммуномодулирующий агент, цитостатический фермент, цитолитический фермент, терапевтическую нуклеиновую кислоту, антиангиогенный агент, антипролиферативный агент или проапоптотический агент.

[0012] В данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая антитело, антигенсвязывающую часть или иммуноконъюгат, описанные в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

[0013] В данном документе предложена молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая (a) аминокислотную последовательность области VH; (b) аминокислотная последовательность области VL; или (c) аминокислотные последовательности как области VH, так и области VL антитела или их антигенсвязывающие части, описанные в данном документе. В данном документе предложен вектор экспрессии, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты,

описанную в данном документе. В данном документе предложена рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты или вектор экспрессии, описанные в данном документе.

[0014] В данном документе предложен способ получения антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, включающий: культивирование рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, описанный в данном документе, в условиях, при которых молекула нуклеиновой кислоты экспрессируется, тем самым продуцируя антитело или антигенсвязывающую часть; и выделение антитела или его антигенсвязывающей части из клетки-хозяина или культуры.

[0015] В данном документе предложен способ подавления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела, антигенсвязывающей части, иммуноконъюгата или фармацевтической композиции, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ опосредован CD122.

[0016] В данном документе предложен способ лечения или профилактики заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела, антигенсвязывающей части, иммуноконъюгата или фармацевтической композиции, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой витилиго, целиакию, диабет I типа, рассеянный склероз, болезнь «трансплантат против хозяина», системную красную волчанку, псориаз, atopический дерматит, очаговую алопецию, язвенный колит или ревматоидный артрит.

[0017] В данном документе предложен способ подавления индуцированной L-15 миграции Т-клеток из кожи, включающий приведение в контакт с кожей терапевтически эффективного количества антитела, антигенсвязывающей части, иммуноконъюгата или фармацевтической композиции, описанных в данном документе.

[0018] В данном документе предложено антитело, его антигенсвязывающая часть, иммуноконъюгат или фармацевтическая композиция, описанные в данном документе, для применения в качестве лекарственного препарата.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0019] На **Фиг. 1** представлена схема фармакологического анализа IgG к CD122 *in vivo*.

[0020] На **Фиг. 2A – Фиг. 2D** показаны данные анализа специфичности IgG к CD122 Villmab-1 (M μ K β 1). Протеомное профилирование специфичности Villmab 1 с использованием технологии Retrogenix. (Фиг. 2A) Экспрессия контрольного ZS, (Фиг. 2B) зонд Villmab-1, (Фиг. 2C) зонд ритуксимаба, (Фиг. 2D) первичное антитело отсутствует.

[0021] На **Фиг. 3A – Фиг. 3C** представлены данные анализа методом проточной цитометрии IgG к CD122 Villmab-1 (M μ K β 1) на клетках, трансфицированных мишенью. (Фиг. 3A) Связывание Villmab-1, (Фиг. 3B) отсутствие первичного антитела, (Фиг. 3C) связывание ритуксимаба.

[0022] На **Фиг. 4** представлены данные по конкуренции за эпитоп IgG к CD122 по Alphascreen. Новые клоны подвергали скринингу в анализе Alphascreen для изучения конкуренции за эпитоп, связывающий Villmab-1, на CD122 человека.

[0023] На **Фиг. 5** представлена гистограмма, демонстрирующая оценки полиреактивности для новых IgG к CD122. Антитела исследовали на их способность неспецифически связываться с ДНК и инсулином.

[0024] На **Фиг. 6A – Фиг. 6G** представлены данные анализа методом проточной цитометрии новых IgG к CD122 и Villmab-1 на клетках, трансфицированных мишенью. (Фиг. 6A) 06F11, (Фиг. 6B) 07C07, (Фиг. 6C) 07D06, (Фиг. 6D) 07E09, (Фиг. 6E) 07D07, (Фиг. 6F) 06D12, (Фиг. 6G) IgG изотипического контроля.

[0025] На **Фиг. 7A – Фиг. 7F** представлены данные анализа новых IgG к CD122 и Villmab-1 в анализе пролиферации клеток M07e с использованием IL-15. (Фиг. 7A) 06F11, (Фиг. 7B) 07C07, (Фиг. 7C) 07D06, (Фиг. 7D) 07E09, (Фиг. 7E) 07D07, (Фиг. 7F) 06D12.

[0026] На **Фиг. 8A – Фиг. 8F** представлены данные анализа *in vivo* новых IgG к CD122 и Villmab-1 на мышинной модели hIL-15 NSG. (Фиг. 8A) CD8⁺ Т-клетки человека до, (Фиг. 8B) NK-клетки человека до, (Фиг. 8C) CD8⁺ Т-клетки человека через 1 неделю, (Фиг. 8D) NK-клетки человека через 1 неделю, (Фиг. 8E) CD8⁺ Т-клетки человека через 3 недели, (Фиг. 8F) NK-клетки человека через 3 недели.

[0027] На **Фиг. 9A – Фиг. 9D** представлены данные анализа методом проточной цитометрии новых IgG к CD122 и Villmab-1 на клетках, трансфицированных мишенью.

(Фиг. 9А) 06F11, (Фиг. 9В) 07С07, (Фиг. 9С) IgG изотипического контроля, (FIG. 9D) ритуксимаб.

[0028] На Фиг. 10А – Фиг. 10С показаны данные анализа специфичности новых клонов к CD122 Villmab-1 (M μ K β 1) в форматах Fab и IgG. Профилирование специфичности фрагментов Fab с использованием технологии BIACORE[®] в отношении белка нейдезина человека (Фиг. 10А) или белка CILP2 (Фиг. 10В) измеряли как R_{max} (максимальные значения реакции специфического связывания). Профилирование специфичности IgG с использованием ELISA против человеческого белка BCAM (Фиг. 10С), что измеряли как ОП при 450 нм.

[0029] На Фиг. 11А – Фиг. 11В представлены данные анализа последовательностей новых последовательностей переменных доменов клона к CD122 Villmab-1 (M μ K β 1). Последовательности VH (Фиг. 11А) и последовательности VL (Фиг. 11В). На Фиг. 11А, последовательности следующие: VillMAB-1: SEQ ID NO: 22; MAB05: SEQ ID NO: 1; MAB06: SEQ ID NO: 1; MAB14: SEQ ID NO: 52; MAB15: SEQ ID NO: 52; MAB17: SEQ ID NO: 53; MAB18: SEQ ID NO: 53. На Фиг. 11В, последовательности следующие: VillMAB-1: SEQ ID NO: 28; MAB05: SEQ ID NO: 9; MAB06: SEQ ID NO: 17; MAB14: SEQ ID NO: 9; MAB15: SEQ ID NO: 17; MAB17: SEQ ID NO: 9; MAB18: SEQ ID NO: 17. CDR выделены жирным шрифтом и подчеркнуты. Остатки, отличающиеся от последовательности VillMab-1, выделены серым цветом. Уникальные остатки, обнаруженные в этом анализе только в клонах, которые не связываются с BCAM, CILP2 или нейдезином, выделены черным цветом.

[0030] На Фиг. 12А – Фиг. 12В представлены данные анализа новых IgG к CD122 и Villmab-1 в анализе пролиферации первичных NK-клеток с использованием IL-15. MAB05 (Фиг. 12А), MAB06 (Фиг. 12В).

[0031] На Фиг. 13А – Фиг. 13В представлены данные анализа влияния MAB05 и MAB06 на индуцированное IL15 накопление Т-клеток, мигрирующих из биоптатов кожи, в анализе культуры биоптатов кожи человека. На Фиг. 13А показано влияние на количество CD8⁺ Т-клеток. На Фиг. 13В показано влияние на количество CD4⁺ Т-клеток.

[0032] На Фиг. 14А – Фиг. 14В представлены данные анализа зависимого от концентрации антагонизма MAB05 и MAB06 в отношении индуцированного IL15 накопления Т-клеток, мигрирующих из биоптатов кожи, в анализе культуры биоптатов кожи человека. На Фиг.

13А показано влияние на CD8⁺ Т-клетки и соответствующие значения IC50. На Фиг. 13В показано влияние на CD4⁺ Т-клетки и соответствующие значения IC50.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0033] В данном документе представлены антитела к CD122 и терапевтическое применение таких антител. Описанные в данном документе антитела являются антагонистическими, хорошо экспрессируются, биофизически стабильны, хорошо растворимы и обладают максимальной идентичностью с предпочтительными зародышевыми линиями человека.

[0034] CD122 (также известный как IL2RB, IL-2R β , IL15RB, P70-75, бета-субъединица рецептора интерлейкина 2 и IMD63) представляет собой трансмембранный гликопротеин типа I и член суперсемейства Ig. CD122 является общей субъединицей рецептора интерлейкина-15 (IL-15) и рецептора интерлейкина-2 (IL-2). CD122 экспрессируется НК-клетками и субпопуляцией Т-клеток. Сигналинг IL-15 был вовлечен в патогенез витилиго у человека. Нацеливание на CD122 или блокирование сигналинга IL-15 оказалось полезным в мышинных моделях других иммуноопосредованных заболеваний, таких как диабет, псориаз, рассеянный склероз и очаговая алопеция, а также в улучшении симптомов ревматоидного артрита и целиакии. Разработка эффективного антагонистического антитела к CD122 может быть полезна для лечения иммуноопосредованных заболеваний.

[0035] В патенте США № 5585089, полностью включенном в данный документ посредством ссылки, описана молекула антагонистического мышинового IgG к CD122, называемая «МК β 1», а также получение гуманизированных форм МК β 1. Эти гуманизированные формы МК β 1 были получены с использованием классических методов гуманизации, т. е. путем прививки CDR мыши, определенных по Kabat, в каркасные последовательности тяжелой и легкой цепей человека, при этом некоторые из остатков человеческого каркаса могут быть потенциально обратно мутированы в соответствующим образом расположенные остатки мышинные остатки МК β 1. Частично гуманизированная версия МК β 1 (см. таблицу 20) не показала эффективности в клинических исследованиях фазы IIa при Т-клеточном лейкозе из больших гранулярных лимфоцитов (Т-LGL) и ассоциированной с Т-клеточным лимфотропным вирусом человека 1 (HTLV-1) миелопатией/тропическим спастическим парализом (HAM/TSP). Это антитело имеет ряд недостатков, в том числе тот факт, что оно частично гуманизировано, имеет нецелелевое связывание, которое может повлиять на фармакокинетику и биораспределение, и использует изотип IgG1, что приводит к риску нежелательной антителозависимой

клеточной цитотоксичности/антителозависимого клеточного фагоцитоза на клетках, которые не опосредуют заболевание. Эти особенности делают это антитело неоптимальным кандидатом для дальнейшего тестирования в качестве таргетного терапевтического средства при иммуноопосредованных заболеваниях человека.

[0036] Напротив, антитела к CD122, представленные в данном документе, демонстрируют описанные в данном документе преимущества, которые делают их пригодными для терапии иммуноопосредованных заболеваний и нарушений человека.

АНТИТЕЛА

[0037] В данном документе предложены гуманизированные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые связывают CD122. Представленные в данном документе антитела к CD122 имеют несколько преимуществ по сравнению с мышинным антителом к CD122 М1Кβ1 и его гуманизированной версией, описанными в патенте США № 5585089. Предложенные в данном документе антитела к CD122 были выбраны так, чтобы они обладали улучшенной эффективностью в отношении блокирования сигналинга IL-15 через CD122. Важно отметить, что эти антитела также значительно улучшили специфичность связывания CD122 по сравнению с М1Кβ1 за счет устранения нецелевого связывания с человеческим рецептором ВСАМ (также известным как AU, CD239, LU, MSK19, молекула адгезии базальных клеток (лютеранская группа крови)), нейдезином (также известным как NENF) и С1LP2 (также известным как белок 2 промежуточного слоя хряща).

[0038] Антитела и антигенсвязывающие части, описанные в данном документе, специфически связывают CD122 человека. В некоторых вариантах осуществления антитела и их антигенсвязывающие части могут перекрестно реагировать с CD122 видов, отличных от человека, например, CD122 яванского макака (*Macaca fascicularis*) и/или CD122 макаки-резуса (*Macaca mulatta*). В некоторых вариантах осуществления антитело может быть специфичным только в отношении CD122 человека и может не проявлять перекрестной реактивности в отношении отличного от человека организма. Примеры аминокислотных последовательностей CD122 человека, яванского макака и резуса представлены в таблице 16.

[0039] Термин «антитело» в широком смысле относится к молекуле иммуноглобулина (Ig), обычно включающей четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, или любой их функциональный фрагмент, мутант, вариант или производное, которые

сохраняют основные мишень-связывающие свойства молекулы Ig. Такие мутантные, варианты или производные форматы антител известны в данной области техники.

[0040] В полноразмерном антителе каждая тяжелая цепь содержит вариабельную область тяжелой цепи (обозначаемую в данном документе сокращенно как область VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три домена, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит вариабельную область легкой цепи (обозначаемую в данном документе сокращенно как область VL) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен, CL. Области VH и VL могут быть дополнительно поделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), которые перемежаются более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждый домен VH и домен VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца к карбоно-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Определение CDR, используемое в настоящей заявке, представляет собой определение Kabat (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th ed. Bethesda, MD: Public Health Service, National Institutes of Health (1991)).

[0041] Термин «область Fc» используется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина. «Область Fc» может представлять собой область Fc с нативной последовательностью или вариантную область Fc. Хотя границы области Fc тяжелой цепи иммуноглобулин могут варьироваться, область Fc тяжелой цепи человеческого IgG обычно определяют как участок от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до его C-конца. Нумерация остатков в области Fc соответствует индексу EU, как в Kabat. Область Fc иммуноглобулина, как правило, содержит два константных домена, CH2 и CH3. Область Fc может присутствовать в димерной или мономерной форме. Область Fc связывается с различными клеточными рецепторами, такими как Fc-рецепторы, и другими иммунными молекулами, такими как белки комплемента.

[0042] Молекулы иммуноглобулина могут быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY) и класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2) или подкласса. Антитела IgG, IgD и IgE, как правило, содержат две идентичные тяжелые цепи и две идентичные легкие цепи и два антигенсвязывающих домена, каждый из которых состоит из VH и VL. Как правило, антитела IgA состоят из двух мономеров, каждый мономер состоит из двух тяжелых цепей и двух легких цепей (как и для антител IgG, IgD и IgE); таким образом, молекула IgA имеет четыре антигенсвязывающих домена, каждый из которых

состоит из VH и VL. Некоторые антитела IgA являются мономерными в том смысле, что они состоят из двух тяжелых цепей и двух легких цепей. Секретируемые антитела IgM обычно состоят из пяти мономеров, каждый из которых состоит из двух тяжелых цепей и двух легких цепей (как в случае антител IgG и IgE). Таким образом, молекула IgM имеет десять антигенсвязывающих доменов, каждый из которых также состоит из VH и VL. Форма IgM на клеточной поверхности имеет структуру из двух тяжелых цепей/двух легких цепей, сходную с антителами IgG, IgD и IgE.

[0043] Термин «антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела (или «часть антитела» или «фрагмент антитела») в данном контексте относится к одному или более фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном (например, CD122). Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться частями или фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих частей, охватываемых термином «антигенсвязывающая часть» антитела, включают (i) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; (ii) фрагмент F(ab')₂, бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент dAb (домен антитела) (Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546; WO 90/05144 A1, каждый полностью включен в данный документ посредством ссылки), который содержит один переменный домен; и (vi) выделенную определяющую комплементарность область (CDR). Изобретение также охватывает фрагмент Fab'. Фрагменты Fab' могут быть образованы восстановлением фрагментов F(ab')₂. Fab' получают из F(ab')₂; следовательно, он может содержать небольшую часть Fc. Более того, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH, кодируются отдельными генами, их можно соединить с помощью рекомбинантных способов синтетическим линкером, что обеспечивает возможность создания ими единой белковой цепи, в которой пара доменов VL и VH соединяется, образуя моновалентные молекулы, (известные как одноцепочечные Fv (scFv)). См. например, Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883. Подразумевается, что такие одноцепочечные антитела также охватываются термином «антигенсвязывающая часть» антитела. В некоторых вариантах осуществления молекулы scFv могут быть включены в слитый белок. В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено верблюжье одноцепочечное антитело. В некоторых вариантах осуществления в данном документе

предложено акулье антитело, состоящее только из тяжелых цепей, (V-NAR). См., English et al. (2020) *Antibody Therapeutics*, 3(1):1-9. Примеры антигенсвязывающих частей известны в данной области техники (Kontermann and Dubel eds., *Antibody Engineering* (2001) Springer-Verlag. New York. 790 pp.). В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено однодоменное антитело. В общем, термин «антитело», используемый в данном документе, включает «часть антитела». Часть антитела, как правило, сохраняет антигенсвязывающие свойства полноразмерного антитела.

[0044] Антитела и части антител, предложенные в данном документе, могут иметь полиспецифический (например, биспецифический или триспецифический) формат. Такие полиспецифические молекулы специфически связываются с двумя или более различными молекулярными мишенями или эпитопами. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть представляет собой биспецифическую молекулу, которая специфически связывается с первым антигеном и вторым антигеном, где первый антиген представляет собой CD122, а второй антиген не является CD122. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть представляют собой диатело. Диатела представляют собой двухвалентные, биспецифические антитела, в которых домены VH и VL экспрессируются на одной полипептидной цепи, но с использованием линкера, который слишком короток, чтобы обеспечить соединение двух доменов на одной цепи, что и приводит к соединению доменов с комплементарными доменами другой цепи и созданию двух антигенсвязывающих сайтов (см. например, Holliger et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak et al. (1994) *Structure* 2:1121-1123). В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть представляет собой триатело, тетраатело, бис-scFv или тандемный scFv. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть представляет собой перенацеливающий белок с двойной аффинностью.

[0045] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающая часть антитела к CD122, описанная в данном документе, представляет собой Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, макситело, миниантитело, диатело, триатело, тетраатело или бис-scFv.

[0046] В контексте данного документа термины «иммунологическое связывание» и «иммунологические связывающие свойства» относятся к нековалентным взаимодействиям типа, которые происходят между молекулой иммуноглобулина (например, антителом или его антигенсвязывающей частью) и антигеном, для которого иммуноглобулин является

специфичным. Сила или аффинность взаимодействий иммунологического связывания может быть выражена в терминах константы диссоциации (K_d) взаимодействия, где меньший K_d представляет большую аффинность. Иммунологические связывающие свойства выбранных полипептидов можно количественно определить с использованием методов, хорошо известных в данной области техники. Один из таких способов включает измерение скоростей образования и диссоциации комплекса антигенсвязывающий сайт / антиген, причем эти скорости зависят от концентраций компонентов комплекса, аффинности взаимодействия и геометрических параметров, которые одинаково влияют на скорость в обоих направлениях. Таким образом, как «константу скорости ассоциации» (K_{on}), так и «константу скорости диссоциации» (K_{off}) можно определить путем расчета концентраций и фактических скоростей ассоциации и диссоциации. (См., Malmqvist, *Nature* 361:186-187 (1993)). Отношение K_{off} / K_{on} позволяет исключить все параметры, не связанные с аффинностью, и оно равно константе диссоциации K_d . (См., Davies et al. (1990) *Annual Rev Biochem* 59:439-473). Утверждается, что антитело или его антигенсвязывающая часть, представленные в данном документе, специфически связываются с CD122, когда константа равновесного связывания (K_d) составляет ≤ 10 мкМ, предпочтительно ≤ 10 нМ, более предпочтительно ≤ 10 нМ и наиболее предпочтительно от ≤ 100 пМ до около 1 пМ, как определено с помощью анализов, таких как анализы связывания радиолиганда или аналогичные анализы, известные специалистам в данной области техники. Одним из способов определения K_d антитела является использование поверхностного плазмонного резонанса (SPR), как правило, с использованием биосенсорной системы, такой как система Biacore®.

[0047] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, являются одновалентными или двухвалентными и содержат одну или две цепи. Функционально аффинность связывания антитела или его антигенсвязывающей части может находиться в диапазоне от 10^{-5} М до 10^{-12} М. Например, аффинность связывания антитела или его антигенсвязывающей части находится в пределах от 10^{-6} М до 10^{-12} М, от 10^{-7} М до 10^{-12} М, от 10^{-8} М до 10^{-12} М, от 10^{-9} М до 10^{-12} М, от 10^{-5} М до 10^{-11} М, от 10^{-6} М до 10^{-11} М, от 10^{-7} М до 10^{-11} М, от 10^{-8} М до 10^{-11} М, от 10^{-9} М до 10^{-11} М, от 10^{-10} М до 10^{-11} М, от 10^{-5} М до 10^{-10} М, от 10^{-6} М до 10^{-10} М, от 10^{-7} М до 10^{-10} М, от 10^{-8} М до 10^{-10} М, от 10^{-9} М до 10^{-10} М, от 10^{-5} М до 10^{-9} М, от 10^{-6} М до 10^{-9} М, от 10^{-7} М до 10^{-9} М, от 10^{-8} М до 10^{-9} М, от 10^{-5} М до 10^{-8} М, от 10^{-6} М до 10^{-8} М, от 10^{-7} М до 10^{-8} М, от 10^{-5} М до 10^{-7} М, от 10^{-6} М до 10^{-7} М или от 10^{-5} М до 10^{-6} М.

[0048] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют за связывание с CD122 с антителом MAB05 или MAB06, или антителом, которое содержит одну или более аминокислотных последовательностей антитела MAB05 или MAB06 (см. таблицы 18 и 19).

[0049] Термины «перекрестно конкурировать», «перекрестная конкуренция», «перекрестно блокировать», «перекрестно блокирующие» и «перекрестная блокировка» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения способности антитела или его антигенсвязывающей части прямо или косвенно препятствовать связыванию посредством аллостерической модуляции антител к CD122 по настоящему изобретению с целевым CD122 (например, CD122 человека). Степень, в которой антитело или его часть способны препятствовать связыванию другого с мишенью, и, следовательно, можно ли сказать, что оно перекрестно блокируется или перекрестно конкурирует, можно определить с помощью анализов конкурентного связывания. Одним из примеров конкурентного анализа связывания является гомогенная флуоресценция с временным разрешением (HTRF). В одном особенно подходящем количественном анализе перекрестной конкуренции используется подход на основе FACS или Alphascreen для измерения конкуренции между меченым (например, His-меченым, биотинилированным или радиоактивно меченым) антителом или его частью и другим антителом или его частью с точки зрения их связывания с мишенью. Как правило, перекрестно конкурирующее антитело или его часть представляет собой, например, такое антитело, которое будет связываться с мишенью в анализе перекрестной конкуренции таким образом, что во время анализа и в присутствии второго антитела или его части регистрируемое замещение одиночного переменного домена иммуноглобулина или полипептида по изобретению составляет до 100% (например, в конкурентном анализе на основе FACS) от максимального теоретического замещения (например, замещения холодным (например, немеченым) антителом или его фрагментом, который должен быть перекрестно блокирован) потенциально перекрестно блокирующим антителом или его фрагментом, присутствующим в данном количестве. В некоторых вариантах осуществления перекрестно конкурирующие антитела или их части имеют зафиксированное замещение, которое составляет от 10% до 100% или от 50% до 100%.

[0050] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют за связывание с CD122 с антителом, содержащим область VH и область VL, при этом: (a)

аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

[0051] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или его антигенсвязывающая часть перекрестно конкурируют за связывание с CD122 с антителом или антигенсвязывающей частью, содержащими наборы CDR, описанные в данном документе; и (a) специфически связываются с (i) CD122 человека и (ii) CD122 яванского макака и/или резуса; (b) антагонизируют пролиферацию CD122⁺ клеток человека, таких как первичные НК-клетки, при стимуляции человеческим ИЛ-15 с EC50 ниже 14 нМ; (c) связываются с CD122 резуса с KD ниже 10 нМ; (d) связываются с функционально идентичным эпитопом на CD122 яванского макака и/или резуса и CD122 человека; и/или (e) не проявляют связывания с ВСАМ или имеют пониженное связывание по сравнению с антителом к CD122, содержащим последовательности переменного домена антитела М1Кβ1. В некоторых вариантах осуществления значение K_d антитела или его антигенсвязывающей части можно определить с помощью анализа BIACORE[®]. В некоторых вариантах осуществления значение EC50 антитела или его антигенсвязывающей части можно определить с помощью окрашивания клеток, экспрессирующих CD122, (например, клеток CHO, клеток НЕК, клеток M07e, НК-клеток, Т-клеток) для проточной цитометрии.

[0052] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, обладают низкой иммуногенностью. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть проявляют сниженную иммуногенность по сравнению с антителом к CD122, содержащим HCDR1 с SYGVH (SEQ ID NO: 24), HCDR2 с VIWSSGGSTDYNAAFIS (SEQ ID NO: 5), HCDR3 с AGDYNIDGFAY (SEQ ID NO: 27), LCDR1 с SGSSSVSFMY (SEQ ID NO: 30), LCDR2 с DTSNLAS (SEQ ID NO: 13), и LCDR3 с QQWSTYPLT (SEQ ID NO: 15). В некоторых примерах риск иммуногенности антитела или его антигенсвязывающей части можно определить *in silico* путем определения

расположения Т-клеточных эпитопов в антителе или его части (например, в переменных областях антитела или его части).

[0053] Например, Т-клеточные эпитопы в антителе или его антигенсвязывающей части можно идентифицировать с помощью iTore™. iTore™ можно использовать для анализа последовательностей областей VL и VH на наличие пептидов с неизбирательным высокоаффинным связыванием с МНС класса II человека. Считается, что пептиды, неизбирательно связывающие МНС класса II с высокой аффинностью, коррелируют с наличием Т-клеточных эпитопов, которые являются индикаторами высокого риска в отношении клинической иммуногенности белков лекарственных средств. Программное обеспечение iTore™ предсказывает благоприятные взаимодействия между боковыми цепями аминокислот пептида и специфическими связывающими карманами (в конкретных положениях кармана: p1, p4, p6, p7 и p9) внутри открытых связывающих борозд 34 аллелей МНС класса II человека. Эти аллели представляют собой наиболее распространенные аллели HLA-DR, встречающиеся повсеместно, без оценки тех, которые наиболее часто встречаются в какой-либо конкретной этнической популяции. Двадцать аллелей содержат «открытую» конфигурацию p1, а 14 содержат «закрытую» конфигурацию, в которой глицин в положении 83 заменен на валин. Расположение ключевых связывающих остатков достигается *in silico* генерацией 9-мерных пептидов, которые перекрываются восемью аминокислотами, охватывающими последовательность тестируемого белка. Этот процесс успешно и с высокой точностью различает пептиды, которые либо связываются, либо не связываются с молекулами МНС класса II.

[0054] Т-клеточные эпитопы в антителе или антигенсвязывающей части могут быть идентифицированы путем анализа последовательностей областей VL и VH с использованием TCED™ (T Cell Epitope Database™) для поиска совпадений с Т-клеточными эпитопами, ранее идентифицированными с помощью анализов картирования человеческих Т-клеточных эпитопов *in vitro* других белковых последовательностей. TCED™ используется для поиска любой исследуемой последовательности в большой (>10000 пептидов) базе данных пептидов, полученных из неродственных последовательностей белков и антител.

[0055] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут проявлять низкую иммуногенность, поскольку антитело или его часть имеют низкое количество одного или более из следующих пептидов в своих последовательностях: высокоаффинный чужеродный пептид («HAF» – высокий риск

иммуногенности), низкоаффинный чужеродный пептид ("LAF" - более низкий риск иммуногенности) и/или TCED⁺ (ранее идентифицированный эпитоп в базе данных TCEDTM).

[0056] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут иметь высокое количество эпитопов зародышевой линии (GE) в своей последовательности. В некоторых примерах антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть имеет 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 (или более 20) эпитопов зародышевой линии в его последовательности (например, в последовательности области VL и/или VH). Эпитоп зародышевой линии можно определить как пептидную последовательность зародышевой линии человека с высокой аффинностью связывания МНС класса II. Маловероятно, что 9-мерные пептиды эпитопа зародышевой линии обладают иммуногенным потенциалом из-за толерантности Т-клеток, что подтверждено предыдущими исследованиями с широким спектром пептидов зародышевой линии. Важно отметить, что такие эпитопы V-домена зародышевой линии (дополнительно поддерживаемые аналогичными последовательностями в константных областях человеческого антитела) также конкурируют за занятость МНС класса II на мембране антигенпрезентирующих клеток, снижая риск того, что презентация чужеродного пептида окажется достаточной для достижения «порога активации», необходимого для стимуляции Т-клеток. Поэтому высокое содержание GE является положительной характеристикой при клинической разработке терапевтического средства на основе антитела и может обеспечить низкую иммуногенность. В некоторых примерах антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть содержат пептидную последовательность зародышевой линии человека с высокой аффинностью связывания МНС класса II (например, эпитоп зародышевой линии) в LCDR2.

[0057] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут иметь уменьшенное количество эпитопов HAF, LAF и/или TCED⁺, обнаруженных в каркасах переменных областей как тяжелой, так и легкой цепи, по сравнению с антителом к CD122, содержащим последовательности переменного домена антитела М1Кβ1. В некоторых вариантах осуществления эпитопы HAF, LAF и/или TCED⁺ отсутствуют в последовательностях области VL и/или VH антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части.

[0058] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть не содержат одну или более аминокислотных

последовательностей мышинового/гуманизированного антитела МІКβ1, представленных в таблице 20. В некоторых вариантах реализации антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть не содержат HCDR1, включающую SEQ ID NO: 24, HCDR3, включающую SEQ ID NO: 27, и/или LCDR1, включающую SEQ ID NO: 30. В таблице 1 представлены аминокислотные последовательности переменных областей мышинового антитела к CD122 МІКβ1 с выделенными CDR, как определено в данном документе (схема Kabat). Термин «МІКβ1-IgG1 (гуманизированный)» относится к антителу к CD122, содержащему последовательность переменной области тяжелой цепи, обозначенную как CD122-VH1, и последовательность переменной области легкой цепи, обозначенную как CD122-VL1 в таблице 2, и константную область IgG1 человека.

[0059] Описанные в данном документе антитела представляют собой антагонистические антитела к CD122. В контексте данного документа термин «антагонист» или «антагонистическое антитело к CD122» (взаимозаменяемо называемое «антитело к CD122») относится к антителу, которое способно связываться с CD122 и ингибировать биологическую активность CD122 и/или нижележащий путь (пути), опосредованные сигналингом CD122. Антагонистическое антитело к CD122 включает антитела, которые могут блокировать, противодействовать, подавлять или снижать (в том числе значительно) биологическую активность CD122, включая нижестоящие пути, опосредованные сигналингом CD122, такие как связывание рецептора и/или вызывание клеточного ответа на CD122. Для целей настоящего изобретения будет однозначно понятно, что термин «антагонистическое антитело CD122» охватывает все термины, названия и функциональные состояния и характеристики, при которых сам CD122, биологическая активность CD122 (включая, но не ограничиваясь, его способность подавлять активацию противоопухолевой активности Т-клеток) или последствия этой активности или биологической активности в значительной степени сводятся на нет, уменьшаются или нейтрализуются в значимой степени.

[0060] В некоторых вариантах осуществления молекула антитела или ее антигенсвязывающая часть специфически связывается с CD122 и не связывается (или не связывается специфически) с мембранным белком ВСАМ. В некоторых вариантах осуществления ВСАМ представляет собой человеческий белок. В некоторых вариантах осуществления ВСАМ представляет собой белок резуса. В некоторых вариантах осуществления белок ВСАМ человека содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21 или аминокислотной последовательности, которая

имеет по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 91%, по меньшей мере около 92%, по меньшей мере около 93%, по меньшей мере около 94%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 96%, по меньшей мере около 97%, по меньшей мере около 98% или по меньшей мере около 99% идентичности с SEQ ID NO: 21. В одном варианте осуществления молекула антитела или ее антигенсвязывающая часть не связываются с ВСАМ. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела или ее антигенсвязывающая часть проявляют пониженное связывание с ВСАМ по сравнению со связыванием, проявляемым антителом М1К β 1 или IgG1-М1К β 1 (гуманизированным) с указанными мембранными рецепторами. В некоторых случаях связывание антитела или его антигенсвязывающей части с ВСАМ можно определить с помощью ELISA или анализа на основе проточной цитометрии.

[0061] Кроме того, в данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, которые содержат одну или более аминокислотных последовательностей антитела МАВ06 или МАВ05. Комбинации последовательностей области VH, области VL и CDR, образующих эти антитела, представлены в таблицах 18 и 19. В некоторых вариантах осуществления последовательность области VH и/или последовательность области VL содержат сигнальную последовательность (также известную как сигнальный пептид) на амино-конце.

[0062] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

[0063] В некоторых вариантах осуществления в данном документе описано антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, причем указанное антитело содержит область VH, содержащую HCDR1, HCDR2 и HCDR3, и область VL, содержащую LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом (a) HCDR1 включает аминокислотную последовательность G-F-T-F-S-S-

Y-X₁-M-S, где X₁ представляет собой L или любую другую аминокислоту (SEQ ID NO: 39); (b) HCDR2 включает аминокислотную последовательность X₁-A-X₂-I-S-G-G-G-X₃-X₄-X₅-Y-Y-X₆-D-S-V-K-G, где X₁ представляет собой V или консервативную замену V, X₂ представляет собой T или N, X₃ представляет собой A или S, X₄ представляет собой E или N, X₅ представляет собой T или K, и X₆ представляет собой P или V (SEQ ID NO: 40); (c) HCDR3 включает аминокислотную последовательность X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-D-Y, где X₁ представляет собой Q или любую другую аминокислоту (например, T, L, M, или N), X₂ представляет собой L или любую другую аминокислоту (например, G, K, M, Q, S или V), X₃ представляет собой Y или консервативную замену Y (например, H), X₄ представляет собой Y или любую другую аминокислоту (например, A, D, F, G, M, E, I, K, S, или W) и X₅ представляет собой F или любую другую аминокислоту (например, A, D, E, I, K, M, S, или W) (SEQ ID NO: 160); (d) LCDR1 включает аминокислотную последовательность R-A-S-Q-S-I-X₁-X₂-X₃-X₄-X₅, где X₁ представляет собой S или консервативную замену S, X₂ представляет собой S или консервативную замену S, X₃ представляет собой Y или консервативную замену Y, X₄ представляет собой L или консервативную замену L, и X₅ представляет собой N или T или консервативную замену N или T (SEQ ID NO: 161); (e) LCDR2 включает аминокислотную последовательность X₁-A-X₂-S-L-X₃-X₄, где X₁ представляет собой A или T или консервативную замену A или T, X₂ представляет собой S или консервативную замену S, X₃ представляет собой Q или любую другую аминокислоту, и X₄ представляет собой S или любую другую аминокислоту (SEQ ID NO: 162); и (f) LCDR3 включает аминокислотную последовательность Q-Q-X₁-Y-S-X₂-P-X₃-T, где X₁ представляет собой S или любую другую аминокислоту, X₂ представляет собой T или любую другую аминокислоту, и X₃ представляет собой W или любую другую аминокислоту (SEQ ID NO: 163).

[0064] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где (a) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9.

[0065] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, при этом указанное антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и

область VL, где аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1, или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1.

[0066] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, при этом указанное антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, при этом аминокислотная последовательность области VL включает (а) SEQ ID NO: 17, или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9; или (b) SEQ ID NO: 17, или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9.

[0067] Также в данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где (а) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1 или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1; и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 17 или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9; или (b) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1 или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1; и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 9 или аминокислотную последовательность, которая имеет по меньшей мере 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17.

[0068] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где (а) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1; и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 17 с 1, 2 или 3 консервативными аминокислотными заменами в последовательности области VH, последовательности области VL или последовательностях как области VH, так и области VL; или (b) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1; и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 9 с 1, 2 или 3

консервативными аминокислотными заменами в последовательности области VH, последовательности области VL или последовательностях как области VH, так и области VL. В некоторых вариантах осуществления консервативные аминокислотные замены производятся только в последовательностях FR, а не в последовательностях CDR антитела или его антигенсвязывающей части.

[0069] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, являются моноклональными. Термин «моноклональное антитело» (Mab) относится к антителу или его антигенсвязывающей части, которое получено из единственной копии или клона, включая, например, любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон, а не к методу, с помощью которого оно получено. Предпочтительно моноклональное антитело существует в гомогенной или по существу гомогенной популяции.

[0070] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть, представленные в данном документе, могут быть выделены.

[0071] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, являются химерными. Предполагается, что термин «химерный» относится к молекуле антитела или ее антигенсвязывающей части, в которой последовательности переменных доменов получены от одного вида, а по меньшей мере одна последовательность константной области получена от другого вида. Например, один или все переменные домены легкой цепи(-ей) и/или один или все переменные домены тяжелой цепи(-ей) мышиного антитела (например, мышиного моноклонального антитела) могут быть присоединены к константной области человека, например, без ограничения, константной области IgG1 или IgG4 человека. Примеры химерных антител и подходящие методики их получения представлены в патентах US 4816567; US 4975369; и US 4816397, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, содержат: (a) аминокислотную последовательность области VH, включающую SEQ ID NO: 1; аминокислотную последовательность области VL, включающую SEQ ID NO: 17, и константную область человека; или (b) аминокислотную последовательность области VH, включающую SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность области VL, включающую SEQ ID NO: 9, и константную область человека.

[0072] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, предложенные в данном документе, являются гуманизированными. Термин «гуманизированный» предназначен для обозначения антитела или его антигенсвязывающей части, которые были сконструированы таким образом, чтобы содержать одну или более человеческих каркасных областей в переменном домене вместе с нечеловеческими CDR (например, мыши, крысы или хомяка) тяжелой и/или легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит полностью человеческие последовательности, за исключением CDR. Молекула антитела к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать один или более каркасов переменной области человека, в которые были вставлены CDR. В некоторых вариантах осуществления область VH, область VL или как область VH, так и область VL антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части по настоящему изобретению содержат одну или более аминокислотных последовательностей каркасной области человека. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит полностью человеческие последовательности, за исключением CDR, которые представляют собой CDR антитела MAB06 или MAB05. Примеры гуманизированных антител и подходящие способы их получения представлены в Hwang et al., *Methods* 36:35, 2005; Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:10029-10033, 1989; Jones et al., *Nature*, 321:522-25, 1986; Riechmann et al., *Nature*, 332:323-27, 1988; Verhoeven et al., *Science*, 239:1534-36, 1988; Orlandi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86:3833-37, 1989; US 5225539; US 5530101; US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 6180370; и WO 90/07861, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки. При выборе FR для фланкирования CDR, например, при гуманизации или оптимизации антитела, предпочтительными являются FR из антител, которые содержат последовательности CDR того же канонического класса.

[0073] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, не обязательно имеют максимальное количество замен зародышевых линий человека в соответствующих мышиных CDR или других (например, каркасных) аминокислотных положениях. Как подробно описано в экспериментальном разделе ниже, «максимально гуманизированные» молекулы антител не обязательно должны быть «максимально оптимизированными» с точки зрения характеристик связывания CD122 и/или других желательных свойств.

[0074] Настоящее изобретение охватывает модификации аминокислотной последовательности молекулы антитела или ее антигенсвязывающей части, как определено в данном документе. Например, изобретение включает молекулы антител и соответствующие их антигенсвязывающие части, содержащие функционально эквивалентные переменные области и CDR, которые существенно не влияют на их свойства, а также варианты, обладающие повышенной или пониженной активностью и/или аффинностью. Например, аминокислотная последовательность может быть мутирована для получения антитела с желаемой аффинностью связывания с CD122. Предложены вставки, которые включают слияния с амино- и/или карбоксильными концами, варьирующиеся по длине от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более остатков, а также вставки в пределах последовательности одного или более аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают молекулу антитела с N-концевым метионильным остатком или молекулу антитела, слитую с эпитопной меткой. Другие инсерционные варианты молекулы антитела включают слияние с N- или C-концом антитела фермента или полипептида, что увеличивает время полужизни антитела в кровотоке.

[0075] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, представленные в данном документе, могут включать гликозилированные и негликозилированные полипептиды, а также полипептиды с другими посттрансляционными модификациями, такими как, например, гликозилирование различными сахарами, ацетилирование и фосфорилирование. Антитело или его антигенсвязывающая часть могут быть мутированы для изменения таких посттрансляционных модификаций, например, путем добавления, удаления или замены одного или более аминокислотных остатков с образованием или удалением сайта гликозилирования.

[0076] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, представленные в данном документе, могут быть модифицированы, например, заменой аминокислот для удаления потенциальных протеолитических сайтов в антителе или его части.

[0077] Также в данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержит область VH, область VL и все последовательности каркасных областей человека, где: (а) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и

аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

[0078] Также в данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или его антигенсвязывающая часть содержит область VH, область VL и одну или более последовательностей каркасной области человека, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

[0079] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать каркас зародышевой линии человека IGHV3-23, в который были вставлены соответствующие последовательности HCDR. Антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать область VH, которая содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGHV3-23, в которую вставлен набор соответствующих аминокислотных последовательностей HCDR1, HCDR2 и HCDR3.

[0080] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать каркас зародышевой линии человека IGKV1-33, в который были вставлены соответствующие последовательности LCDR. Антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать область VL, которая содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGKV1-33, в которую вставлен набор соответствующих аминокислотных последовательностей LCDR1, LCDR2 и LCDR3.

[0081] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать каркас зародышевой линии человека IGHV3-23, в который были вставлены соответствующие последовательности HCDR, и каркас зародышевой линии человека IGKV1-33, в который были вставлены соответствующие последовательности LCDR. Антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать область VH, которая содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGHV3-23, в которую вставлен набор соответствующих аминокислотных последовательностей HCDR1, HCDR2 и HCDR3, и область VL, которая содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGKV1-33, в которую вставлен набор соответствующих аминокислотных последовательностей LCDR1, LCDR2 и LCDR3. Аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 могут быть аминокислотными последовательностями HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3 любого из клонов в таблице 18 или 19 (при этом все шесть последовательностей CDR могут быть из одного и того же клона).

[0082] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть содержат константную область иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина представляет собой IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина представляет собой IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина является иммунологически инертной. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина содержит одну или более мутаций для снижения или предотвращения связывания FcγR, активности в виде антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности и/или активности в виде комплементзависимой цитотоксичности. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина представляет собой константную область человеческого IgG1 дикого типа, константную область человеческого IgG2 дикого типа, константную область человеческого IgG4 дикого типа, константную область человеческого IgG1, содержащую аминокислотные замены L234A, L235A и G237A, константную область человеческого IgG1, содержащую аминокислотные замены L234A, L235A, G237A и P331S, или константную область человеческого IgG4, содержащую аминокислотную замену S228P, где нумерация соответствует индексу EU, как в Kabat. В некоторых вариантах осуществления положение аминокислотного остатка в

константной области молекулы иммуноглобулина нумеруется в соответствии с индексом EU, как в Kabat (*Ward et al., 1995 Therap. Immunol. 2:77-94*).

[0083] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут содержать константную область легкой цепи иммуноглобулина, которая представляет собой константную область легкой каппа-цепи или константную область легкой лямбда-цепи.

[0084] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 может содержать константную область иммуноглобулина, содержащую любую из аминокислотных последовательностей в таблице 15. Последовательности области Fc в таблице 15 начинаются с домена CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 может содержать константную область иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность области Fc IgG4 человека, IgG4 человека (S228P), IgG2 человека, IgG1 человека, IgG1 человека без эффекторной функции. Например, область Fc человеческого IgG4(S228P) содержит следующую замену по сравнению с областью Fc человеческого IgG4 дикого типа: S228P. Например, область Fc человеческого IgG1 без эффекторной функции содержит следующие замены по сравнению с областью Fc человеческого IgG1 дикого типа: L234A, L235A и G237A. В некоторых вариантах осуществления константная область иммуноглобулина может содержать мотив RDELТ (SEQ ID NO: 39) или мотив REEM (SEQ ID NO: 40) (подчеркнутый в таблице 15). Аллотип REEM (SEQ ID NO: 40) встречается в меньшей популяции людей, чем аллотип RDELТ (SEQ ID NO: 39). В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 может содержать константную область иммуноглобулина, содержащую любую из SEQ ID NO: 32-38. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 может содержать шесть аминокислотных последовательностей CDR любого из клонов в таблице 18 или 19 и любую из аминокислотных последовательностей области Fc в таблице 15. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 может содержать константную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую любую из аминокислотных последовательностей области Fc в таблице 15, и константную область легкой цепи иммуноглобулина, которая представляет собой константную область легкой каппа-цепи или константную область легкой лямбда-цепи.

[0085] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, причем указанное антитело содержит область VH, область VL и константную область тяжелой цепи, где (а) аминокислотная

последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; и константная область тяжелой цепи содержит любую из SEQ ID NO: 32-38; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; и константная область тяжелой цепи содержит любую из SEQ ID NO: 32-38.

[0086] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело содержит область VH, область VL и константную область тяжелой цепи, где (a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; и константная область тяжелой цепи включает константную область человеческого IgG4 дикого типа, константную область человеческого IgG4, содержащую аминокислотную замену S228P, константную область человеческого IgG2 дикого типа; константную область человеческого IgG1 дикого типа или константную область человеческого IgG1, содержащую аминокислотные замены L234A, L235A и G237A; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; и константная область тяжелой цепи включает любую из SEQ ID NO: 32-38; и константная область тяжелой цепи включает константную область человеческого IgG4 дикого типа, константную область человеческого IgG4, содержащую аминокислотную замену S228P, константную область человеческого IgG2 дикого типа; константную область человеческого IgG1 дикого типа или константную область человеческого IgG1, содержащую аминокислотные замены L234A, L235A и G237A.

[0087] В некоторых вариантах осуществления в данном документе представлено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, где антитело или антигенсвязывающая часть

содержат область VH и область VL, при этом (a) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1; аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; и константная область тяжелой цепи включает любую из SEQ ID NO: 32-38; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1; аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9; и константная область тяжелой цепи включает любую из SEQ ID NO: 32-38.

[0088] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 может не иметь иммунную эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть не индуцируют иммунную эффекторную функцию и, необязательно, подавляют иммунную эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 может не иметь измеримого связывания с рецепторами FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa и FcγRIIIb человека, но сохранять связывание с рецептором FcγRIIIb человека и необязательно поддерживать связывание с рецептором FcRn человека. FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa и FcγRIIIb являются примерами активирующих рецепторов. FcγRIIIb является примером ингибирующего рецептора. FcRn является примером рециклирующего рецептора. В некоторых вариантах осуществления аффинность связывания антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части с Fc-рецепторами человека можно измерить с помощью анализа BIACORE®. В некоторых вариантах осуществления гомогенную флуоресценцию с временным разрешением (HTRF) можно использовать для изучения связывания антитела к CD122 с Fc-рецепторами человека. В одном примере HTRF человеческий IgG1 (дикий тип) метят, как и полный набор Fc-гамма-рецепторов, а затем в конкурентном титровании используют антитела со сконструированными фрагментами Fc. В некоторых вариантах осуществления CD122-положительные клетки можно смешивать с человеческими лейкоцитами и антителами к CD122, и можно измерять уничтожение клеток с помощью CDC, ADCC и/или ADCP. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122, содержащее аминокислотную последовательность области Fc IgG1 человека (см. таблицу 15), не имеет эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122, содержащее аминокислотную последовательность области Fc IgG1 человека (см. таблицу 15), имеет эффекторную функцию.

[0089] Кроме того, в данном документе предложен иммуноконъюгат, содержащий антитело к CD122 или его антигенсвязывающую часть, связанные с терапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент представляет собой

цитотоксин, радиоизотоп, химиотерапевтический агент, иммуномодулирующий агент, цитостатический фермент, цитолитический фермент, терапевтическую нуклеиновую кислоту, антиангиогенный агент, антипролиферативный агент или проапоптотический агент.

[0090] Примеры подходящих терапевтических агентов включают, но не ограничиваются ими, иммуномодулирующие агенты, цитотоксины, радиоизотопы, химиотерапевтические агенты, антиангиогенные агенты, антипролиферативные агенты, проапоптотические агенты и цитостатические и цитолитические ферменты (например, РНКазы). Дополнительные терапевтические агенты включают терапевтическую нуклеиновую кислоту, такую как ген, кодирующий иммуномодулирующий агент, антиангиогенный агент, антипролиферативный агент или проапоптотический агент. Эти структурно-функциональные характеристики лекарственных средств не являются взаимоисключающими, и, таким образом, терапевтический агент может быть описан с использованием одного или более приведенных выше терминов.

[0091] Примеры подходящих терапевтических агентов для применения в иммуноконъюгатах включают, но не ограничиваются ими, ингибиторы JAK-киназы, таксаны, майтанзины, СС-1065 и дуокармицины, калихеамицины и другие энедиины и ауристатины. Другие примеры включают антифолаты, алкалоиды барвинка и антрациклины. Токсины растений, другие биологически активные белки, ферменты (например, АDEPT), радиоизотопы, фотосенсибилизаторы также могут быть использованы в иммуноконъюгатах. Кроме того, конъюгаты могут быть получены с использованием вторичных носителей в качестве цитотоксического агента, такого как липосомы или полимеры. Подходящие цитотоксины включают агент, который ингибирует или предотвращает функцию клеток и/или приводит к разрушению клеток. Репрезентативные цитотоксины включают антибиотики, ингибиторы полимеризации тубулина, алкилирующие агенты, которые связываются с ДНК и разрушают ее, и агенты, которые нарушают синтез белка или функцию основных клеточных белков, таких как протеинкиназы, фосфатазы, топоизомеразы, ферменты и циклины.

[0092] Репрезентативные цитотоксины включают, но не ограничиваются ими, доксорубин, даунорубин, идарубин, акларубин, зорубин, митоксантрон, эпирубин, карубин, ногаламицин, меногарил, питарубин, валрубин, цитарабин, гемцитабин, трифлуридин, анцитабин, эноцитабин, азациитидин, доксифлудин, пентостатин, броксудин, капецитабин, кладрибин, децитабин, флоксудин, флударабин,

гугеротин, пурамицин, тегафур, тиазофурин, адриамицин, цисплатин, карбоплатин, циклофосфамид, дакарбазин, винбластин, винкристин, митоксантрон, блеомицин, мехлорэтамин, преднизолон, прокарбазин, метотрексат, фторурацилы, этопозид, таксол, аналоги таксола, платины, такие как цис-платин и карбоплатин, митомицин, тиотепу, таксаны, винкристин, даунорубицин, эпирубицин, актиномицин, аутрамицин, азасерины, блеомицины, тамоксифен, идарубицин, доластатинины/ауристатины, гемиастерлины, эсперамицины и майтанзиноиды.

[0093] Подходящие иммуномодулирующие агенты включают антигормоны, которые блокируют действие гормонов на опухоли, и иммуносупрессивные агенты, которые подавляют продукцию цитокинов, подавляют экспрессию аутоантигенов или маскируют антигены МНС.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

[0094] Антитела к CD122 и антигенсвязывающие части, предложенные в данном документе (также называемые в данном документе «активными соединениями»), могут быть включены в фармацевтические композиции, подходящие для введения. Такие композиции, как правило, содержат антитело к CD122 или его антигенсвязывающую часть (или иммуноконъюгат, содержащий указанное антитело или его часть), и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент. Такие материалы должны быть нетоксичными и не должны влиять на эффективность антитела к CD122 или его антигенсвязывающего фрагмента. Точная природа носителя или другого материала будет зависеть от пути введения, которым может быть инъекция, болюс, инфузия или любой другой подходящий путь, как обсуждается ниже.

[0095] В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый» относится к молекулярным объектам и композициям, которые обычно не вызывают аллергических или других серьезных нежелательных реакций при введении способами, хорошо известными в данной области техники. Молекулярные соединения и композиции, одобренные регулирующим органом федерального правительства или правительства штата или перечисленные в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения у животных и, в частности, у людей, считаются «фармацевтически приемлемыми». В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый носитель» предназначен для включения любых и всех растворителей, дисперсионных сред, покрывающих соединений, антибактериальных и противогрибковых агентов,

изотонических и задерживающие абсорбцию средств и т. п., совместимых с фармацевтическим введением. Подходящие носители описаны в последнем издании Remington Pharmaceutical Sciences, стандартный справочный текст в данной области техники, который включен в данный документ посредством ссылки. Некоторые примеры таких носителей или разбавителей включают, но не ограничиваются ими, воду, солевой раствор, растворы Рингера, раствор декстрозы и 5% сывороточный альбумин человека. Также могут быть использованы липосомы и неводные носители, такие как нелетучие масла. Использование таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ известно в данной области техники. За исключением случаев, когда какой-либо обычный носитель или агент несовместим с активным соединением, предполагается его применение в композициях. Также в композиции могут быть включены дополнительные активные соединения. Фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент может представлять собой соединение или комбинацию соединений, которые не вызывают вторичных реакций и позволяют, например, облегчить введение антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, увеличить продолжительность его жизни и/или его эффективность в организме или повышение его растворимости в растворе.

[0096] В данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая (i) антитело к CD122 или его антигенсвязывающую часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; и (ii) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

[0097] В данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая (i) антитело к CD122 или его антигенсвязывающую часть, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; или (b)

аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9; и (ii) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

[0098] Фармацевтическая композиция, описанная в данном документе, может быть составлена таким образом, чтобы быть совместимой с ее предполагаемым путем введения. Примеры путей введения включают парентеральное, например, внутривенное, внутрискожное, подкожное, пероральное (например, ингаляционное), чрескожное (т.е. местное), чресслизистое и ректальное введение. Растворы или суспензии, применяемые для парентерального, внутрискожного или подкожного применения, могут включать следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический раствор, жирные масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфат натрия; хелатирующие средства, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА); буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты; и средства для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. Значение pH можно регулировать с помощью кислот или оснований, таких как соляная кислота или гидроксид натрия. Препарат для парентерального применения может быть заключен в ампулы, одноразовые шприцы или сосуды для нескольких доз из стекла или пластмассы.

[0099] Фармацевтические композиции, подходящие для инъекции, включают в себя стерильные водные растворы (в случае растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий для немедленного приема. Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, Stemophor EL[®] (BASF, Парсиппани, Нью-Джерси) или фосфатно-солевой буфер (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, что она должна легко выходить из шприца. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибки. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащие, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль, и т. п.) и их подходящие смеси. Надлежащую сыпучесть можно поддерживать, например, путем применения покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и путем применения

поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов можно обеспечить с помощью различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т. п. Во многих случаях будет предпочтительнее включать в композицию изотонические агенты, например, сахара, многоатомные спирты, такие как маннит, сорбит, хлорид натрия. Пролонгированное всасывание инъекционных композиций можно обеспечить путем включения в композицию агента, замедляющего всасывание, например, моностеарата алюминия и желатина.

[0100] Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены путем включения активного соединения в необходимом количестве в подходящем растворителе с одним или несколькими ингредиентами, перечисленными выше, по мере необходимости, с последующей стерилизацией фильтрацией. В общем случае дисперсии готовят путем включения активного соединения в стерильный исходный раствор, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных инъекционных растворов способами приготовления являются вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые приводят к получению порошка активного ингредиента плюс любой дополнительный активный ингредиент из его ранее стерильно-профильтрованного раствора.

[0101] Композиции для перорального введения обычно включают инертный разбавитель или съедобный носитель. Их можно заключать в желатиновые капсулы или прессовать в таблетки. В целях перорального терапевтического введения активное соединение можно включать вместе с эксципиентами и использовать в форме таблеток, пастилок или капсул. Пероральные композиции также можно готовить, используя жидкий носитель для применения в виде ополаскивателя для рта, при этом соединение в жидком носителе применяется перорально с полосканием и выплевыванием или глотанием. Фармацевтически совместимые связывающие средства и/или вспомогательные материалы могут быть включены в виде части композиции. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т. п. могут содержать любой из следующих ингредиентов или соединения схожей природы: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакантовая камедь или желатин; вспомогательное вещество, такое как крахмал или лактоза, разрыхлитель, такой как альгиновая кислота, Primojel[®], или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния; глидант, такой как коллоидный диоксид кремния; подсластитель,

такой как сахароза или сахарин; или ароматизатор, такой как перечная мята, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор.

[0102] Для введения путем ингаляции соединения могут быть доставлены в виде аэрозольного спрея из контейнера под давлением или дозатора, который содержит подходящий газ-вытеснитель, например, газ, такой как диоксид углерода, или распылитель.

[0103] Системное введение также может осуществляться трансмукозальными или трансдермальными средствами. В случае трансмукозального или трансдермального введения в составе используются пенетранты, подходящие для проникновения через барьер. Такие смачивающие вещества обычно известны в данной области техники, и включают в себя, например, вещества для введения через слизистую, детергенты, соли желчных кислот и производные фусидовой кислоты. Трансмуккозальное введение можно осуществлять путем использования назальных спреев или суппозиторияев. Для трансдермального введения активные соединения составляют в виде мазей, бальзамов, гелей или кремов, как в целом известно в данной области техники.

[0104] Фармацевтические агенты также могут быть приготовлены в форме суппозиторияев (например, с обычными основами суппозиторияев, такими как масло какао и другие глицериды) или ретенционных клизм для ректального введения.

[0105] В некоторых вариантах осуществления активное соединение получают с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого выведения из организма, такими как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микрокапсулированные системы доставки. Можно применять биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфир и полимолочная кислота. Способы приготовления таких композиций будут очевидны специалистам в данной области техники. Материалы также можно приобрести в коммерческих целях. Липосомальные суспензии также можно использовать в качестве фармацевтически приемлемых носителей.

[0106] В особенности предпочтительно составлять композиции для перорального или парентерального введения в единичной дозированной форме для простоты введения и постоянства дозы. В контексте данного документа единичная дозированная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных дозировок для подлежащего лечению субъекта; каждая единица содержит predetermined количество активного соединения, рассчитанное так, чтобы оказывать

необходимый терапевтический эффект, вместе с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификации для единичных дозированных форм согласно данному изобретению обусловлены и напрямую зависят от уникальных характеристик активного соединения и конкретного достигаемого терапевтического действия, и ограничений, свойственных области техники составления соединений, например, активного соединения для лечения субъектов.

[0107] В некоторых вариантах осуществления антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть могут быть предоставлены в лиофилизированной форме для восстановления перед введением. Например, лиофилизированные молекулы антител могут быть восстановлены в стерильной воде и смешаны с солевым раствором перед введением индивиду.

[0108] Фармацевтические композиции, представленные в настоящем документе, могут быть включены в контейнер, упаковку или дозатор вместе с инструкциями по применению.

МОЛЕКУЛЫ НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ВЕКТОРЫ, КЛЕТКИ-ХОЗЯЕВА И СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИТЕЛ

[0109] В данном документе представлена молекула нуклеиновой кислоты (например, выделенная молекула нуклеиновой кислоты), кодирующая аминокислотную последовательность антитела к CD122 или антигенсвязывающей части антитела к CD122, описанную в данном документе (или аминокислотную последовательность (i) области VH, (ii) области VL или (iii) как области VH, так и области VL антитела или его антигенсвязывающей части). Кроме того, в данном документе представлена молекула нуклеиновой кислоты (например, выделенная молекула нуклеиновой кислоты), кодирующая (i) тяжелую цепь, (ii) легкую цепь или (iii) как тяжелую, так и легкую цепь антитела к CD122 или антигенсвязывающей части антитела к CD122, которые описаны в данном документе. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая область VH, область VL, тяжелую цепь или легкую цепь, содержит сигнальную последовательность. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая область VH, область VL, тяжелую цепь или легкую цепь, не содержит сигнальную последовательность.

[0110] В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует аминокислотную последовательность области VH и области VL антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где: (a) аминокислотная последовательность области VH

содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты дополнительно кодирует аминокислотную последовательность каркасной области человека.

[0111] В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты кодирует аминокислотную последовательность области VH и области VL антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где (a) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9.

[0112] Также в данном документе предложен вектор экспрессии, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты, описанную в данном документе. В определенных векторах молекула нуклеиновой кислоты функционально связана с одной или более регуляторными последовательностями, подходящими для экспрессии сегмента нуклеиновой кислоты в клетке-хозяине. В некоторых случаях вектор экспрессии содержит последовательности, которые опосредуют репликацию, и содержит один или более селективируемых маркеров. В контексте данного документа термин «вектор» означает конструкцию, которая способна доставлять и, предпочтительно, экспрессировать один или более представляющих интерес генов или последовательностей в клетке-хозяине. Примеры векторов включают, но не ограничиваются ими, вирусные векторы, векторы экспрессии голой ДНК или РНК, векторы плазмид, космид или фагов, векторы экспрессии ДНК или РНК, связанные с катионными конденсирующими агентами, векторы экспрессии ДНК или РНК, инкапсулированные в липосомы, и некоторые эукариотические клетки, такие как клетки-продуценты.

[0113] В данном документе предложена рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии или молекулу нуклеиновой кислоты, описанные в данном документе. «Клетка-хозяин» включает отдельную клетку, линию клеток или культуру клеток, которая

может быть или была реципиентом для вектора(-ов) для включения полинуклеотидных вставок. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина. Потомство не обязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке из-за естественной, случайной или преднамеренной мутации. Вектор экспрессии может быть трансфицирован в клетку-хозяин стандартными методами. Неограничивающие примеры включают электропорацию, преципитацию фосфатом кальция, трансфекцию DEAE-декстраном и т.п. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантная клетка-хозяин содержит один вектор или одну молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую как область VH, так и область VL антитела к CD122 или его антигенсвязывающую часть. В некоторых вариантах осуществления рекомбинантная клетка-хозяин содержит (i) первый вектор или первую молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую область VH антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, и (ii) второй вектор или вторую молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую область VL антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части.

[0114] Молекулы антител по изобретению или их антигенсвязывающая часть могут быть получены с использованием методов, хорошо известных в данной области технологий, например, рекомбинантных технологий, технологий фагового дисплея, синтетических технологий, вычислительных технологий или комбинаций таких технологий или других технологий, хорошо известных в данной области техники.

[0115] Кроме того, в данном документе предложен способ получения антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, включающий: культивирование рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии, описанный в данном документе, в условиях, при которых сегмент нуклеиновой кислоты экспрессируется, тем самым продуцируя антитело к CD122-антитело или его антигенсвязывающую часть. Затем антитело или его антигенсвязывающая часть могут быть выделены из клетки-хозяина или культуры. Антитела к CD122 и их антигенсвязывающие части могут быть получены любым из множества способов, известных специалистам в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления антитела к CD122 и их антигенсвязывающие части могут быть получены рекомбинантным путем. Например, последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие одну или более из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 18, или их части могут быть введены в бактериальную клетку (например, *E. coli*, *B. subtilis*) или эукариотическую клетку (например, дрожжи, такие как *S. cerevisiae*, или клетки

млекопитающих, такие как линия клеток СНО, различные линии клеток Cos, клетки HeLa, клетки НЕК293, различные клеточные линии миеломы или трансформированные В-клетки или гибридомы), или в систему трансляции *in vitro*, а транслируемый полипептид может быть выделен. В некоторых вариантах осуществления белки легкой цепи и белки тяжелой цепи антитела продуцируются в клетке с сигнальной последовательностью, которая удаляется при продукции зрелого антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части.

[0116] Специалисты в данной области смогут определить, связывается ли антитело или его антигенсвязывающая часть, которые содержат данную полипептидную последовательность, с белком CD122, без лишнего экспериментирования, используя стандартные методики, например, вестерн-блоттинг, ELISA и т.п.

[0117] В данном документе предложен способ получения антитела, которое специфически связывается с CD122 человека и необязательно также с CD122 яванского макака и/или макаки-резуса, или его антигенсвязывающей части, включающий стадии:

(1) трансплантация CDR к CD122 из источника, отличного от человека, в каркас V-домена человека с получением молекулы гуманизированного антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части;

(2) создание библиотеки клонов молекулы гуманизированного антитела к CD122 или ее антигенсвязывающей части, содержащей одну или более мутаций в CDR;

(3) скрининг библиотеки на связывание с CD122 человека и необязательно также с CD122 яванского макака и/или макаки-резуса;

(4) отбор клонов на стадии скрининга (3), обладающих специфичностью связывания с CD122 человека и необязательно также с CD122 яванского макака и/или макаки-резуса, но со сниженным связыванием или отсутствием связывания с ВСАМ человека, СІLP2 человека или нейдезином человека; и

(5) получение молекулы антитела, которое специфически связывается с CD122 человека и необязательно также с CD122 яванского макака и/или макаки-резуса, или его антигенсвязывающей части из клонов, выбранных на стадии (4).

[0118] Способ может включать дополнительную стадию получения дополнительных клонов на основе клонов, отобранных на стадии (4), например, на основе дополнительного исследовательского мутагенеза в определенных положениях CDR клонов, отобранных на стадии (4), для усиления гуманизации и/или минимизации содержания человеческих Т-

клеточных эпитопов и/или улучшения производственных свойств молекулы антитела или его антигенсвязывающей части, полученной на стадии (5).

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИТЕЛ

[0119] В данном документе представлены способы и применения антител к CD122, антигенсвязывающих частей к CD122, иммуноконъюгатов и фармацевтических композиций, описанных в данном документе, для обеспечения терапевтического эффекта у субъекта с иммуноопосредованным заболеванием или нарушением.

[0120] В данном документе предложен способ подавления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела, антигенсвязывающей части, иммуноконъюгата или фармацевтической композиции, описанных в данном документе. В данном документе предложен способ подавления иммунного ответа (например, иммунного ответа, опосредованного CD122-положительными клетками) у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, при этом антитело или его антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15. В данном документе предложен способ подавления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, при этом антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ опосредован CD122.

[0121] В данном документе предложен способ подавления индуцированной IL-15 миграции Т-клеток из кожи (например, кожи человека), включающий приведение в контакт с кожей терапевтически эффективного количества антитела, антигенсвязывающей части, иммуноконъюгата или фармацевтической композиции, описанной в данном документе. В данном документе предложен способ подавления индуцированной IL-15 миграции Т-клеток из кожи (например, кожи человека), включающий приведение в контакт кожи с терапевтически эффективным количеством антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где антитело или его антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (а) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15. В данном документе предложен способ подавления индуцированной IL-15 миграции Т-клеток из кожи (например, кожи человека), включающий приведение в контакт кожи с терапевтически эффективным количеством антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где антитело или его антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (а) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки представляют собой CD8+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления Т-клетки представляют собой CD4+ Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления кожа представляет собой кожу субъекта, имеющего заболевание или нарушение, ассоциированное со сверхэкспрессией CD122 или экспрессией CD122 на клетках, которые в норме не экспрессируют CD122.

[0122] Антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, как описано в данном документе, можно использовать в способе лечения человека или животного, включая профилактическое или превентивное лечение (например, лечение до дебюта патологического состояния у субъекта для снижения риска патологического состояния,

возникающего у субъекта; отсрочить его дебют или уменьшить его степень тяжести после дебюта). Способ лечения может включать введение антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части субъекту, нуждающемуся в этом. В данном документе предложен способ лечения или профилактики заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела, антигенсвязывающей части, иммуноконъюгата или фармацевтической композиции, описанных в данном документе.

[0123] В данном документе предложен способ лечения или предупреждения заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15. В данном документе предложен способ лечения или предупреждения заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где антитело или антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9.

[0124] В данном документе предложен способ облегчения, лечения или уменьшения степени тяжести симптома заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где антитело или его антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO:

7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15. В данном документе предложен способ облегчения, лечения или уменьшения степени тяжести симптома заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, где антитело или его антигенсвязывающая часть содержат область VH и область VL, где: (a) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 17; или (b) аминокислотная последовательность области VH содержит или состоит из SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL содержит или состоит из SEQ ID NO: 9.

[0125] В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение связано со сверхэкспрессией CD122 или экспрессией CD122 на клетках, которые в норме не экспрессируют CD122. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение опосредуется CD122.

[0126] В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой витилиго, целиакию, диабет 1 типа, рассеянный склероз, болезнь «трансплантат против хозяина», системную красную волчанку, псориаз, атопический дерматит, очаговую алопецию, язвенный колит или ревматоидный артрит.

[0127] В некоторых вариантах осуществления область VH, область VL или как область VH, так и область VL антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, используемые в способах, предложенных в данном документе, содержат одну или более аминокислотных последовательностей каркасной области человека.

[0128] В контексте данного документа термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству фармацевтического агента, например, антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, которое

достаточно для снижения или облегчения степени тяжести и/или продолжительности заболевания, например, витилиго, целиакии, диабета 1 типа, рассеянного склероза, реакции «трансплантат против хозяина», системной красной волчанки, псориаза, атопического дерматита, очаговой алопеции, язвенного колита или ревматоидного артрита, или одного или более его симптомов, предотвращать прогрессирование заболевания, вызывать регресс заболевания, предотвращать рецидив, развитие, дебют или прогрессирование одного или более симптомов, ассоциированных с заболеванием, выявлять заболевание или усиливать или улучшать профилактические или терапевтический эффект(-ы) другой родственной терапии (например, профилактического или терапевтического агента) для CD122-опосредованного заболевания.

[0129] Фактическое вводимое количество, а также скорость и продолжительность введения будут зависеть от характера и степени тяжести того, что лечится, от конкретного млекопитающего, которое подлежит лечению, клинического состояния отдельного пациента, причины нарушения, места доставки композиции, способа введения, схемы введения и других факторов, известных практикующим врачам. Назначение лечения, т.е. решения о дозировке и т. д. находятся в сфере ответственности врачей общей практики и других врачей и могут зависеть от степени тяжести симптомов и/или прогрессирования заболевания, которое лечат. Соответствующие дозы молекул антител хорошо известны в данной области техники (Ledermann J.A. *et al.*, 1991, *Int. J. Cancer* 47: 659-664; Bagshawe K.D. *et al.*, 1991, *Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals* 4: 915-922). Конкретные дозировки могут быть указаны в данном документе или в *Настольном справочнике врача* (2003) в зависимости от типа вводимого лекарственного препарата. Терапевтически эффективное количество или подходящая доза молекулы антитела может быть определена путем сравнения его активности *in vitro* и активности *in vivo* на животной модели. Известны способы экстраполяции эффективных доз мышей и других подопытных животных на человека. Точная доза будет зависеть от ряда факторов, в том числе от того, предназначено ли антитело для профилактики или для лечения, размера и расположения обрабатываемой области, точной природы антитела (например, полное антитело, фрагмент) и природы любой обнаруживаемой метки или другой молекулы, присоединенной к антителу.

[0130] Типичная доза антитела будет находиться в диапазоне от 100 мкг до 1 г для системного применения и от 1 мкг до 1 мг для внутривенной инъекции. Может быть введена начальная более высокая нагрузочная доза, за которой следует одна или несколько

более низких доз. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полное антитело, например, изоформа IgG1 или IgG4. Это доза для однократного лечения взрослого субъекта, которая может быть пропорционально скорректирована для детей и младенцев, а также скорректирована для других форматов антител пропорционально молекулярной массе. Лечение можно повторять ежедневно, два раза в неделю, еженедельно или ежемесячно по усмотрению врача. Схема лечения субъекта может зависеть от фармакокинетических и фармакодинамических свойств композиции антител, пути введения и природы патологического состояния, подвергаемого лечению.

[0131] Лечение может быть периодическим, и период между введениями может составлять около двух недель или более, например, около трех недель или более, около четырех недель или более, около одного раза в месяц или более, около пяти недель или более или около шести недель или более. Например, лечение может проводиться каждые две-четыре недели или каждые четыре-восемь недель. Лечение можно назначать до и/или после операции и/или можно назначать или применять непосредственно на анатомическом участке хирургического лечения или инвазивной процедуры. Подходящие составы и пути введения описаны выше.

[0132] В некоторых вариантах осуществления молекулы антитела к CD122 и их антигенсвязывающие части, как описано в данном документе, можно вводить в виде подкожных инъекций. Подкожные инъекции можно вводить с помощью автоинжектора, например, для долгосрочной профилактики/лечения.

[0133] В некоторых вариантах осуществления терапевтический эффект антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части может сохраняться в течение нескольких периодов полужизни в зависимости от дозы. Например, терапевтический эффект однократной дозы антител к CD122 или его антигенсвязывающей части может сохраняться у субъекта в течение 1 месяца или более, 2 месяцев или более, 3 месяцев или более, 4 месяцев или более, 5 месяцев и более или 6 месяцев и более.

[0134] В некоторых вариантах осуществления субъект может получать лечение антителом к CD122 или антигенсвязывающей частью к CD122, иммуноконъюгатом или фармацевтической композицией, описанными в данном документе, и дополнительным терапевтическим агентом или терапией, которые используются для лечения опосредованного CD122 заболевания или нарушения, или симптома, или осложнения опосредованного CD122 заболевания или нарушения. Антитело к CD122 или

антигенсвязывающая часть к CD122 и дополнительный терапевтический агент или терапия могут вводиться одновременно или последовательно.

[0135] В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой человека, отличного от человека примата, свинью, лошадь, корову, собаку, кошку, морскую свинку, мышь или крысу. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой взрослого человека. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой ребенка.

[0136] Кроме того, в данном документе предложено антитело к CD122 или антигенсвязывающая часть к CD122, иммуноконъюгат или фармацевтическая композиция, описанные в данном документе, для применения в лечении заболевания или нарушения.

[0137] В данном документе предложено антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть к CD122, иммуноконъюгат или фармацевтическая композиция, описанные в данном документе, для применения в качестве лекарственного препарата.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0138] Если не указано иное, термины, используемые в данном документе, имеют определения, обычно используемые в данной области техники. Некоторые термины определены ниже, а дополнительные определения можно найти в остальной части подробного описания.

[0139] Форма единственного числа относится к одному или более такому компоненту, т. е. может относиться к некоторому числу объектов. Следовательно, форма единственного числа, а также выражения «один или более» и «по меньшей мере один» взаимозаменяемо используются в данном документе. Кроме того, отсылка к «элементу», указанному в единственном числе, не исключает возможности присутствия более одного элемента, если из контекста четко не следует наличие одного и только одного элемента.

[0140] В данной заявке термин «приблизительно» используется для обозначения того, что значение включает в себя собственную вариацию ошибки, присущую устройству или методу, используемому для определения значения, или вариацию, имеющуюся между измеряемыми образцами. Если не указано иное или иное не очевидно из контекста, термин «около» означает в пределах 10% выше или ниже указанного числового значения (за исключением случаев, когда такое число превысит 100% возможного значения или опустится ниже 0%). При использовании в сочетании с диапазоном или рядом значений термин «около» применяется к конечным точкам диапазона или каждого из значений,

перечисленных в ряду, если не указано иное. При использовании в данной заявке термины «около» и «приблизительно» используются в качестве эквивалентов.

[0141] В контексте данного документа термин «идентичность последовательностей» относится к степени, в которой два оптимально выровненных полинуклеотида или полипептидные последовательности являются инвариантными в пределах окна выравнивания остатков, например, нуклеотидов или аминокислот. «Доля идентичности» для выровненных сегментов исследуемой последовательности и эталонной последовательности представляет собой количество идентичных остатков, которые являются общими для двух выровненных последовательностей, деленное на общее количество остатков в сегменте эталонной последовательности, т.е. всей эталонной последовательности или меньшей определенной части эталонной последовательности. «Процентная идентичность» представляет собой долю идентичности, умноженную на 100. Процентную идентичности можно рассчитать с помощью программы выравнивания Clustal Omega, доступной по адресу ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo, с параметрами по умолчанию. См., Sievers et al., «Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega» (2011 October 11) *Molecular systems biology* 7:539. Для целей вычисления идентичности последовательности удлинения, такие как метки, не включаются.

[0142] В контексте данного документе термин «HCDR» относится к определяющей комплементарности области тяжелой цепи. В контексте данного документе термин «LCDR» относится к определяющей комплементарности области легкой цепи.

[0143] В контексте данного документе термин «консервативная замена» относится к замене аминокислоты другой аминокислотой, которая не приводит к значительному вредному изменению функциональной активности. Предпочтительным примером «консервативной замены» является замена одной аминокислоты другой аминокислотой, которая имеет значение ≥ 0 в следующей матрице замен BLOSUM 62 (см. Henikoff & Henikoff, 1992, *PNAS* 89: 10915-10919):

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4	-1	-2	-2	0	-1	-1	0	-2	-1	-1	-1	-2	-1	1	0	-3	-2	0	
R	-1	5	0	-2	-3	1	0	-2	0	-3	-2	2	-1	-3	-2	-1	-1	-3	-2	-3
N	-2	0	6	1	-3	0	0	0	1	-3	-3	0	-2	-3	-2	1	0	-4	-2	-3
D	-2	-2	1	6	-3	0	2	-1	-1	-3	-4	-1	-3	-3	-1	0	-1	-4	-3	-3

C 0 -3 -3 -3 9 -3 -4 -3 -3 -1 -1 -3 -1 -2 -3 -1 -1 -2 -2 -1
Q -1 1 0 0 -3 5 2 -2 0 -3 -2 1 0 -3 -1 0 -1 -2 -1 -2
E -1 0 0 2 -4 2 5 -2 0 -3 -3 1 -2 -3 -1 0 -1 -3 -2 -2
G 0 -2 0 -1 -3 -2 -2 6 -2 -4 -4 -2 -3 -3 -2 0 -2 -2 -3 -3
H -2 0 1 -1 -3 0 0 -2 8 -3 -3 -1 -2 -1 -2 -1 -2 -2 2 -3
I -1 -3 -3 -3 -1 -3 -3 -4 -3 4 2 -3 1 0 -3 -2 -1 -3 -1 3
L -1 -2 -3 -4 -1 -2 -3 -4 -3 2 4 -2 2 0 -3 -2 -1 -2 -1 1
K -1 2 0 -1 -3 1 1 -2 -1 -3 -2 5 -1 -3 -1 0 -1 -3 -2 -2
M -1 -1 -2 -3 -1 0 -2 -3 -2 1 2 -1 5 0 -2 -1 -1 -1 -1 1
F -2 -3 -3 -3 -2 -3 -3 -3 -1 0 0 -3 0 6 -4 -2 -2 1 3 -1
P -1 -2 -2 -1 -3 -1 -1 -2 -2 -3 -3 -1 -2 -4 7 -1 -1 -4 -3 -2
S 1 -1 1 0 -1 0 0 0 -1 -2 -2 0 -1 -2 -1 4 1 -3 -2 -2
T 0 -1 0 -1 -1 -1 -1 -2 -2 -1 -1 -1 -1 -2 -1 1 5 -2 -2 0
W -3 -3 -4 -4 -2 -2 -3 -2 -2 -3 -2 -3 -1 1 -4 -3 -2 11 2 -3
Y -2 -2 -2 -3 -2 -1 -2 -3 2 -1 -1 -2 -1 3 -3 -2 -2 2 7 -1
V 0 -3 -3 -3 -1 -2 -2 -3 -3 3 1 -2 1 -1 -2 -2 0 -3 -1 4.

[0144] «Конъюгат антители-лекарственное средство» и «иммуноконъюгат» относятся к молекуле антитела или его антигенсвязывающей части, включая производные антитела, которые связываются с CD122 и конъюгированы с цитотоксическими, цитостатическими и/или терапевтическими агентами.

[0145] Термин «выделенная молекула» (где молекула представляет собой, например, полипептид, полинуклеотид или антитело) представляет собой молекулу, которая в силу своего происхождения или источника происхождения (1) не связана с природными компонентами, сопровождающими ее в нативном состоянии, (2) по существу свободна от других молекул того же вида (3) экспрессируется клеткой другого вида, или (4) не встречается в природе. Таким образом, молекула, которая химически синтезирована или экспрессирована в клеточной системе, отличной от клетки, из которой она происходит в природе, будет «выделена» от ассоциированных с ним природных компонентов. Молекула также может быть по существу освобождена от природных ассоциированных компонентов путем выделения с использованием методов очистки, хорошо известных в данной области техники. Молекулярная чистота или гомогенность могут быть проанализированы рядом способов, хорошо известных в данной области техники. Например, чистоту образца полипептида можно проанализировать с помощью электрофореза в полиакриламидном геле и окрашивания геля для визуализации полипептида с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. Для определенных целей более высокое

разрешение может быть обеспечено с использованием ВЭЖХ или других способов очистки, хорошо известных в данной области техники.

[0146] Термин «эпитоп» относится к той части молекулы, которая способна распознаваться и связываться с молекулой антитела, или ее антигенсвязывающей частью в одном или более антигенсвязывающих областях молекулы антитела. Эпитопы могут состоять из определенных областей первичной вторичной или третичной структуры белка и включают комбинации вторичных структурных единиц или структурных доменов мишени, распознаваемой антигенсвязывающими областями антитела или его антигенсвязывающей частью. Эпитопы также могут состоять из определенной химически активной поверхностной группы молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахаров, и обладают определенными трехмерными структурными характеристиками, а также специфическими характеристиками заряда. В контексте данного документа термин «антигенный эпитоп» определяется как часть полипептида, с которой молекула антитела может специфически связываться, что определяется любым методом, хорошо известным в данной области техники, например, с помощью обычных иммуноанализов, анализов конкурентного связывания антител или с помощью рентгеновской кристаллографии или родственных методов определения структуры (например, спектроскопия ядерного магнитного резонанса).

[0147] Термин «активность» представляет собой измерение биологической активности и может обозначаться как IC_{50} , EC_{50} или эффективная концентрация антитела или конъюгата антитело-лекарственное средство к антигену CD122 для ингибирования 50% активности, измеренной в анализе активности CD122, как описано в данном документе.

[0148] Термин «ингибировать» или «нейтрализовать», используемый в данном документе в отношении биологической активности антитела, описанного в данном документе, означает способность антитела существенно антагонизировать, запрещать, предотвращать, сдерживать, замедлять, нарушать, устранять, останавливать, уменьшать или обращать вспять, например, прогрессирование или тяжесть того, что ингибируется, включая, но не ограничиваясь этим, биологическую активность или связывающее взаимодействие молекулы антитела к CD122.

[0149] В настоящем описании любой диапазон концентрации, процентный диапазон, диапазон отношения или целочисленный диапазон следует понимать как включающий значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, части целого

числа (например, одна десятая и одна сотая часть целого числа), если не указано иное. Использование альтернативы (*например*, «или») следует понимать как означающее один из вариантов, оба варианта или любую из комбинаций в качестве альтернативы. В данном документе термины «включает» и «содержит» используются как синонимы.

[0150] Заголовки разделов, используемые в данном описании, предназначены только для организационных целей и не должны толковаться как ограничивающие описанный предмет.

[0151] Все документы или части документов, приведенные в данном документе, в том числе, без ограничения, патенты, заявки на патент, статьи, книги и научные труды включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте для любой цели. В случае, если один или большее количество из включенных документов или частей документов определяют термин, который противоречит определению этого термина в приложении, определение, приведенное в данной заявке, является превалирующим. Однако упоминание любых ссылок, статей, публикаций, патентов, патентных публикаций и патентных заявок, цитируемых в данном документе не является и не должно восприниматься как признание или любая форма предположения, что они составляют действительный уровень техники или образуют часть общедоступных сведений в любой стране мира.

[0152] Любой из аспектов и вариантов осуществления, описанных в данном документе, может быть объединен с любым другим аспектом или вариантом осуществления, описанным в данном документе в кратком описании сущности изобретения, на фигурах и/или в подробном описании сущности изобретения, включая приведенные ниже конкретные, не ограничивающие примеры/варианты осуществления настоящего изобретения.

ПРОНУМЕРОВАННЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0153] Несмотря на прилагаемую формулу изобретения, в данном изобретении представлены следующие пронумерованные варианты осуществления:

[0154] 1. Антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, отличающиеся тем, что антитело или антигенсвязывающая часть содержат переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), где:

(a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или

(b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

[0155] 2. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 1, отличающиеся тем, что

(a) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 17; или

(b) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 9.

[0156] 3. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 1 или 2, отличающиеся тем, что антитело или антигенсвязывающая часть являются гуманизированными или химерными.

[0157] 4. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-3, отличающиеся тем, что область VH, область VL или как область VH, так и область VL содержат одну или более аминокислотных последовательностей каркасной области человека.

[0158] 5. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-4, отличающиеся тем, что область VH, область VL или как область VH, так и область VL содержат аминокислотную последовательность каркаса переменной области человека, в которую были вставлены аминокислотные последовательности CDR.

[0159] 6. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1 и 3-5, отличающиеся тем, что область VH содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGHV3-23, в которую были вставлены аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3.

[0160] 7. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1 и 3-6, отличающиеся тем, что область VL содержит аминокислотную

последовательность каркаса зародышевой линии человека IGKV1-33, в которую были вставлены аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3.

[0161] 8. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-7, отличающиеся тем, что антитело содержит константную область иммуноглобулина.

[0162] 9. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 8, отличающиеся тем, что константная область иммуноглобулина относится к IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY.

[0163] 10. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 9, отличающиеся тем, что константная область иммуноглобулина относится к IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2.

[0164] 11. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 8, отличающиеся тем, что константная область иммуноглобулина является иммунологически инертной.

[0165] 12. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 8, отличающиеся тем, что константная область иммуноглобулина представляет собой константную область IgG4 человека дикого типа, константную область IgG4 человека, содержащую аминокислотную замену S228P, константную область IgG1 человека дикого типа, константную область IgG1 человека, содержащую аминокислотные замены L234A, L235A и G237A, или константную область человеческого IgG2 дикого типа, где нумерация соответствует индексу EU, как в Kabat.

[0166] 13. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 8, отличающиеся тем, что константная область иммуноглобулина содержит любую из SEQ ID NO: 32-38.

[0167] 14. Антитело или антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-13, отличающиеся тем, что антитело или антигенсвязывающая часть представляет собой Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, макситело, миниантитело, диатело, триатело, тетратело или бис-scFv.

[0168] 15. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-14, отличающиеся тем, что антитело является моноклональным.

[0169] 16. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-15, отличающиеся тем, что антитело представляет собой тетрамерное антитело, четырехвалентное антитело или полиспецифическое антитело.

[0170] 17. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-16, отличающиеся тем, что антитело представляет собой биспецифическое антитело, которое специфически связывается с первым антигеном и вторым антигеном, причем первый антиген представляет собой CD122, а второй антиген не представляет собой CD122.

[0171] 18. Иммуноконъюгат, содержащий антитело или его антигенсвязывающую часть по любому из вариантов осуществления 1-17, связанные с терапевтическим агентом.

[0172] 19. Иммуноконъюгат по варианту осуществления 18, отличающийся тем, что терапевтический агент представляет собой цитотоксин, радиоизотоп, химиотерапевтический агент, иммуномодулирующий агент, цитостатический фермент, цитолитический фермент, терапевтическую нуклеиновую кислоту, антиангиогенный агент, антипролиферативный агент или проапоптотический агент.

[0173] 20. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающую часть по любому из вариантов осуществления 1-17 или иммуноконъюгат по варианту осуществления 18 или 19 и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.

[0174] 21. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая

(a) аминокислотную последовательность области VH;

(b) аминокислотную последовательность области VL; или

(c) аминокислотные последовательности как области VH, так и области VL

антитела или его антигенсвязывающей части по любому из вариантов осуществления 1-17.

[0175] 22. Вектор экспрессии, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 21.

[0176] 23. Рекombинантная клетка-хозяин, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 21 или вектор экспрессии по варианту осуществления 22.

[0177] 24. Способ получения антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, включающий: культивирование рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор

экспрессии по варианту осуществления 22, в условиях, при которых молекула нуклеиновой кислоты экспрессируется, тем самым продуцируя антитело или антигенсвязывающую часть; и выделение антитела или его антигенсвязывающей части из клетки-хозяина или культуры.

[0178] 25. Способ подавления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающей части по любому из вариантов осуществления 1-17, иммуноконъюгата по варианту осуществления 18 или 19 или фармацевтической композиции по варианту осуществления 20.

[0179] 26. Способ по варианту осуществления 25, отличающийся тем, что иммунный ответ опосредован CD122.

[0180] 27. Способ лечения или профилактики заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающей части по любому из вариантов осуществления 1-17, иммуноконъюгата по варианту осуществления 18 или 19 или фармацевтической композиции по варианту осуществления 20.

[0181] 28. Способ по варианту осуществления 27, отличающийся тем, что заболевание представляет собой воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание.

[0182] 29. Способ согласно варианту осуществления 27, отличающийся тем, что заболевание представляет собой витилиго, целиакию, диабет 1 типа, рассеянный склероз, болезнь «трансплантат против хозяина», системную красную волчанку, псориаз, атопический дерматит, очаговую алопецию, язвенный колит или ревматоидный артрит.

[0183] 30. Способ подавления индуцированной IL-15 миграции Т-клеток из кожи, включающий приведение в контакт кожи с терапевтически эффективным количеством антитела или антигенсвязывающей части по любому из вариантов осуществления 1-17, иммуноконъюгата по варианту осуществления 18 или 19 или фармацевтической композиции по варианту осуществления 20.

[0184] 31. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-17, иммуноконъюгат по варианту осуществления 18 или 19 или фармацевтическая композиция по варианту осуществления 20 для применения в качестве лекарственного препарата.

[0185] Настоящее изобретение будет дополнительно пояснено следующими примерами, которые предназначены только для его иллюстрации и никоим образом не для ограничения.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1. Создание оптимизированных терапевтических антител к CD122

Введение

[0186] В этом примере мы успешно создали панель антагонистических оптимизированных антител к CD122. Эти антитела к CD122 хорошо экспрессируются, биофизически стабильны, хорошо растворимы и обладают максимальной идентичностью с предпочтительными зародышевыми линиями человека.

Материалы и способы

Тестирование специфичности V-домена антител: анализ массива рецепторов человека

[0187] Массивы протеома рецепторов мембран клеток человека были получены в компании Retrogenix Ltd. Первичный скрининг: 5 мкг/мл антитела IgG1-МКβ1 (гуманизированного, также называемого VillMab-1) подвергали скринингу на связывание с фиксированными клетками НЕК293 / препаратами, экспрессирующими 4975 белков плазматической мембраны человека по отдельности (14 наборов препаратов, n=2 препарата на набор препаратов). Все показатели эффективности трансфекции превышали минимальный порог. Связывание антител определяли с использованием конъюгированного с AF647 флуоресцентного вторичного антитела к IgG1 человека. Первичные выбранные варианты (дублирующиеся пятна) идентифицировали путем анализа флуоресценции (AF647 и ZsGreen1) на ImageQuant. Векторы, кодирующие все выбранные варианты, секвенировали для подтверждения их правильной идентичности.

[0188] Скрининг подтверждения / специфичности: векторы, кодирующие все выбранные варианты, плюс контрольные векторы, кодирующие MS4A1 (CD20) и EGFR, были обнаружены в двух экземплярах на новых препаратах и использованы для обратной трансфекции клеток НЕК293 человека, как и ранее. Все показатели эффективности трансфекции превышали минимальный порог. Идентичные фиксированные препараты обрабатывали 5 мкг/мл каждого тестируемого антитела, 5 мкг/мл антитела отрицательного контроля, 1 мкг/мл биоаналога ритуксимаба (положительного контроля), изотипа IgG1 (человеческий IgG1 к флуоресцеину Ab00102) или без тестируемой молекулы (только

вторичный; отрицательный контроль) (n=2 препарата на обработку). Препараты анализировали, как указано выше.

[0189] Скрининг подтверждения методом проточной цитометрии: векторы экспрессии, кодирующие только ZsGreen1 или ZsGreen1 и CD122, ВСАМ, трансфицировали в клетки НЕК293 человека. Каждый живой трансфектант инкубировали с 1 и 5 мг/мл каждого из тестируемых антител и антитела изотипического контроля. Клетки промывали и инкубировали с тем же конъюгированное с AF647 детектирующим антителом к Fc IgG человека, которое использовали при скрининге клеточных микроматриц. Клетки снова промывали и анализировали с помощью проточной цитометрии с использованием проточного цитометра Accuri (BD). Для исключения мертвых клеток использовали краситель для оценки жизнеспособности клеток 7AAD, и для анализа отбирали ZsGreen1-положительные клетки (т.е. трансфицированные клетки).

Получение и селекция библиотеки CD122

[0190] Репертуар Fab к CD122 собирали путем массового синтеза олигонуклеотидов и ПЦР. Репертуар амплифицированных Fab затем клонировали посредством рестрикции-лигирования в фагемидный вектор, трансформировали в клетки *E.coli* TG-1, и репертуар фагов восстанавливали по существу, как подробно описано ранее (Finlay et al., 2011, *Methods Mol Biol* 681: 383-401). Селекцию фагов проводили, покрывая стрептавидиновые магнитные микрочастицы биотинилированным целевым белком CD122 (человека или яванского макака), трижды промывая частицы PBS и ресуспендируя в PBS pH 7,4 плюс 5% белка обезжиренного молока. Эти частицы покрывали целевым белком в концентрации 100 нМ в 1 раунде селекции с последующими пониженными концентрациями антигена в трех последовательных раундах. В каждом раунде фаги элюировали с использованием трипсина перед повторным инфицированием клеток TG1.

Экспрессия и очистка Fab и IgG

[0191] Кодон-оптимизированные синтетические гены млекопитающих, кодирующие переменные домены тяжелой и легкой цепей панели перспективных антител к CD122, а также варианты M1K β 1, были клонированы в векторы экспрессии млекопитающих, содержащие IgG1 человека без эффекторной функции («IgG1-3M»; IgG1 человека, содержащий мутации L234A, L235A, G237A в нижнем шарнире, которые нарушают нормальные функции иммуноглобулина ADCC, ADCP и CDC) и Ск-домены человека, соответственно. Проводили совместную трансфекцию вектора, содержащего тяжелую и

легкую цепь, в системе экспрессии млекопитающих с последующей очисткой IgG на основе белка А, количественной оценкой и контролем качества с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза в восстанавливающих и восстанавливающих условиях.

Прямой ELISA связывания для Fab и IgG

[0192] Связывание и перекрестную реактивность перспективной панели с рекомбинантными белками первоначально оценивали с помощью ELISA связывания. Меченный человеческим Fc рекомбинантный белок CD122 человека и меченный человеческим Fc рекомбинантный белок CD122 яванского макака и/или макаки-резуса были нанесены на поверхность плоскодонного 96-луночного планшета MaxiSorp™ в концентрации 1 мкг/мл. Очищенные образцы Fab или IgG титровали в двукратных серийных разведениях, начиная с 500 нМ до 0,98 нМ, и позволяли им связываться с покрытыми антигенами. Фрагменты Fab выявляли с использованием мышиного антитела к с-тус, а затем ослиного антитела к мышиному IgG, конъюгированного с пероксидазой хрена. IgG детектировали с использованием мышиного антитела к человеческому IgG, конъюгированного с пероксидазой хрена. Сигналы связывания визуализировали с помощью раствора субстрата 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМВ) и измеряли поглощение при 450 нм.

BIACORE® анализирует аффинность Fab к CD122 человека и резуса

[0193] Аффинность (KD) очищенных IgG определяли с помощью SPR с антигеном в растворе на BIACORE® 3000 (GE). Мышиное античеловеческое антитело (специфичное к CH1) иммобилизовали на сенсорном чипе CM5 до уровня 2000 RU в ацетатном буфере при pH 4,5 с использованием аминного сочетания, следуя инструкциям Wizard для двух каналов. Один канал использовали для коррекции фонового сигнала. Использовали стандартный рабочий буфер HBS-EP pH 7,4. Регенерацию проводили с помощью однократной инъекции 10 мкл 10 мМ глицина при pH 1,5 со скоростью 20 мкл/мин. Образцы IgG вводили в течение 2 минут при 50 нМ со скоростью 30 мкл/мин с последующим перерывом в 60 секунд. Мономерный антиген (меченный His CD122 человека или меченный His CD122 яванского макака и/или макаки-резуса) вводили в двукратных серийных разведениях от 100 нМ до 3,1 нМ в течение 2 минут со скоростью 30 мкл/мин с последующим перерывом в 300 секунд. Полученные сенсограммы анализировали с использованием программного обеспечения оценки BIACORE® 3000 (BIAevaluation). KD

рассчитывали путем одновременной аппроксимации фаз ассоциации и диссоциации к модели связывания Ленгмюра 1:1.

Проточная цитометрия IgG

[0194] Очищенные IgG тестировали в FACS на связывание с CD122 человека и резуса, экспрессируемыми на стабильных линиях клеток CHO-K1 и клетках дикого типа CHO-K1. Образцы IgG титровали в трехкратных серийных разведениях, начиная с 500 нМ до 0,98 нМ. Связывание IgG было обнаружено с помощью мышинового антитела к человеческому IgG, конъюгированного с FITC. Результаты анализировали путем исследования средней интенсивности флуоресценции (MFI) 10000 клеток на образец в канальном детекторе BL-1 проточного цитометра (цитометр с акустической фокусировкой Attune™ NxT, Invitrogen/ThermoFisher Scientific).

Анализ на основе клеток M07e

[0195] Клетки M07e получены из немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур Института Лейбница DSMZ, и содержались в среде RPMI с добавлением 10% FBS, 10 нг/мл GM-CSF ([Peprotech](#)) и L-глутамин (Corning) в соответствии с инструкциями, предоставленными дистрибьютором. В день 1 клетки промывали в RPMI и ресуспендировали при плотности $2,5 \times 10^5$ клеток/мл в RPMI, дополненной 10% FBS и L-глутамином (Corning). Всего $5,0 \times 10^4$ клеток в конечном объеме 200 мкл культивировали в лунках 96-луночного плоскодонного планшета в течение 72 часов при 37°C в присутствии 50 нг/мл рекомбинантного человеческого IL-15 (rhIL15) (R&D) или rhIL15 с антителом. Через 72 часа клетки инкубировали с 20 мкл реагента для пролиферации клеток WST-1 (MilteNY) в течение 3 часов при 37°C. Количественную оценку пролиферации клеток проводили с помощью сканирующего многолуночного спектрофотометра, а измеренную абсорбцию при 450 нМ соотносили с количеством жизнеспособных клеток.

Анализ на основе NK-клеток человека

[0196] Мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) выделяли из цельной крови доноров с использованием центрифугирования в градиенте плотности с фиколлом Histopaque, а NK-клетки обогащали из выделенных PBMC с использованием набора для выделения человеческих NK-клеток MilteNY Biotec (Бергиш-Гладбах, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. NK-клетки окрашивали с помощью набора для пролиферации клеток CellTrace™ CFSE в соответствии с инструкциями производителя и ресуспендировали в RPMI с добавлением 10% FBS и

пенициллина-стрептомицина (Gibco). Всего 10^5 NK-клеток культивировали в лунках 96-луночного круглодонного планшета в течение 120 часов при 37°C в присутствии 20 нг/мл рекомбинантного человеческого IL15 (rhIL15) (R&D) или rhIL15 с антителом. Через 120 часов NK-клетки промывали и окрашивали антителами к человеческим CD3 (UCHL1), CD56 (5.1H11), CD16 (3G8) (разведение 1:20, Biolegend), а разведение CFSE анализировали с помощью проточного цитометра BD LSR II (BD Biosciences) и FlowJo (Tree Star Inc.).

Мышиная модель NSG-IL15

[0197] Гуманизированных мышей получали путем трансплантации мышам NOD SCID Gamma, экспрессирующим человеческий IL15 (NSG-Tg), гемопоэтических стволовых клеток человека (HSC). Мыши NSG-Tg в возрасте от 6 до 8 недель получали облучение в дозе 200 сГр перед инъекцией 10^5 CD34+ HSC, полученных из пуповинной крови. Мышей NSG-Tg с трансплантированными HSC проверяли через 12 и 16 недель для определения исходного уровня трансплантации трансплантата в крови. Мышей NSG-Tg с более чем 20% CD45+ клеток человека, которые содержат более 2% CD56+, отбирали для лечения антителами. Мышам вводили внутривентральные (в/б) инъекции два раза в неделю (по схеме понедельник/четверг) в течение 3 недель. Уровни иммунных клеток человека определяли количественно в крови с помощью проточной цитометрии через 1 и 3 недели после начала лечения, а затем через 1, 3 и 5 недель после лечения. Через 5 недель после лечения мышей подвергали эвтаназии и измеряли уровни иммунных клеток человека в селезенке и крови с помощью проточной цитометрии. Клетки всех тканей окрашивали антителами к человеческим CD45, CD3, CD4, CD8, CD7, CD56, CD16, Mik-b2 и Mik-b3 (разведение 1:20, Biolegend) и анализировали с помощью проточного цитометра BD LSR II (BD Biosciences) и FlowJo (Tree Star Inc.).

Результаты и обсуждение

Фармакологическое моделирование: оценка возможности применения антагонистических антител к IL15R β для лечения заболеваний кожи

[0198] *Моделирование in silico* было проведено для определения фармакологических параметров и характеристик, которые могут обеспечить терапевтический успех антитела IgG1 к CD122, для достижения максимальной эффективности в конкретных тканях, таких как кожа. Эти анализы были основаны на установленных значениях биологической мишени CD122 (таблица 1), а также известных потенциальных характеристиках лекарственного средства и параметрах дозирования двухвалентного антитела IgG (таблица 2).

[0199] Затем описанные выше параметры были проанализированы на предмет их влияния на активность и распределение лекарственного средства, как показано на Фиг. 1. Подход, основанный на оценке «снизу вверх», был подтвержден с помощью данных о ФК пациентов с Т-клеточным лейкозом, ранее получавших гуманизированное антитело IgG1 к CD122 «МКβ1». В ходе анализа был получен ряд результатов, касающихся в/в и/или п/к дозирования, а также аффинности связывания антитела с CD122 у человека со средней массой тела:

[0200] 1. Было предсказано, что при номинальной аффинности лекарственного средства 10 нМ KD устойчивое ингибирование IL15Rβ (>90%) в коже возможно при введении 700 мг в/в один раз в 4 недели или 100 мг п/к 1 раз в неделю (таблица 3, таблица 4).

[0201] 2. Более высокая функциональная аффинность, чем 10 нМ KD, может снизить требования к дозированию при в/в и п/к введении, при этом значения KD ближе к 1 нМ обеспечивают 99% занятости мишени в коже при максимальной дозе. Эта картина качественно аналогична для путей в/в и п/к введения (таблица 3, таблица 4).

[0202] 3. При номинальной аффинности связывания лекарственного средства 10 нМ 100 мг п/к один раз в неделю достаточно для поддержания 90% занятости рецепторов в коже, но 100 мг п/к 1 раз в неделю недостаточно для поддержания >95% занятости рецепторов. Более высокая аффинность необходима для достижения >95% занятости рецепторов при схеме дозирования 100 мг п/к 1 раз в неделю (таблица 4).

[0203] 4. Устранение системного предельного разбавления мишени оказывает минимальное влияние на дозу, необходимую для достижения высокой (>90%) занятости мишени в коже. Моделирование внутривенного введения каждые 4 недели в присутствии системного CD122 на известных уровнях по сравнению с отсутствием CD122 позволяет предположить, что общая доза должна покрывать системную целевую нагрузку, чтобы иметь оптимальную активность в коже и эффекты распределения лекарственного средства (таблица 5).

[0204] Вкратце, эти анализы показали, что оптимальное антагонистическое терапевтическое антитело к CD122 должно иметь функциональную аффинность к CD122 > 10 нМ, что позволяет вводить дозу 700 мг в/в каждые 4 недели или 100 мг п/к каждые 1 неделю. Повышенная аффинность обеспечивает больший охват мишени при более низких дозах.

Анализ специфичности связывания антител

[0205] Сообщалось, что в ранних клинических испытаниях гуманизированное антитело IgG1 к CD122 «МПКβ1» демонстрировало признаки ускоренного клиренса. Ускоренный клиренс является фактором риска невозможности достижения идеальных характеристик лекарственного средства, описанных выше, поскольку эффекты распределения лекарственного средства, опосредованного мишенью, (TMDD) могут отрицательно влиять на активность. Мы предположили, что МПКβ1 может связываться не только с CD122, но также может связываться с неопределенными и непредсказуемыми белками человека. Для изучения этой проблемы использовали технологии *in vitro* (Retrogenix, Ltd.), основанные на использовании массивов клеток высокой плотности, которые экспрессируют >5500 уникальных мембранных рецепторов человека и секретируемых мембранами белков, для скрининга специфичностей нецелевого связывания гуманизированного IgG1-МПКβ1 (VillMab-1). Этот скрининг связывания массива рецепторов выявил, что VillMab-1 проявляет сильное связывание с экспрессируемым на мембране CD122, но также обладает потенциальной специфичностью нецелевого связывания в отношении VCAM (также известного как AU, CD239, LU, MSK19, молекула адгезии базальных клеток (лютеранская группа крови)). VCAM представляет собой широко экспрессируемый белок мембранной адгезии, который может вызывать снижение ФК и усугублять эффект «предельного разбавления» при терапевтическом дозировании антитела к CD122.

[0206] Чтобы подтвердить это событие нецелевого связывания, плазмиду, кодирующую VCAM и контрольные белки, подвергли секвенированию ДНК. Эти анализы подтвердили, что кодируемые белки действительно имели правильные последовательности. Образцы плазмид для контрольных и потенциальных рецепторов-мишеней затем повторно наносили на новые чипы для повторного анализа в двух экземплярах. Эффективную индукцию экспрессии всех повторно нанесенных плазмид подтверждали путем сканирования чипов на наличие ZsGreen, который кодируется всеми экспрессирующими плазмидами в качестве маркера внутреннего контроля. Этот анализ продемонстрировал четко обнаруживаемую экспрессию ZS во всех положениях, где были обнаружены плазмиды (Фиг. 2А). Кроме того, затем использовали препараты с идентичными пятнами для повторного зондирования трансфицированных клеток с помощью VillMab-1 (Фиг. 2В), ритуксимаба (положительный контроль IgG1, Фиг. 2С) и чипа, на который не наносили зонд в виде первичного антитела (Фиг. 2D). Эти анализы показали, что VillMab-1 снова продемонстрировало измеримое связывание по сравнению с фоном (на обоих чипах) на клетках, трансфицированных VCAM (Фиг. 2В). Ритуксимаб продемонстрировал связывание с CD20, как и ожидалось, без

заметного связывания с какими-либо другими белками (Фиг. 2С). В чипах без первичных антител (Фиг. 2D), только ожидаемые контрольные белки демонстрировали какой-либо сигнал. Такая высокая точность контрольных чипов подтвердила, что сигналы связывания VillMab-1 на CD122 и BCAM были специфичными. Для дополнительного подтверждения этих результатов нецелевого связывания плазмиды с проверенной последовательностью снова трансфицировали в клетки НЕК-293 и исследовали связывание с помощью проточной цитометрии (Фиг. 3). В этом эксперименте VillMab-1 продемонстрировало явное связывание с клетками, трансфицированными как CD122, так и BCAM, но не было обнаружено фоновое связывание с клетками, трансфицированными ZS («только ZS», Фиг. 3А). Контрольные эксперименты с использованием тех же клеток, но без первичного антитела (Фиг. 3В), показали, что сигналы BCAM связаны с антителами, а окрашивание ритуксимабом IgG1 к CD20 (Фиг. 3С) показало сигнал связывания только на клетках, трансфицированных CD20, что доказывает, что сигнал на BCAM специфически опосредуется связывающими доменами VillMab-1.

[0207] В идеале терапевтические антитела должны обладать исключительной специфичностью в отношении желаемой мишени, поскольку было показано, что нецелевое связывание оказывает потенциальное негативное воздействие на профили фармакокинетики, биораспределения и токсичности IgG. Для решения этой проблемы для VillMab-1 была проведена исследовательская модуляция поверхности связывания VillMab-1, описанная ниже.

Мутагенез и модуляция паратопа VillMab-1

[0208] Для того чтобы направить наши усилия по конструированию на получение конечных перспективных терапевтических соединений IgG с оптимальными лекарственными свойствами, мы решили исследовать варианты антитела VillMab-1, полученные с помощью мутагенеза. Анализ последовательностей V-доменов VillMab-1 продемонстрировал, что в первоначальном процессе гуманизации использовались каркасы, родственные каркасам зародышевой линии человека IGHV3-23 и IGKV1-33, которые, как известно, обладают хорошей растворимостью и характеристиками для разработки лекарственных средств и используются с высокой частотой в экспрессируемом репертуаре человеческих антител (Таблица 6). Несмотря на применение хорошо известных каркасов, каркасы переменных доменов содержали значительное количество отклонений от последовательности зародышевой линии. Кроме того, последовательности CDR также содержали множество остатков, отличающихся от остатков зародышевой линии человека (таблица 6).

[0209] Последовательности V-домена VillMab-1 были объединены в формат фагового дисплея Fab, и были созданы отдельные кассеты библиотеки мутагенеза для доменов VH и VL путем синтеза и сборки олигонуклеотидов. Каждая кассета мутагенеза кодирует остаток VillMab-1, остаток зародышевой линии человека или гомологичную аминокислоту в каждом положении, подчеркнутым в Таблице 6. Отдельные библиотеки Fab были созданы путем объединения мутационной кассеты для VL с VH VillMab-1 или VL VillMab-1 с кассетой мутагенеза для VH. Каждую окончательную библиотеку Fab лигировали в вектор фагового дисплея и трансформировали в *E. coli* посредством электропорации для создания $> 10^7$ независимых клонов. Качество сборки библиотеки проверяли путем секвенирования 96 клонов на библиотеку. Эти данные секвенирования показали, что мутированные положения успешно охватывают запланированную вариабельность. Библиотеки восстанавливали с помощью фага-помощника M13 и проводили селекцию на биотинилированных белках CD122-Fc человека и яванского макака и/или макаки-резуса в нескольких отдельных ветвях. После 1-го раунда селекции предварительно отобранные комбинации мутированных VH и VL использовали для создания третьей, комбинаторной библиотеки, которая одновременно охватывала отобранную вариабельность в обеих V-доменах.

[0210] Скрининг выделенных периплазматических экстрактов после селекции и секвенирование ДНК выявили наличие 64 уникальных CD122-связывающих Fab-клонов человека и резуса, которые продемонстрировали сильное связывание с CD122 человека и резуса в ELISA и $>50\%$ ингибирование связывания VillMab-1 с CD122 человека и резуса в анализе Alphascreen. Из этих уникальных, полученных из библиотеки перспективных вариантов, были идентифицированы 15 лучших клонов на основе силы аналитических сигналов, количества мутаций по отношению к зародышевой линии человека и отсутствию основных мотивов нарушения развития/химической деградации (таблица 7). Этот анализ также выявил ряд уникальных последовательностей в каждой CDR (таблица 8). Эти профили уникальных последовательностей CDR были использованы для создания 15 дополнительных клонов (MAB01-MAB15) с потенциальными комбинациями CDR, не обнаруженными среди 15 лучших клонов, полученных из библиотеки, как указано в (таблице 9). В общей сложности эти 30 уникальных клонов экспрессировали в формате человеческого IgG1 в транзientной культуре CHO, очищены с помощью белка А, а мономерность $>95\%$ подтверждена методом эксклюзионной хроматографии.

Специфичность и активность перспективных IgG

[0211] Очищенные IgG, описанные выше, затем тестировали на конкуренцию за эпитоп, связывающий VillMab-1, на CD122-Fc человека в формате Alphascreen. Этот анализ показал, что 24 из 30 клонов снижали связывание VillMab-1 с CD122 в зависимости от концентрации, доказывая, что они сохранили функциональный эпитоп исходного антитела (Фиг. 4). Эти 24 клон затем исследовали с помощью анализов полиреактивности, чтобы убедиться, что конечные перспективные клоны, полученные в результате первоначального конструирования, не имели профилей связывания ДНК или инсулина, которые тесно связаны с короткими ФК (Фиг. 5). Этот анализ продемонстрировал, что, хотя все 24 клон демонстрировали сигналы значительно более низкие, чем положительный контрольный бококизумаб, некоторые из них генерировали особенно низкие сигналы, которые были эквивалентны или превосходили антитела отрицательного контроля бевакизумаб, устекинумаб и пембролизумаб (Фиг. 5). Полученные результаты позволили определить приоритетность 6 ключевых перспективных вариантов для дальнейшего анализа.

[0212] 6 приоритетных перспективных клонов, полученных из библиотеки, анализировали на предмет зависимость от концентрации связывания с CD122 человека и резуса на поверхности клеток посредством проточной цитометрии (Фиг. 6). Каждый из клонов 06F11 (Фиг. 6A), 07C07 (Фиг. 6B), 07D06 (Фиг. 6C), 07E09 (Фиг. 6D), 07D07 (Фиг. 6E) и 06D12 (Фиг. 6F) демонстрировал профили CD122-специфического связывания с кривыми связывания, очень похожими на кривые связывания, наблюдаемые для VillMab-1, тогда как IgG1 изотипического контроля не показал связывания ни с каким типом клеток (Фиг. 6G).

Анализ перспективных IgG в анализе блокады CD122-IL-15

[0213] В клеточном репортерном анализе блокады CD122/IL-15 M07e клоны 06F11 (Фиг. 7A), 07C07 (Фиг. 7B), 07D06 (Фиг. 7C), 07E09 (Фиг. 7D), 07D07 (Фиг. 7E) и 06D12 (Фиг. 7F) проявляли зависимость от концентрации антагонизм к CD122. IC₅₀ для VillMAB-1 составляла 9,792 мкг/мл. IC₅₀ для 6F11 и 7C07 составляли 14,8 мкг/мл и 20,8 мкг/мл, соответственно, и были самыми низкими среди перспективных клонов. IC₅₀ для 06D12, 07D06, 07D07 и 07E09 составляли 38,610 мкг/мл, 27,820 мкг/мл, 34,170 мкг/мл и 23,610 мкг/мл, соответственно. Этот анализ продемонстрировал, что 06F11 и 07C07 являются идеальными кандидатами для дальнейшей оценки.

Анализ перспективных Fab в CD122-связывающем BIACORE® для определения аффинности связывания 1:1

[0214] Чтобы охарактеризовать истинные значения аффинности 1:1 для клонов 06F11 и 07C07, а также варианта 06F11, в котором устранена мутация в FW1 (06F11-V), эти и положительный контрольный клоны Villmab-1 были клонированы, экспрессированы и очищены в формате человеческого Fab (т.е. моновалентного и не содержащего шарнирной и областей Fc). Полностью очищенные белки Fab исследовали на связывание как с CD122 человека (таблица 10), так и с CD122 резуса (таблица 11). Эти анализы показали, что клоны FAB06F11-V, FAB06F11 и FAB07C07 демонстрировали умеренно сниженные общие значения KD для CD122 как человека, так и резуса, но, что важно, также демонстрировали как повышенную скорость ассоциации (k_a), так и диссоциации (k_d) по сравнению с VillFab-1.

Анализ перспективного IgG на мышинной модели hIL-15 NSG

[0215] Гуманизированную мышиную модель hIL-15 NSG использовали для сравнения способности VillMAB-1, 7C07 и 6F11-v (все в формате IgG1-3M без эффекторной функции) ингибировать поддерживаемую сигналингом CD122/IL15 трансплантацию человеческих NK- и CD8 T-клеток *in vivo*. После полного приживления клеток мышам вводили носитель, низкую дозу (1 мг/кг) или высокую дозу (10 мг/кг) антитела.

[0216] До лечения антителами количество человеческих CD8⁺ T-клеток (Фиг. 8A) и NK-клеток (Фиг. 8B) в крови было сопоставимым между группами мышей. После 1 недели лечения только у мышей, получавших 10 мг/кг VillMAB-1, наблюдалось статистически значимое снижение количества CD8⁺ T-клеток по сравнению с мышами, получавшими изотип (Фиг. 8C). Наблюдалось снижение количества CD8⁺ T-клеток во всех группах, получавших лечение антителами, по сравнению с мышами, получавшими лечение изотипом. Количество NK-клеток в крови было сопоставимым во всех группах (Фиг. 8D).

[0217] После 3 недель лечения количество CD8⁺ T-клеток снизилось в крови всех групп, получавших лечение антителами, по сравнению с мышами, получавшими лечение изотипом (Фиг. 8E). Эти изменения не были статистически значимыми. Количество NK-клеток уменьшалось во всех группах мышей, получавших лечение антителами, и это снижение было статистически значимым в каждой группе, за исключением мышей, получавших 1 мг/кг 07C07 (Фиг. 8F). Лечение высокими и низкими дозами VillMAB-1 снижало количество NK-клеток больше, чем лечение 06F11-V или 07C07 в любой дозе.

[0218] Важно отметить, что эти результаты подтвердили, что длительная блокада сигналинга CD122-IL15 клонами Villmab-1, 06F11-V или 07C07 в отсутствие эффекторных

функций ADCC или ADCP способна вызывать истощение популяций как NK, так и CD8+ Т-клеток.

Анализ специфичности связывания антител для клонов 06F11-V и 07C07

[0219] Поскольку выше было показано, что клоны 06F11-V и 07C07 демонстрируют высокие уровни гуманизации как в каркасных областях, так и в CDR V-доменов, а также эффективную блокаду CD122 *in vitro* и *in vivo*, их использовали для повторного скрининга в анализе специфичности на платформа для исследования протеомов Retrogenix. Неожиданно этот анализ продемонстрировал, что связывание BCAM, наблюдаемое для Villmab-1, было полностью устранено и не наблюдалось ни для одного из IgG 06F11-V и 07C07. Кроме того, были отмечены два новых взаимодействия, которые не наблюдались для Villmab-1 (Фиг. 9). При анализе связывания с клетками, трансфицированными плазмидами, обеспечивающими экспрессию мишеней и контролей, методом проточной цитометрии было обнаружено, что помимо связывания с CD122, клон 06F11-V связывается как с нейдезином (нейротропин), так и с CILP2 (структурным белком хряща), а 07C07 связывается только с CILP2 (Фиг. 9А, Фиг. 9В). Напротив, контрольные эксперименты с «только вторичным антителом» (фиг. 9С) и первичным антителом ритуксимабом (фиг. 9D) продемонстрировали либо отсутствие связывания на фоне, либо связывание только с клетками, трансфицированными CD20, соответственно. Эти результаты подтвердили, что нецелевое связывание, наблюдаемое для IgG 06F11-V и 07C07, было подлинным и специфичным.

Оптимизация клона 06F11-V

[0220] Клон 06F11-V был выбран для дальнейшей оптимизации с целью максимизации полезных свойств и минимизации нецелевого связывания. Эту оптимизацию осуществляли путем экспериментального анализа комбинаций мутаций, обратных к мышинным последовательностям в CDR1, и/или 2, и/или 3 последовательностей как тяжелой, так и легкой цепи 06F-11V. Этот процесс привел к созданию 18 новых клонов, каждый из которых несет одну из 6 последовательностей VH в комбинации с одной из 3 последовательностей VL (таблица 12). Эти 18 новых вариантов, Villmab-1 и 06F11V, клонировали в формате человеческого моновалентного фрагмента Fab, экспрессировали в клетках CHO и очищали до мономерного состояния на колонке с белком А с последующей эксклюзионной хроматографией.

[0221] Очищенные Fab затем исследовали на аффинность связывания с CD122 человека и резуса с помощью BIACORE® (таблица 13). Этот анализ продемонстрировал, что серия клонов продемонстрировала улучшенную аффинность к CD122 по сравнению с 06F11-V и даже с VillMab-1. Из этой когорты клоны MAB05, MAB06, MAB14, MAB15, MAB17 и MAB18 были приоритетными для дальнейшего анализа и были дополнительно экспрессированы и очищены в формате человеческого IgG1-3M для анализа активности и специфичности. Когда версии Fab всех приоритетных клонов были протестированы на связывание BIACORE® с белками нейдезина человека и CILP2 (Фиг. 10А, Фиг. 10В), было обнаружено, что только клон 06F11-V демонстрировал измеримое связывание с любым белком, что указывает на то, что новые перспективные клоны позволили устранить эти два риска в виде нецелевого связывания. В анализах на основе ELISA IgG для всех клонов на человеческом белке ВСАМ все клоны сохраняли нецелевое связывание, кроме MAB05 и MAB06, которые проявляли полную специфичность к CD122 (Фиг. 10С, таблица 14).

[0222] Чтобы выяснить, как возможно, чтобы столь близкородственные последовательности антител имеют такие радикальные различия в профиле специфичности, мы выполнили выравнивание последовательностей доменов VH и VL для VillMab-1 и клонов 05, 06, 14, 15, 17 и 18 (Фиг. 11А, 11В). Примечательно, что единственными изменениями в последовательности VillMab-1, которые были уникальными для (полностью CD122-специфических) клонов MAB05 и MAB06, были 3 (высокогомологичные) мутации, обнаруженные в CDR1 домена VH и расположенные близко к нему. Этот пример иллюстрирует непредсказуемую природу неизбирательного связывания антител.

[0223] Подтверждение биологической активности клонов MAB05, MAB06, MAB14, MAB15, MAB17 и MAB18 было подтверждено в анализе M07e, стимулированном IL-15 (таблица 14). Этот анализ продемонстрировал, что не только аффинность клонов MAB05 и MAB06 улучшена по сравнению с VillMab-1, но и их активность в отношении блокирования сигналинга IL-15 также улучшена примерно в два раза (таблица 14). Конечную функционально значимую активность клонов MAB05 и MAB06 затем устанавливали с помощью анализа, измеряющего пролиферацию первичных НК-клеток человека при стимуляции IL-15 (Фиг. 12А, Фиг. 12В). Этот анализ повторил результаты анализа M07e, продемонстрировав, что MAB05 и MAB06 действительно превосходят VillMab-1.

Анализ IgG1-3M BIACORE® на связывание с человеческими и мышиными Fc-рецепторами

[0224] Чтобы охарактеризовать аффинность клона 06F11-V IgG1-3M и IgG положительного контроля, полностью очищенные белки исследовали на связывание как с человеческими, так и с мышинными Fc γ R и FcRn (таблица 17). Эти анализы показали, что хотя все положительные контроли демонстрировали ожидаемое сильное взаимодействие как с человеческими, так и с мышинными рецепторами, клон 06F11-V IgG1-3M проявлял очень низкую или не поддающуюся измерению аффинность ни к человеческим, ни к мышинным Fc γ R и FcRn при pH 7,4. Однако важно отметить, что 06F11-V IgG1-3M сохранял полную аффинность к человеческому и мышинному FcRn при pH 6,0. Эти результаты подтвердили приведенные выше наблюдения *in vivo* на мышинной модели NSG/IL-15, согласно которым блокада сигналинга CD122 в отсутствие эффекторной функции IgG достаточна для истощения CD122⁺ клеток.

ПРИМЕР 2. Функция терапевтического антитела к CD122 в тесте на выплзание Т-клеток из кожи человека

[0225] Анализ культуры биоптата кожи человека использовали для оценки способности МАВ05 и МАВ06 ингибировать сигналинг CD122/IL-15 в Т-клетках, присущих коже.

[0226] Биоптаты кожи человека (диаметром 4 мм и толщиной 2 мм) получали из хирургических образцов (панникулэктомия) с использованием одноразовых игл для биопсии кожи Integra диаметром 4 мм (Integra). Биоптаты кожи инкубировали с антибиотиком и противогрибковым агентом (Gibco), разведенным в PBS, в течение 30 минут при 4°C, а затем трижды промывали PBS. Три биоптата кожи помещали в 1 лунку 24-луночного планшета (Corning) и давали им ненадолго высохнуть, способствуя прилипанию биоптатов к поверхности лунки. Затем биоптаты культивировали в 2 мл модифицированной среды Искова (Sigma) с 20% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сыворотки, пенициллином и стрептомицином (Corning) и 3,5 мкл/л β -меркаптоэтанола (Sigma) и инкубировали при 37°C в течение 21 дни. Культуры подпитывали три раза в неделю путем аспирации 1 мл среды из каждой лунки и добавления обратно 1 мл свежей среды. К культурам, обработанным IL-15 или антителом к CD122, добавляли 20 нг/мл рекомбинантного человеческого IL15 (rhIL15) (R&D) и антитела к CD122 (МАВ05 или МАВ06) от начала культивирования до момента сбора Т-клеток на 21 день. Через 21 день культуральную среду собирали из лунок и центрифугировали при 330 \times g в полистироловых пробирках с круглым дном объемом 5 мл в течение 10 минут. Супернатант аспирировали, а оставшиеся Т-клетки промывали, окрашивали антителами к

человеческим CD3, CD4 и CD8 (разведение 1:20, Biolegend) и количественно определяли с помощью проточного цитометра BD LSR II (BD Biosciences) и FlowJo (Tree Star Inc.).

[0227] В этом анализе МАВ05 и МАВ06 ингибируют IL15-индуцированное накопление CD8⁺ Т-клеток, мигрирующих из биоптатов кожи. Больше CD8⁺ Т-клеток накапливается при культивировании биоптатов с IL-15, чем при культивировании биоптатов без IL-15; 11101±6011 против 438,3±66,05 (среднее ± станд. откл.) (Фиг. 13А). Когда биоптаты культивируют с IL-15 и МАВ05, количество накапливаемых CD8⁺ Т-клеток снижается по сравнению с культурами только с IL-15; 2096±1100 против 11101±6011 (среднее ± станд. откл.) (Фиг. 13А). Аналогично, когда биоптаты культивируют с IL-15 и МАВ06, накапливается меньше CD8⁺ Т-клеток по сравнению с культурами только с IL-15; 2436±501,6 против 11101±6011 (среднее ± станд. откл.) (Фиг. 13А).

[0228] МАВ05 и МАВ06 также ингибируют IL15-индуцированное накопление CD4⁺ Т-клеток, мигрирующих из биоптатов кожи. Больше CD4⁺ Т-клеток накапливается при культивировании биоптатов с IL-15, чем при культивировании биоптатов без IL-15; 40523±15391 против 1261±473,6 (среднее ± станд. откл.) (Фиг. 13В). Когда биоптаты культивируют с IL-15 и МАВ05, количество накапливаемых CD4⁺ Т-клеток снижается по сравнению с культурами только с IL-15; 3471±1627 против 40523±15391 (среднее ± станд. откл.) (Фиг. 13В). Аналогично, когда биоптаты культивируют с IL-15 и МАВ06, накапливается меньше CD4⁺ Т-клеток по сравнению с культурами только с IL-15; 4308±2111 против 40523±15391 (среднее ± станд. откл.) (Фиг. 13В).

[0229] В анализах культуры биоптатом кожи МАВ05 проявлял зависимый от концентрации антагонизм к IL-15-индуцированному накоплению присутствующих в коже CD8⁺ Т-клеток с IC50 1,9 мкг/мл (Фиг. 14А). МАВ06 проявлял сопоставимый зависимый от концентрации антагонизм в отношении накопления CD8⁺ Т-клеток с IC50 1,8 мкг/мл (Фиг. 14А). Кроме того, МАВ05 и МАВ06 проявляли сравнимый зависимый от концентрации антагонизм в отношении накопления CD4⁺ Т-клеток, индуцированного IL-15, с IC50 2,1 мкг/мл и 1,8 мкг/мл, соответственно (Фиг. 14В).

ПРИМЕР 3. Фармакокинетические/фармакодинамические (ФК/ФД) исследования терапевтических антител к CD122 на яванских макаках

[0230] Яванским макакам вводили в виде однократной внутривенной инфузии антитела к CD122 (МАВ05 или МАВ06) в дозе от 1 до 20 мг/кг. Образцы крови собирали перед введением дозы и в различные моменты времени в диапазоне от 1 часа после введения дозы

до 16-го дня после введения дозы. Фармакокинетические параметры определяли после количественного определения концентраций антител к CD122 в плазме методом ELISA. Образцы крови также анализировали на наличие рецептора CD122 на NK-клетках и определяли общее количество Т-клеток, Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток и NK-клеток с использованием методов проточной цитометрии.

[0231] После однократного внутривенного введения доз в диапазоне от 1 мг/кг до 20 мг/кг МАВ05 и МАВ06 не выявили клинических отклонений и продемонстрировали линейную фармакокинетику у яванских макаков. Однократной дозы МАВ05 и МАВ06 в 1 мг/кг было достаточно для поддержания >90% занятости рецептора CD122 на NK-клетках на протяжении всего периода отбора проб (16 дней после введения дозы). Введение однократной дозы МАВ05 и МАВ06 в дозе 1 мг/кг, 5 мг/кг или 20 мг/кг вызывало снижение количества циркулирующих NK-клеток. Циркулирующие NK-клетки достигли минимума примерно через 7 дней после введения дозы и демонстрировали устойчивое восстановление после дозы 1 мг/кг или 5 мг/кг в течение оставшегося периода отбора проб (16 дней после введения дозы). Считается, что модуляция количества циркулирующих NK-клеток является маркером функциональной активности и имеет решающее значение для демонстрации эффективности антитела к CD122 *in vivo* (см. Waldmann et al. (2020) *J Exp Med* 217:e20191062), и, следовательно, может быть успешно использован для определения оптимальной дозировки у пациентов. Никакого влияния на Т-хелперы или цитотоксические Т-клетки не наблюдалось.

ПРИМЕР 4. Разработка предварительного состава и исследования стабильности терапевтических антител к CD122

[0232] Антитела к CD122 оценивали на предмет возможности их производства с использованием панели для исследований стабильности. Десять составов антител к CD122 оценивали с использованием комбинации буфера и эксципиентов на стабильность и потенциал агрегации в концентрации 5 мг/мл. Антитела оценивали в условиях стресса с низким pH, теплового стресса, условий замораживания-оттаивания и принудительного окисления. Антитела также оценивали на предмет самоассоциации и вязкости при концентрациях >100 мг/мл.

[0233] МАВ05 и МАВ06 продемонстрировали высокую термостабильность, высокую толерантность к низким значениям pH (pH 3,0), низкий агрегационный потенциал, низкую

чувствительность к окислению и дезамидированию, а также отличную стабильность при замораживании/оттаивании в буфере с составом 25 мМ L-гистидина, 9% (мас./об.) сахара, 0,02% (мас./об.) полисорбата 80, рН 6,0. МАВ05 и МАВ06 растворяли в том же буферном растворе в концентрациях от 90 до 120 мг/мл. Вязкость МАВ05 и МАВ06 в концентрации 115 мг/мл была низкой (приблизительно 4-6 сантипуаз), что указывает на возможность создания состава для клинического применения для подкожной доставки антитела к CD122.

Таблица 1. Входные параметры биологии мишени для фармакологического моделирования IgG к CD122

Параметр	Значение системного компартмента	Значение SOA компартмента
Рецептор-лиганд (KD)	Н/Д	1 нМ (Bouchaud et al. J. Mol. Biol. (2008) 382, 1-12)
Экспрессия CD122	0,24 нМ	0,32 нМ
Оборот CD122	110 мин (Hemar et al. Eur. J. Immunol. 1994. 24: 1951-1955, Smith et al. PNAS (1985) 82:864-868, Mortier et al. J Biol Chem. 2006; 281(3):1612-9)	
Экспрессия лиганда (IL-15)	Н/Д	0,14 нМ
Оборот лиганда	24 часа (Dubois et al. Immunity, 17: 537-547, 2002)	
Объем	5,2 л (объем распределения)	0,164 л (объем интерстициальной жидкости в коже, Radtke et al. Dermatology 2010; 220:194-200)

Таблица 2. Входные параметры лекарственного средства для фармакологического моделирования IgG к CD122

Параметр лекарственного средства	Значения параметра

Схема дозирования	Раз в 4 недели (в/в) или раз в 1 неделю (п/к)
Доза	700 мг макс. в/в 100 мг макс. п/к
Путь введения	в/в или п/к
Аффинность к CD122 (KD)	> 15 нМ
T 1/2	16 дней (типичный период полужизни IgG)
Абсорбция п/к, T 1/2	2,5 дня (типичный период полужизни антитела)
MW лекарственного средства (кДа)	150 кДа
Время распределения	6 часов (типичное значение IgG)
Степень распределения (системное распределение в коже)	0,23 (на основе измеренного распределения антител в коже (Dragatin et al. Experimental Dermatology, 2016, 25, 151–164; Jadhav et al. Journal of Pharmaceutical Sciences 106 (2017) 2853-2859, Kratochwil et al (2018) PLoS ONE 13(10): e0205435, Shah and Betts (2013) mAbs 5:2, 297–305))

Таблица 3. Внутривенное введение каждые 4 недели: влияние аффинности лекарственного средства к CD122 на требования к дозированию (минимальная доза, необходимая для удовлетворения критериев ингибирования при различных аффинностях лекарственного средства)

<i>Остаточная занятость рецепторов В коже</i>	<i>Доза (1 нМ, KD)</i>	<i>Доза (10 нМ, KD)</i>	<i>Доза (20 нМ, KD)</i>
85%	144 мг	396 мг	677 мг
90%	163 мг	563 мг	1010 мг
95%	219 мг	1070 мг	2020 мг
99%	661 мг	5100 мг	10000 мг

Таблица 4. Подкожное введение раз в 1 неделю: требования к подкожному дозированию с KD 10 нМ

(Прогнозируемая доза для достижения занятости рецепторов в коже, при условии, что 100 мг — это максимальная приемлемая п/к доза)

<i>Остаточная занятость рецепторов в коже</i>	<i>Раз в 1 неделю</i>	<i>Раз в 2 недели</i>	<i>Раз в 3 недели</i>
85%	56 мг	121 мг	214 мг
90%	81 мг	563 мг	1010 мг
95%	155 мг	1070 мг	2020 мг
99%	749 мг	5100 мг	10000 мг

Таблица 5. Внутривенно один раз в 4 недели: доза для целевой занятости рецептора без системной нагрузки (10 нМ IgG, KD)

<i>Остаточная занятость рецепторов в коже</i>	<i>Доза (с системным CD122)</i>	<i>Доза (без системного CD122)</i>
85%	396 мг	121 мг
90%	565 мг	563 мг
95%	1070 мг	1070 мг
99%	5100 мг	5100 мг

Таблица 6. Аминокислотная последовательность гуманизированных переменных областей к CD122

VH M1Kβ1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLGVI WSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLQAEDTAIYYCARAGDY NYDGFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 22)
VL M1Kβ1	DIVLTQSPSSLSASVGDRVITITCSGSSSVSEMYWYQQRPGKAPRLLIYDTSN LASGVPSRFSGSGSGTSTFTISSLQPEDIATYYCQQWSTYPLTFGQGTKVE VK (SEQ ID NO: 28)

Жирный = CDR

Подчеркнуто = отличается от зародышевых линий человека IGHV3-23/JH4 (VH) и IGKV1-33/J4 (VL)

Таблица 7. Последовательности переменных областей 15 лучших уникальных антагонистических IgG к CD122, полученных из библиотеки

Клон	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
07C07	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY AASVKG (SEQ ID NO: 58)	AGDYN ^{<u>Y</u>} ND GFAY (SEQ ID NO: 27)	QASQDISF MY (SEQ ID NO: 112)	DASNL AT (SEQ ID NO: 149)	QQWDNY PLT (SEQ ID NO: 153)
07D06	SYAM H (SEQ ID NO: 56)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDYE ^{<u>Y</u>} ND GFAY (SEQ ID NO: 92)	QASQSVS HLY (SEQ ID NO: 113)	DTSNLA T (SEQ ID NO: 150)	QQWSTY PLT (SEQ ID NO: 15)
07E09	SYGM H (SEQ ID NO: 57)	VIWSGGSTDY ADSVKG (SEQ ID NO: 60)	AGDYN ^{<u>Y</u>} ND GFAY (SEQ ID NO: 27)	QASQSVS YMY (SEQ ID NO: 114)	DASNL AT (SEQ ID NO: 149)	QQWDTY PLT (SEQ ID NO: 154)
07F11	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKN ^{<u>Y</u>} ND GFAY (SEQ ID NO: 93)	QASSSISF MY (SEQ ID NO: 115)	DASNL AT (SEQ ID NO: 149)	QQWDTY PLT (SEQ ID NO: 154)
07D07	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKN ^{<u>Y</u>} ND GFAY (SEQ ID NO: 93)	QASSSISY MY (SEQ ID NO: 116)	DASNL AT (SEQ ID NO: 149)	QQWDNY PLT (SEQ ID NO: 153)
07C02	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKN ^{<u>Y</u>} ND GFAY	QASSSVS HMY (SEQ ID NO: 117)	DTSNLA T (SEQ ID NO: 150)	QQWSTY PLT (SEQ ID NO: 15)

			(SEQ ID NO: 93)	ID NO: 117)	ID NO: 150)	
07C12	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKNYD GFAY (SEQ ID NO: 93)	QASQSISF LY (SEQ ID NO: 118)	DASNL AT (SEQ ID NO: 149)	QQWSTY PLT (SEQ ID NO: 15)
07D08	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKNYD GFAY (SEQ ID NO: 93)	QASQSISF LY (SEQ ID NO: 118)	DTSNLA T (SEQ ID NO: 150)	QQWSNY PLT (SEQ ID NO: 155)
07D11	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKNYD GFAY (SEQ ID NO: 93)	QASQSISH LY (SEQ ID NO: 119)	DTSNLE T (SEQ ID NO: 151)	QQWDNY PLT (SEQ ID NO: 153)
07C08	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKNYD GFAY (SEQ ID NO: 93)	QASQSISH MY (SEQ ID NO: 120)	DTSNLE T (SEQ ID NO: 151)	QQWSTY PLT (SEQ ID NO: 15)
07D12	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKNYD GFAY (SEQ ID NO: 93)	QASSDISH LY (SEQ ID NO: 121)	DTSNLA T (SEQ ID NO: 150)	QQWDTY PLT (SEQ ID NO: 154)
06D12	SYGVH (SEQ ID NO: 24)	VIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 61)	AGDQNYD GFAY (SEQ ID NO: 94)	QASSSVS HLY (SEQ ID NO: 122)	DTSNLE T (SEQ ID NO: 151)	QQWDTY PLT (SEQ ID NO: 154)
07H10	SYAM H (SEQ ID NO: 56)	VIWSGGSTDY NDAVKG (SEQ ID NO: 62)	AGDYEYD GFAY (SEQ ID NO: 92)	QASQSISF LY (SEQ ID NO: 118)	DTSNLA T (SEQ ID NO: 150)	QQWDNY PLT (SEQ ID NO: 153)

07A02	SYAVH (SEQ ID NO: 3)	AIWSGGSTDY AAAVKG (SEQ ID NO: 63)	AGDANYD GFAY (SEQ ID NO: 7)	QASQSISY MY (SEQ ID NO: 123)	DTSNLA T (SEQ ID NO: 150)	QQWDNY PLT (SEQ ID NO: 153)
06F11	SYAVH (SEQ ID NO: 3)	AIWSGGSTDY NAAVKG (SEQ ID NO: 66)	AGDANYD GFAY (SEQ ID NO: 7)	QASQSVS FLY (SEQ ID NO: 11)	DTSNLA T (SEQ ID NO: 150)	QQWDTY PLT (SEQ ID NO: 154)

Таблица 8. Уникальные последовательности CDR, обнаруженные в полученных из библиотеки CD122-связывающих антителах.

<u>HCDR1</u>	<u>HCDR2</u>	<u>HCDR3</u>	<u>LCDR1</u>	<u>LCDR2</u>	<u>LCDR3</u>
SYAMH (SEQ ID NO: 56)	AIWSGGSTDY AAAVKG (SEQ ID NO: 63)	AGDANYDG FAY (SEQ ID NO: 7)	QASQDISF MY (SEQ ID NO: 112)	DASNLAT (SEQ ID NO: 149)	QQWDNLP LT (SEQ ID NO: 156)
SYAVH (SEQ ID NO: 3)	AIWSGGSTDY AASVKG (SEQ ID NO: 58)	AGDENYDG FAY (SEQ ID NO: 95)	QASQDISHL Y (SEQ ID NO: 124)	DASNLET (SEQ ID NO: 152)	QQWDNYP LT (SEQ ID NO: 153)
SYGMH (SEQ ID NO: 57)	AIWSGGSTDY AATVKG (SEQ ID NO: 64)	AGDHNYDG FAY (SEQ ID NO: 96)	QASQDISYL Y (SEQ ID NO: 125)	DTSNLAT (SEQ ID NO: 150)	QQWDTLP LT (SEQ ID NO: 157)
SYGVH (SEQ ID NO: 24)	AIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 59)	AGDKNYDG FAY (SEQ ID NO: 93)	QASQDISY MY (SEQ ID NO: 126)	DTSNLET (SEQ ID NO: 151)	QQWDTYP LT (SEQ ID NO: 154)
	AIWSGGSTDY ADSVKG (SEQ ID NO: 65)	AGDMNYDG FAY (SEQ ID NO: 97)	QASQDVSF LY (SEQ ID NO: 127)		QQWSNLPL T (SEQ ID NO: 158)
	AIWSGGSTDY NAAVKG (SEQ ID NO: 66)	AGDNNYDG FAY (SEQ ID NO: 98)	QASQDVSH LN (SEQ ID NO: 128)		QQWSNYP LT (SEQ ID NO: 155)

<u>HCDR1</u>	<u>HCDR2</u>	<u>HCDR3</u>	<u>LCDR1</u>	<u>LCDR2</u>	<u>LCDR3</u>
	AIWSGGSTDY NASVKG (SEQ ID NO: 67)	AGDNNYDG FEY (SEQ ID NO: 99)	QASQDVSH LY (SEQ ID NO: 129)		QQWSTLPL T (SEQ ID NO: 159)
	AIWSGGSTDY NDAVKG (SEQ ID NO: 68)	AGDQNYDG FAY (SEQ ID NO: 94)	QASQDVSH MY (SEQ ID NO: 130)		QQWSTYPL T (SEQ ID NO: 15)
	AIWSGGSTDY NDSVKG (SEQ ID NO: 69)	AGDYDYDG FAY (SEQ ID NO: 100)	QASQDVSY LY (SEQ ID NO: 131)		
	AIWSGGSTQY NAAVKG (SEQ ID NO: 70)	AGDYEYDG FAY (SEQ ID NO: 92)	QASQDVSY MY (SEQ ID NO: 132)		
	AIWSGGSTYY ADAVKG (SEQ ID NO: 71)	AGDYNLDG FAY (SEQ ID NO: 101)	QASQSFY Y (SEQ ID NO: 118)		
	AIWSGGSTYY NAAVKG (SEQ ID NO: 72)	AGDYNWDG FAY (SEQ ID NO: 102)	QASQSFY Y (SEQ ID NO: 133)		
	AIWSGGSTYY NASVKG (SEQ ID NO: 73)	AGDYNYDG FAI (SEQ ID NO: 103)	QASQSFY Y (SEQ ID NO: 119)		
	AIWSGGSTYY NDAVKG (SEQ ID NO: 74)	AGDYNYDG FAM (SEQ ID NO: 104)	QASQSFY MY (SEQ ID NO: 120)		
	AIWSGGSTDY AAAVKG (SEQ ID NO: 75)	AGDYNYDG FAN (SEQ ID NO: 105)	QASQSFY MY (SEQ ID NO: 123)		

<u>HCDR1</u>	<u>HCDR2</u>	<u>HCDR3</u>	<u>LCDR1</u>	<u>LCDR2</u>	<u>LCDR3</u>
	AIYSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 76)	AGDYNYDG FAW(SEQ ID NO: 106)	QASQSVRH MY (SEQ ID NO: 134)		
	AIYSGGSTDY NAAVKG (SEQ ID NO: 77)	AGDYNYDG FAY (SEQ ID NO: 27)	QASQSVSFL Y (SEQ ID NO: 11)		
	AIYSGGSTDY NDAVKG (SEQ ID NO: 78)	AGDYNYDG FRY (SEQ ID NO: 107)	QASQSVSF MY (SEQ ID NO: 135)		
	AIYSGGSTYY AASVKG (SEQ ID NO: 79)	AGDYNYDG LAY (SEQ ID NO: 108)	QASQSVSH LY (SEQ ID NO: 113)		
	AIYSGGSTYY ADAVKG (SEQ ID NO: 80)	AGNYNYDG FAY (SEQ ID NO: 109)	QASQSVSH MY (SEQ ID NO: 136)		
	AIYSGGSTYY NDAVKG (SEQ ID NO: 81)	AGPYNYDG FAY (SEQ ID NO: 110)	QASQSVSY LY (SEQ ID NO: 137)		
	VIWSGGSTDY AAAVKG (SEQ ID NO: 82)	AGTYNYDG FAY (SEQ ID NO: 111)	QASQSVSY MY (SEQ ID NO: 114)		
	VIWSGGSTDY AASVKG (SEQ ID NO: 83)		QASSDISFM Y (SEQ ID NO: 138)		
	VIWSGGSTDY ADAVKG (SEQ ID NO: 61)		QASSDISHL Y (SEQ ID NO: 121)		

<u>HCDR1</u>	<u>HCDR2</u>	<u>HCDR3</u>	<u>LCDR1</u>	<u>LCDR2</u>	<u>LCDR3</u>
	VIWSGGSTDY ADSVKG (SEQ ID NO: 60)		QASSDISY MY (SEQ ID NO: 139)		
	VIWSGGSTDY NAAVKG (SEQ ID NO: 84)		QASSDVSFL Y (SEQ ID NO: 140)		
	VIWSGGSTDY NASVKG (SEQ ID NO: 85)		QASSDVSF MY (SEQ ID NO: 141)		
	VIWSGGSTDY NDAVKG (SEQ ID NO: 62)		QASSDVSH LY (SEQ ID NO: 142)		
	VIWSGGSTDY NDSVKG (SEQ ID NO: 86)		QASSDVSH MY (SEQ ID NO: 143)		
	VIWSGGSTYY NDAVKG (SEQ ID NO: 87)		QASSDVSY MY (SEQ ID NO: 144)		
	VIYSGGSTDY AASVKG (SEQ ID NO: 88)		QASSSISFL Y (SEQ ID NO: 145)		
	VIYSGGSTDY ADSVKG (SEQ ID NO: 89)		QASSSISFM Y (SEQ ID NO: 115)		
	VIYSGGSTDY NDAVKG (SEQ ID NO: 90)		QASSSISHL Y (SEQ ID NO: 146)		

<u>HCDR1</u>	<u>HCDR2</u>	<u>HCDR3</u>	<u>LCDR1</u>	<u>LCDR2</u>	<u>LCDR3</u>
	VIYSGGSTYY NAAVKG (SEQ ID NO: 91)		QASSSISYL Y (SEQ ID NO: 147)		
			QASSSISYM Y (SEQ ID NO: 116)		
			QASSSVSHL Y (SEQ ID NO: 122)		
			QASSSVSH MY (SEQ ID NO: 117)		
			QASSSVSY MY (SEQ ID NO: 148)		

Таблица 9. Последовательности сконструированных переменных доменов, используемые в попарной комбинации для создания IgG1 MAB01-MAB15

DVH1	EVQLLES GGGLVQP GGSRLS CAASGFSVSSYGMHWVRQAPGKGLEWLG AIWSSGGSTDYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAG DKNYDGFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 41)
DVH2	EVQLLES GGGLVQP GGSRLS CAASGFSVSSYGMHWVRQAPGKGLEWLG VIWSSGGSTDYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAG DKNYDGFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 42)
DVH3	EVQLLES GGGLVQP GGSRLS CAASGFSVSSYGMHWVRQAPGKGLEWLG AIWSSGGSTDYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAG DHNYDGFAYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 43)

DVH4	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFSVSSYGMHWVRQAPGKGLEWLG VIWSGGSTDYADAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAG DHNYDGFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 44)
DVH5	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFSVSSYGMHWVRQAPGKGLEWLG AIWSGGSTDYND AVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAG DHNYDGFAYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 45)
DVL1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQSI SYMYWYQQRPGKAPKLLIYDTS NLATGVPSRFSGSGSGTSYFTIS SLQPEDIATYYCQQWDNYPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 46)
DVL2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISYLWYQQRPGKAPKLLIYDAS NLATGVPSRFSGSGSGTSYFTIS SLQPEDIATYYCQQWDNYPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 47)
DVL3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISYLWYQQRPGKAPKLLIYDAS NLETGVPSRFSGSGSGTSYFTIS SLQPEDIATYYCQQWDNYPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 48)

Таблица 10. Значения аффинности **VIACORE[®]** для связывания Fab с CD122 человека

<u>Аналит</u>	<u>Chi² (RU²)</u>	<u>ka (1/Mc)</u>	<u>kd (1/c)</u>	<u>KD (M)</u>	<u>KD (нМ)</u>
VillFab1	0,14	2,26E+05	3,72E-03	1,65E-08	16,46
FAB06F11-V	1,3	7,38E+06	1,30E-01	1,76E-08	17,64
FAB06F11	0,36	6,38E+06	1,52E-01	2,39E-08	23,85
FAB07C07	0,09	3,65E+06	1,55E-01	4,25E-08	42,49

Таблица 11. Значения аффинности **VIACORE[®]** для связывания Fab с CD122 резуса

<u>Аналит</u>	<u>Chi² (RU²)</u>	<u>ka (1/Mc)</u>	<u>kd (1/c)</u>	<u>KD (M)</u>	<u>KD (нМ)</u>
VillFab1	0,09	2,33E+05	2,79E-03	1,20E-08	11,98
FAB06F11-V	2,4	5,00E+06	6,06E-02	1,21E-08	12,13
FAB06F11	0,92	4,37E+06	6,50E-02	1,49E-08	14,88
FAB07C07	0,56	3,31E+06	8,40E-02	2,54E-08	25,35

Таблица 12. Варибельные домены, используемые при оптимизации 06F11-V

Последовательности VH

F11VH-1

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLGAIWSSGGSTQ
YNAAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGDANYDGFAYWGQGLV
TVSS (SEQ ID NO: 49)

F11VH-2

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVTSYAVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSSGGSTD
YNAAFISRLTISKDN SKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCARAGDANYDGFAYWGQGLV
TVSS (SEQ ID NO: 1)

F11VH-13

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLGAIWSSGGSTQ
YNAAVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAGDANYDGFAYWGQGLV
TVSS (SEQ ID NO: 50)

F11VH-23

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVTSYAVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSSGGSTD
YNAAFISRLTISKDN SKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCARAGDANYDGFAYWGQGLV
TVSS (SEQ ID NO: 51)

F11VH-12

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLGVIWSSGGSTD
YNAAFISRLTISKDN SKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCARAGDANYDGFAYWGQGLV
TVSS (SEQ ID NO: 52)

F11VH-123

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLGVIWSSGGSTD
YNAAFISRLTISKDN SKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCARAGDANYDGFAYWGQGLV
TVSS (SEQ ID NO: 53)

Последовательности VK

F11VK-12

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASSVSFMYWYQQRPGKAPRLLIYDTSNLAGVPSR
 FSGSGSGTSTFTISSLQPEDIATYYCQQWDTYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 54)

F11VK-23

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASQSVSFLYWYQQRPGKAPRLLIYDTSNLAGVPSR
 FSGSGSGTSTFTISSLQPEDIATYYCQQWSTYPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 9)

F11VK-123

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASSVSFMYWYQQRPGKAPRLLIYDTSNLAGVPSR
 FSGSGSGTSTFTISSLQPEDIATYYCQQWDTYPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 55)

Таблица 13. Значения KD для связывания Fab с CD122 человека и резуса

<u>Аналит</u>	<u>Идентификатор цепи VH</u>	<u>Идентификатор цепи Vk</u>	<u>KD на hCD122 (нМ)</u>	<u>KD на rhCD122 (нМ)</u>
FAB14	F11VH-12_VH	F11VK-23_Vk	4,34	3,52
FAB13	F11VH-12_VH	F11VK-12_Vk	5,37	3,25
FAB15	F11VH-12_VH	F11VK-123_Vk	5,54	4,47
FAB06	F11VH-2_VH	F11VK-123_Vk	8,04	9,78
FAB16	F11VH-123_VH	F11VK-12_Vk	8,56	5,04
FAB05	F11VH-2_VH	F11VK-23_Vk	10,18	8,86
FAB17	F11VH-123_VH	F11VK-23_Vk	10,67	7,93
FAB18	F11VH-123_VH	F11VK-123_Vk	11,46	8,55
VillFab-1	Vill_1_VH_Fab CH	Vill_1_VL	12,42	10,18
FAB04	F11VH-2_VH	F11VK-12_Vk	13,75	9,26
FAB06F11- V	MAB06F11_VH	MAB06F11-V_VK	15,15	13,86
FAB11	F11VH-23_VH 3	F11VK-23_Vk	17,67	15,87

FAB10	F11VH-23_VH	F11VK-12_Vk	20,99	16,72
FAB12	F11VH-23_VH	F11VK-123_Vk	21,83	19,51
FAB07	F11VH-13_VH	F11VK-12_Vk	30,08	16,27
FAB01	F11VH-1_VH	F11VK-12_Vk	33,64	14,38
FAB03	F11VH-1_VH	F11VK-123_Vk	38,58	20,55
FAB08	F11VH-13_VH	F11VK-23_Vk	41,25	30,68
FAB02	F11VH-1_VH	F11VK-23_Vk	50,61	22,5
FAB09	F11VH-13_VH	F11VK-123_Vk	72,5	36,52

Таблица 14. Активность выбранных клонов *in vitro*

КЛОН	Ингибирование	Viacore: Аффинность и кинетика Fab			Неспецифическое связывание			
	опосредованной IL-15 пролиферации M07e	hCD122	Ka	Kd	K₀	BCAM	НЕЙДЕЗИН	CILP2
	IC₅₀ (мг/мл)	(1/Мс)	(1/с)	(нМ)				
VilIFAb-1	12,1	2,7E+05	3,4E-03	12,4	сильное	--	--	
06F11-V	14,7	1,7E+06	2,6E-02	15,2	--	Сильное	среднее	
FAB05	5,2	5,7E+05	5,8E-03	10,2	--	--	--	
FAB06	7,6	5,4E+05	4,4E-03	8,0	--	--	--	
FAB14	4,9	8,5E+05	3,7E-03	4,3	сильное	--	--	
FAB15	5,1	6,1E+05	3,4E-03	5,5	сильное	--	--	
FAB17	9,7	4,3E+05	4,6E-03	10,7	сильное	--	--	
FAB18	11,1	3,4E+05	3,9E-03	11,5	среднее	--	--	

BCAM = молекула адгезии базальных клеток

NEUDESIN = нейротрофический фактор нейдезин

CILP2 = белок 2 промежуточного слоя хряща

-- = Отсутствие измеримого связывания

Таблица 15. Примеры аминокислотных последовательностей области Fc антитела

Человеческий IgG4 дикого типа

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

(SEQ ID NO: 32)

Человеческий IgG4(S228P)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

(SEQ ID NO: 33)

Человеческий IgG1 дикого типа

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 34)

Человеческий IgG1-3M

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
 APSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
 KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 35)

Человеческий IgG2 дикого типа

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
 GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVNDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPVAGPSV
 FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST
 FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM
 TKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
 QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 36)

Человеческий IgG1 дикого типа аллотип «REEM»

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 37)

Человеческий IgG1-3M аллотип «REEM»

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
 GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAG
 APSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 38)

Таблица 16. Примеры аминокислотных последовательностей мембранных белков

Последовательность CD122 человека

MAAPALSWRLPLLILLPLATSWASAAVNGTSQFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSC
 QVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTLRVLCREGVRW
 RVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGH
 TWEEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPA
 LGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCNTPDPSKFFS QLSSEH
 GGDVQKWLSSFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTS
 CFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVAGAPTGSSPQPLQPLSGEDDA
 YCTFPSRDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWD PQLGPPTPG
 VPDLVDFQPPPELVREAGEEVPDAGPREGVSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYL
 SLQELQGQDPHTLV

(SEQ ID NO: 19)

Последовательность CD122 яванского макака и макаки-резуса

MATLALSWCLPLLILLPLATSSASAAVNGTSRFTCFYNSRANISCVWSQD GALQDTSC
 QVHAWPDRRRWNQTCELLPVSQASWACNLILGTPDSQKLTAVDIVTLRVLCREGVRW
 RMMAIQDFKPFENLRMAPISLQVVHVETHRCNISWKISQASHYFERHLEFEARTLSPGH
 TWEEAPLMTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQGEFTTWSPWSQPLAFRTKPA
 ALGKDTIPWLGHLLVGLSGAFGFILVYLLINCRNTGPWLKKVLKCHTPDPSKFFS QLS
 EHGADVQKWLSSFPSSSFSPGGLAPEISPLEVLERDKVTQLLLQQDKVPEPSSLSSNRSL
 TSCFTNQGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPCAEEEPDEGGADAPTGSSPQPLRPLSAED
 DAYCTFPSGDDLLLFSPSLLGGPSPPSTAPGGSGAGEERLPPSLQERVPRDWD PQLGPPT
 PGVPDLVDFQPRPELVREAGEQVPDPGPREPFSFPWARPPGQGEVRALNARLPLNTDA
 YLSLQELQDQDPHTLV

(SEQ ID NO: 20)

Последовательность BCAM человека

MEPPDAPAQARGAPRLLLLAVLLAAHPDAQAEVRLSVPPLVEVMRGKSVILDCTPTGTH
 DHYMLEWFLTDRSGARPRLASAEMQGSSELQVTMHDTRGRSPPYQLDSQGRLVLAEAQ
 VGDERDYVCVVRAGAAGTAEATARLNVFAKPEATEVSPNKGTL SVMEDSAQEIATCNS

RNGNPAPKITWYRNGQRLEVPVEMNPEGYMTSRTVREASGLLSLTSTLYLRLRKDDRD
 ASFHCAAHYSLPEGRHGRLDSPTFHLTLHYPTEHVQFWVGSPSTPAGWVREGDTVQLL
 CRGDGSPSPEYTLFRLQDEQEEVLNVNLEGNLTLEGVTRGQSGTYGCRVEDYDAADDV
 QLSKTLELRVAYLDPLELSEGKVLSPVLSRTQNFTLLVQGSPELKTAIEIEPKADGSWREGD
 MLSLSSITFDSNGTYVCEASLPTVPVLSRTQNFTLLVQGSPELKTAIEIEPKADGSWREGD
 EVTLICSAARGHPDPKLSWSQLGGSPAIEPIGRQGWVSSSLTLKVTSALSRDGISCEASNP
 GNKRHVHFHFGTVSPQTSQAGVAVMAVAVSVGLLLLVAVFYCVRRKGGPCCRQRREK
 GAPPPGEPGLSHSGSEQPEQTGLLMGGASGGARGGSGGGFGDEC
 (SEQ ID NO: 21)

Таблица 17. Оценка взаимодействий Fc-рецепторов с помощью BIACORE®

Рецептор	Нерелевантный	Нерелевантный	06F11-V IgG1-3M	VilIMAb-1	Нерелевантный	Нерелевантный
	IgG1	IgG4		IgG1	mIgG1	mIgG2a
hFcγRIIIA _{176F}	++	+/-	-	++	ND	ND
hFcγRIIIA _{176V}	+++	-	-	+++	ND	ND
hFcγRIIB	++	+/-	-	++	ND	ND
hFcγRIIA _{167R}	++	+	+/-	++	ND	ND
hFcγRIIA _{167H}	++	+	-	++	ND	ND
hFcγRIIB	++	++	+/-	+	ND	ND
hFcγRI	++++	++++	-	++++	ND	ND
mFcRn pH 6,0	++	++	++	++	-	-
mFcRn pH 7,4	-	-	-	-	-	-
mFcγRI	++++	++++	-	++++	-	++++
mFcγRIII	++	+	-	++	++	++
mFcγRIV	++	+/-	-	++	-	+++
mFcγRIIB	++	+	-	++	++	++
mFcRn pH 6,0	++	++	++	++	+++	+++
mFcRn pH 7,4	-	-	-	-	-	-

+ = наблюдаемое относительное связывание

- = связывание не наблюдается

ND = не выполнено

Таблица 18. Аминокислотные последовательности антитела МАВ05

Название антитела	Mab5	
Домен или область	Последовательность	SEQ ID NO
Варибельная область тяжелой цепи	<u>EVQLLES</u> GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVT <u>SYAVH</u> WVRQAPGKGLEWLG <u>VIW</u> SGGSTDYNAAFISRLTIS KDNSKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>AGDANY</u> <u>DGFAYWGQ</u> GLTVTVSS	1
FR1 тяжелой цепи	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVT	2
CDR1 тяжелой цепи	SYAVH	3
FR2 тяжелой цепи	WVRQAPGKGLEWLG	4
CDR2 тяжелой цепи	VIWSGGSTDYNAAFIS	5
FR3 тяжелой цепи	RLTISKDNSKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCAR	6
CDR3 тяжелой цепи	AGDANYDGFAY	7
FR4 тяжелой цепи	WGQGLTVTVSS	8
Варибельная область легкой цепи	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>QASQSVSFLY</u> WYQ QRPQKAPRLLIY <u>DTSN</u> LASGVPSRFSGSGSGTSYFTFT ISSLQPEDIATYYC <u>QQW</u> STYPLTFGQGTKVEIK	9
FR1 легкой цепи	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC	10
CDR1 легкой цепи	QASQSVSFLY	11
FR2 легкой цепи	WYQQRPGKAPRLLIY	12
CDR2 легкой цепи	DTSNLAS	13
FR3 легкой цепи	GVPSRFSGSGSGTSYFTFTISSLQPEDIATYYC	14
CDR3 легкой цепи	QQWSTYPLT	15
FR4 легкой цепи	FGQGTKVEIK	16

Последовательности CDR подчеркнуты в последовательностях вариабельной области.

Таблица 19. Аминокислотные последовательности антитела МАВ06

Название антитела	Mab6	
Домен или область	Последовательность	SEQ ID NO
Вариабельная область тяжелой цепи	<u>EVQLLES</u> GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVT <u>SYAVH</u> WVRQAPGKGLEWLG <u>VIWSGG</u> STDYNAAFISRLTIS KDNSKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>AGDANY</u> <u>DGFAY</u> WGQGTLLTVSS	1
FR1 тяжелой цепи	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVT	2
CDR1 тяжелой цепи	SYAVH	3
FR2 тяжелой цепи	WVRQAPGKGLEWLG	4
CDR2 тяжелой цепи	VIWSGGSTDYNAAFIS	5
FR3 тяжелой цепи	RLTISKDNSKNTVYFQMNSLRAEDTAVYYCAR	6
CDR3 тяжелой цепи	AGDANYDGFAY	7
FR4 тяжелой цепи	WGQGTLLTVSS	8
Вариабельная область легкой цепи	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>QASSSV</u> SFMYWYQ QRPQKAPRLLIY <u>DTSNLA</u> SGVPSRFSGSGSGTSTFT ISSLQPEDIATYYC <u>QQWSTYPLT</u> FGQGTKVEIK	17
FR1 легкой цепи	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC	10
CDR1 легкой цепи	QASSSVSFMY	18
FR2 легкой цепи	WYQQRPGKAPRLLIY	12
CDR2 легкой цепи	DTSNLA	13
FR3 легкой цепи	GVPSRFSGSGSGTSTFTISSLQPEDIATYYC	14
CDR3 легкой цепи	QQWSTYPLT	15
FR4 легкой цепи	FGQGTKVEIK	16

Последовательности CDR подчеркнуты в последовательностях вариабельной области.

Таблица 20. Аминокислотные последовательности мышинового/гуманизированного антитела М1Кβ1

Название антитела	М1Кβ1	
Домен или область	Последовательность	SEQ ID NO
Вариабельная область тяжелой цепи	<u>EVQLLES</u> GGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVT <u>SYGVH</u> WIRQAPGKGLEWLG <u>VIW</u> SGGSTDYNAAFISRLTISK DNSKNTVYFQMNSLQAEDTAIYYCAR <u>AGD</u> YNYDG <u>FAY</u> WGQGT ²² LVTVSS	22
FR1 тяжелой цепи	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVT	23
CDR1 тяжелой цепи	SYGVH	24
FR2 тяжелой цепи	WIRQAPGKGLEWLG	25
CDR2 тяжелой цепи	VIWSGGSTDYNAAFIS	5
FR3 тяжелой цепи	RLTISKDNSKNTVYFQMNSLQAEDTAIYYCAR	26
CDR3 тяжелой цепи	AGDNYDGFAY	27
FR4 тяжелой цепи	WGQGT ⁸ LVTVSS	8
Вариабельная область легкой цепи	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITC <u>SGSSSV</u> SFMYWYQ QRPQKAPRLLIY <u>D</u> TSNLASGVPSRFSGSGSGTSYFTFT ISSLQPEDIATYYC <u>QQW</u> STYPLTFGQGTKVEVK	28
FR1 легкой цепи	DIVLTQSPSSLSASVGDRVTITC	29
CDR1 легкой цепи	SGSSSVSFMY	30
FR2 легкой цепи	WYQQRPGKAPRLLIY	12
CDR2 легкой цепи	DTSNLAS	13
FR3 легкой цепи	GVPSRFSGSGSGTSYFTFTISSLQPEDIATYYC	14
CDR3 легкой цепи	QQWSTYPLT	15
FR4 легкой цепи	FGQGTKVEVK	31

Последовательности CDR подчеркнуты в последовательностях вариабельной области.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело к CD122 или его антигенсвязывающая часть, причем антитело или антигенсвязывающая часть содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом:

(a) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 18, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15; или

(b) аминокислотная последовательность области VH содержит HCDR1, включающую SEQ ID NO: 3, HCDR2, включающую SEQ ID NO: 5, и HCDR3, включающую SEQ ID NO: 7; и аминокислотная последовательность области VL содержит LCDR1, включающую SEQ ID NO: 11, LCDR2, включающую SEQ ID NO: 13, и LCDR3, включающую SEQ ID NO: 15.

2. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по п. 1, отличающееся тем, что

(a) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 17; или

(b) аминокислотная последовательность области VH включает SEQ ID NO: 1, и аминокислотная последовательность области VL включает SEQ ID NO: 9.

3. Антитело, или антигенсвязывающая часть, по п. 1 или п. 2, отличающееся тем, что антитело, или антигенсвязывающая часть, является гуманизированным или химерным.

4. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1–3, отличающееся тем, что область VH, область VL или как область VH, так и область VL содержат одну или более аминокислотных последовательностей каркасной области человека.

5. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1–4, отличающееся тем, что область VH, область VL или как область VH, так и область VL содержат аминокислотную последовательность каркаса переменной области человека, в которую были вставлены аминокислотные последовательности CDR.

6. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1 и 3–5, отличающееся тем, что область VH содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGHV3-23, в которую были вставлены аминокислотные последовательности HCDR1, HCDR2 и HCDR3.
7. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1 и 3–6, отличающееся тем, что область VL содержит аминокислотную последовательность каркаса зародышевой линии человека IGKV1-33, в которую были вставлены аминокислотные последовательности LCDR1, LCDR2 и LCDR3.
8. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1–7, отличающееся тем, что антитело содержит константную область иммуноглобулина.
9. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по п. 8, отличающееся тем, что константная область иммуноглобулина относится к IgG, IgE, IgM, IgD, IgA или IgY.
10. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по п. 9, отличающееся тем, что константная область иммуноглобулина относится к IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 или IgA2.
11. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по п. 8, отличающееся тем, что константная область иммуноглобулина является иммунологически инертной.
12. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по п. 8, отличающееся тем, что константная область иммуноглобулина представляет собой константную область IgG4 человека дикого типа, константную область IgG4 человека, содержащую аминокислотную замену S228P, константную область IgG1 человека дикого типа, константную область IgG1 человека, содержащую аминокислотные замены L234A, L235A и G237A, или константную область IgG2 человека дикого типа, где нумерация соответствует индексу EU, как в Kabat.
13. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по п. 8, отличающееся тем, что константная область иммуноглобулина содержит любую из SEQ ID NO: 32-38.
14. Антитело, или антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1–13, отличающееся тем, что антитело или антигенсвязывающая часть представляет собой Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, макситело, миниантитело, диатело, триатело, тетратело или бис-scFv.

15. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1–14, отличающееся тем, что антитело является моноклональным.
16. Антитело, или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1–15, отличающееся тем, что антитело представляет собой тетрамерное антитело, четырехвалентное антитело или полиспецифическое антитело.
17. Антитело или его антигенсвязывающая часть, по любому из пп. 1–16, отличающееся тем, что антитело представляет собой биспецифическое антитело, которое специфически связывается с первым антигеном и вторым антигеном, причем первый антиген представляет собой CD122, а второй антиген представляет собой не CD122.
18. Иммуноконъюгат, содержащий антитело, или его антигенсвязывающую часть, по любому из пп. 1–17, связанное с терапевтическим агентом.
19. Иммуноконъюгат по п. 18, отличающийся тем, что терапевтический агент представляет собой цитотоксин, радиоизотоп, химиотерапевтический агент, иммуномодулирующий агент, цитостатический фермент, цитолитический фермент, терапевтическую нуклеиновую кислоту, антиангиогенный агент, антипролиферативный агент или проапоптотический агент.
20. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающую часть по любому из пп. 1–17, или иммуноконъюгат по п. 18 или п. 19, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент.
21. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая
- (a) аминокислотную последовательность области VH;
 - (b) аминокислотную последовательность области VL; или
 - (c) аминокислотные последовательности как области VH, так и области VL
- антитела. или его антигенсвязывающей части, по любому из пп. 1–17.
22. Вектор экспрессии, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п. 21.

23. Рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п. 21 или вектор экспрессии по п. 22.

24. Способ получения антитела к CD122 или его антигенсвязывающей части, включающий:

культивирование рекомбинантной клетки-хозяина, содержащей вектор экспрессии по п. 22, в условиях, при которых молекула нуклеиновой кислоты экспрессируется, тем самым продуцируя антитело или антигенсвязывающую часть; и

выделение антитела или антигенсвязывающей части из клетки-хозяина или культуры.

25. Способ подавления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или антигенсвязывающей части по любому из пп. 1–17, иммуноконъюгата по п. 18 или п. 19, или фармацевтической композиции по п. 20.

26. Способ по п. 25, отличающийся тем, что иммунный ответ опосредован CD122.

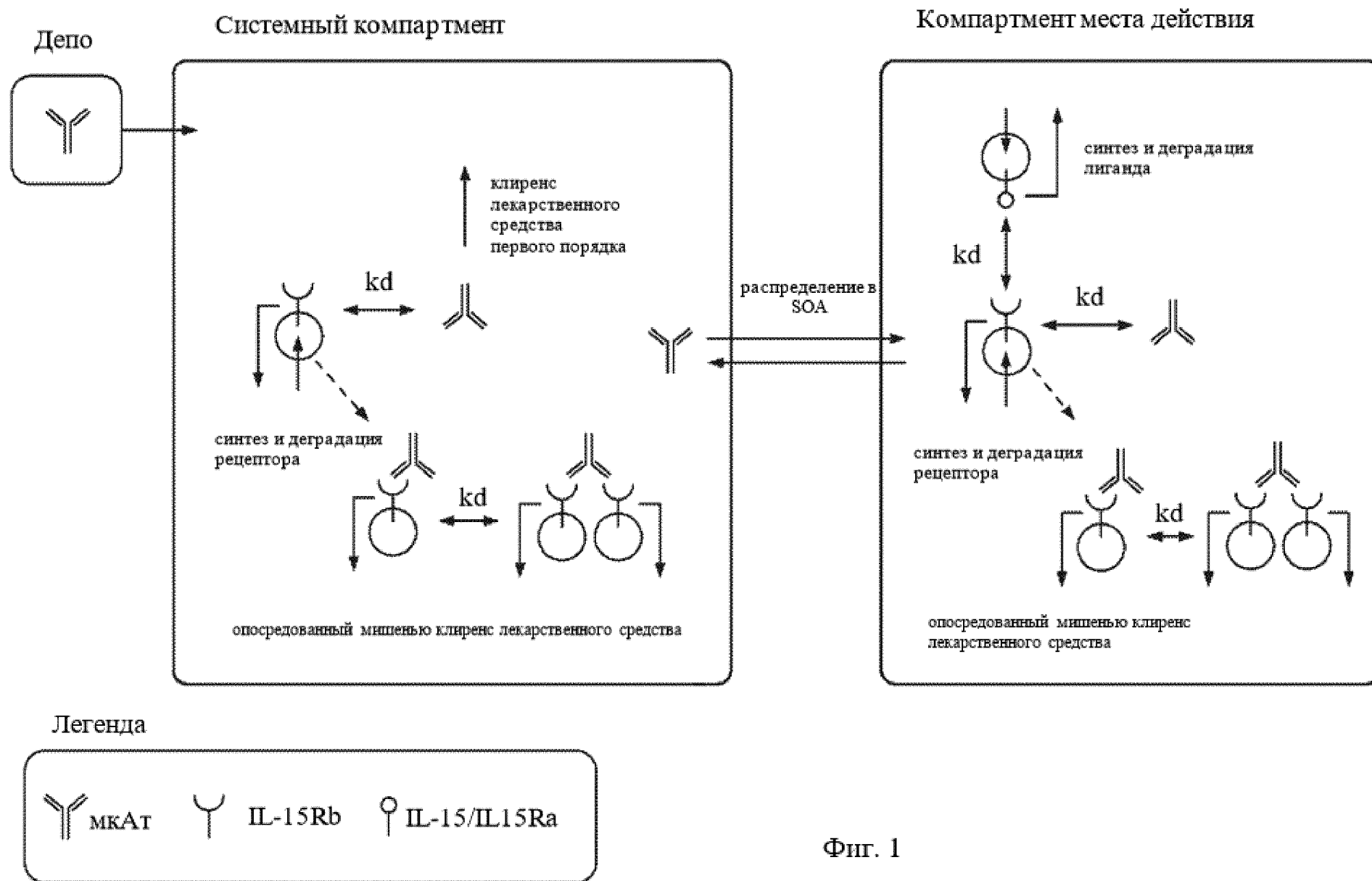
27. Способ лечения или предотвращения заболевания у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающей части, по любому из пп. 1–17, иммуноконъюгата по п. 18 или п. 19, или фармацевтической композиции по п. 20.

28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что заболевание представляет собой воспалительное заболевание или аутоиммунное заболевание.

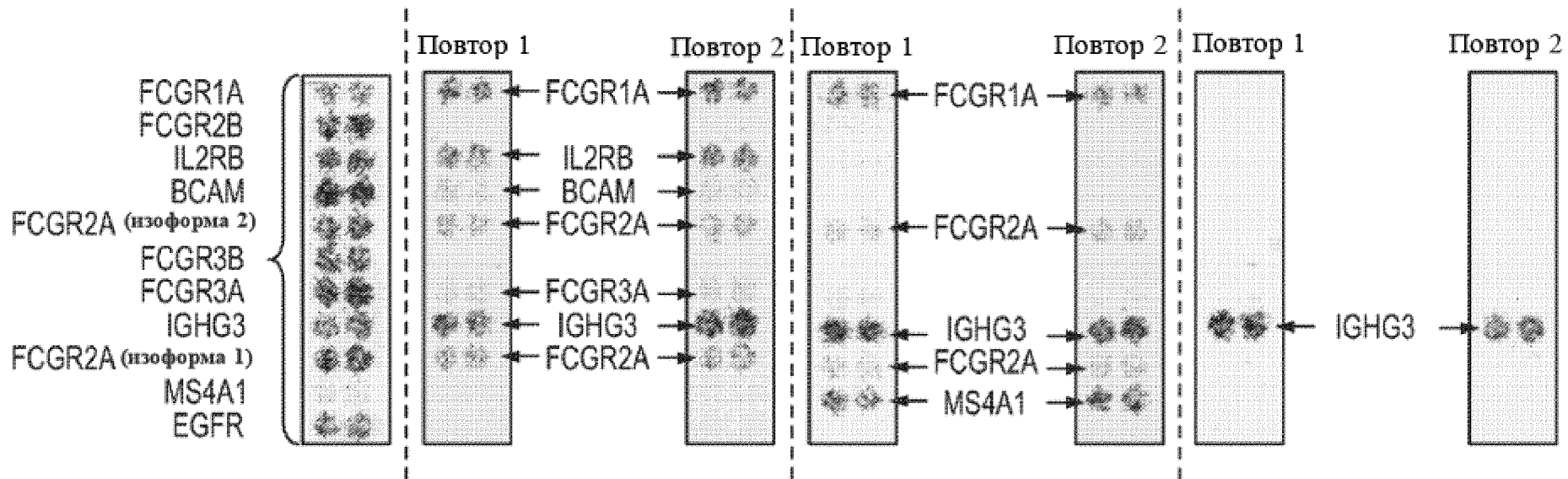
29. Способ по п. 27, отличающийся тем, что заболевание представляет собой витилиго, целиакию, диабет 1 типа, рассеянный склероз, болезнь «трансплантат против хозяина», системную красную волчанку, псориаз, атопический дерматит, очаговую алопецию, язвенный колит или ревматоидный артрит.

30. Способ подавления индуцированной IL-15 миграции Т-клеток из кожи, включающий приведение в контакт кожи с терапевтически эффективным количеством антитела или антигенсвязывающей части по любому из пп. 1–17, иммуноконъюгата по п. 18 или п. 19, или фармацевтической композиции по п. 20.

31. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1–17, иммуноконъюгат по п. 18 или п. 19, или фармацевтическая композиция по п. 20 для применения в качестве лекарственного препарата.



Фиг. 1

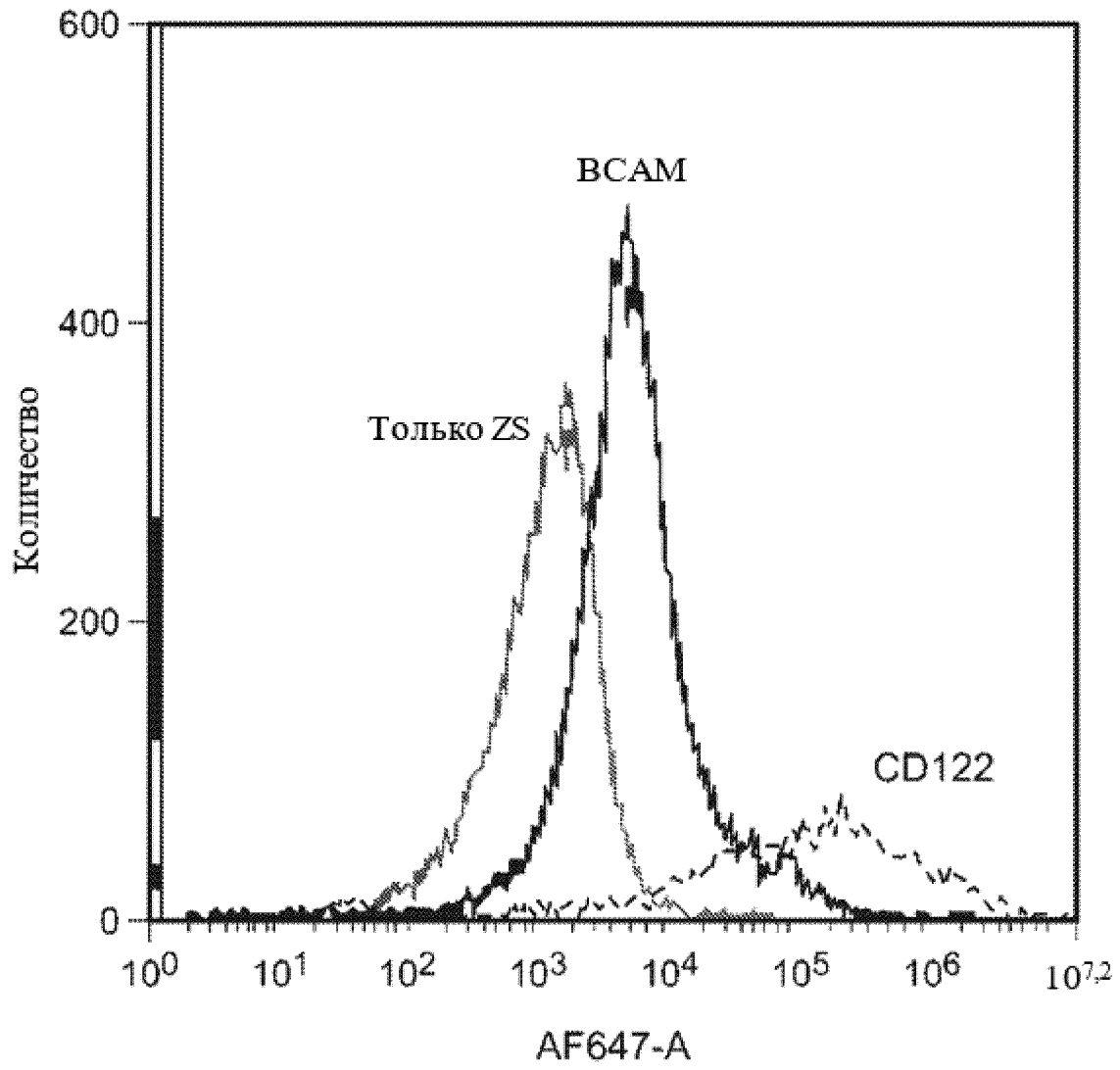


Фиг. 2А

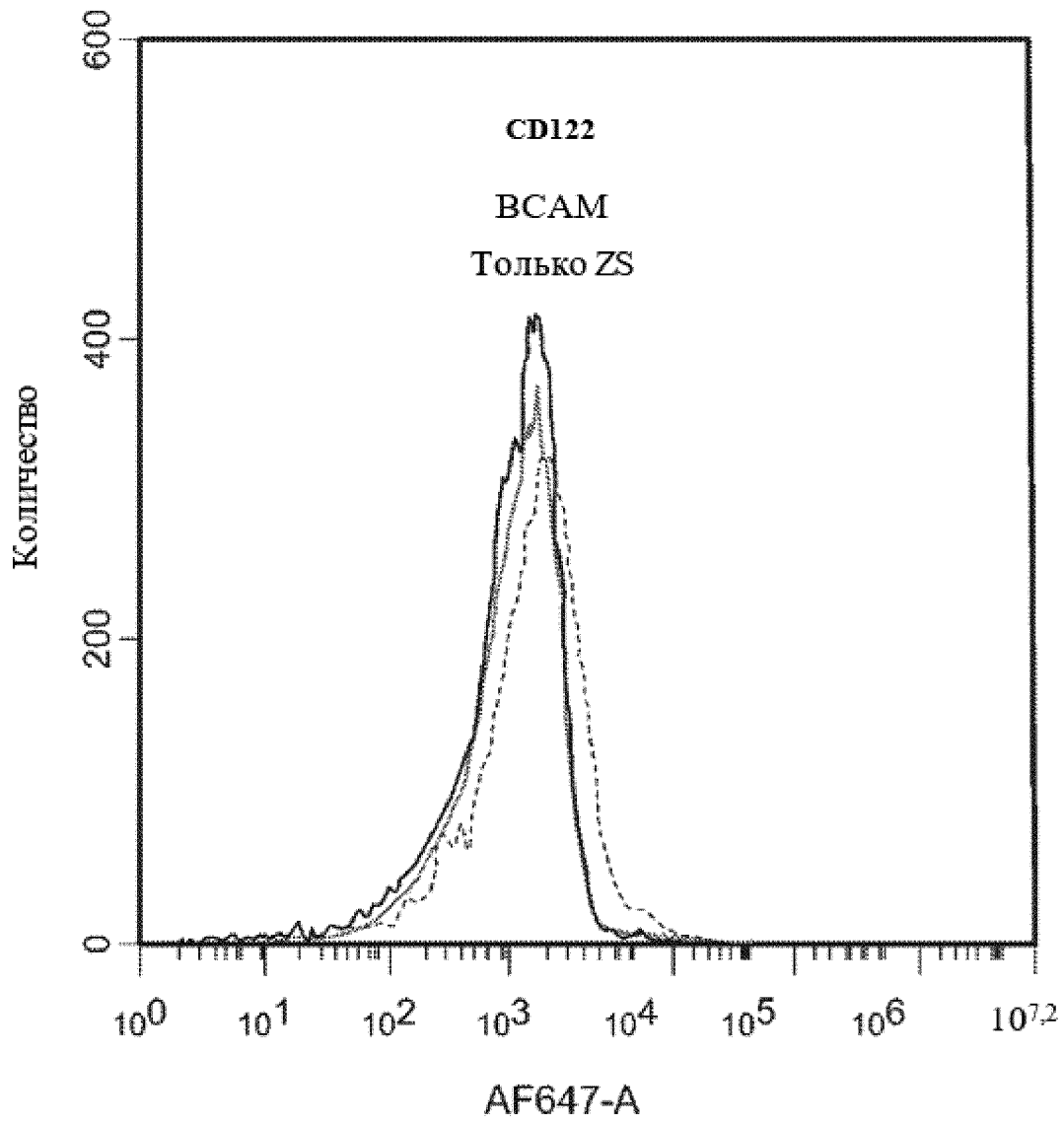
Фиг. 2В

Фиг. 2С

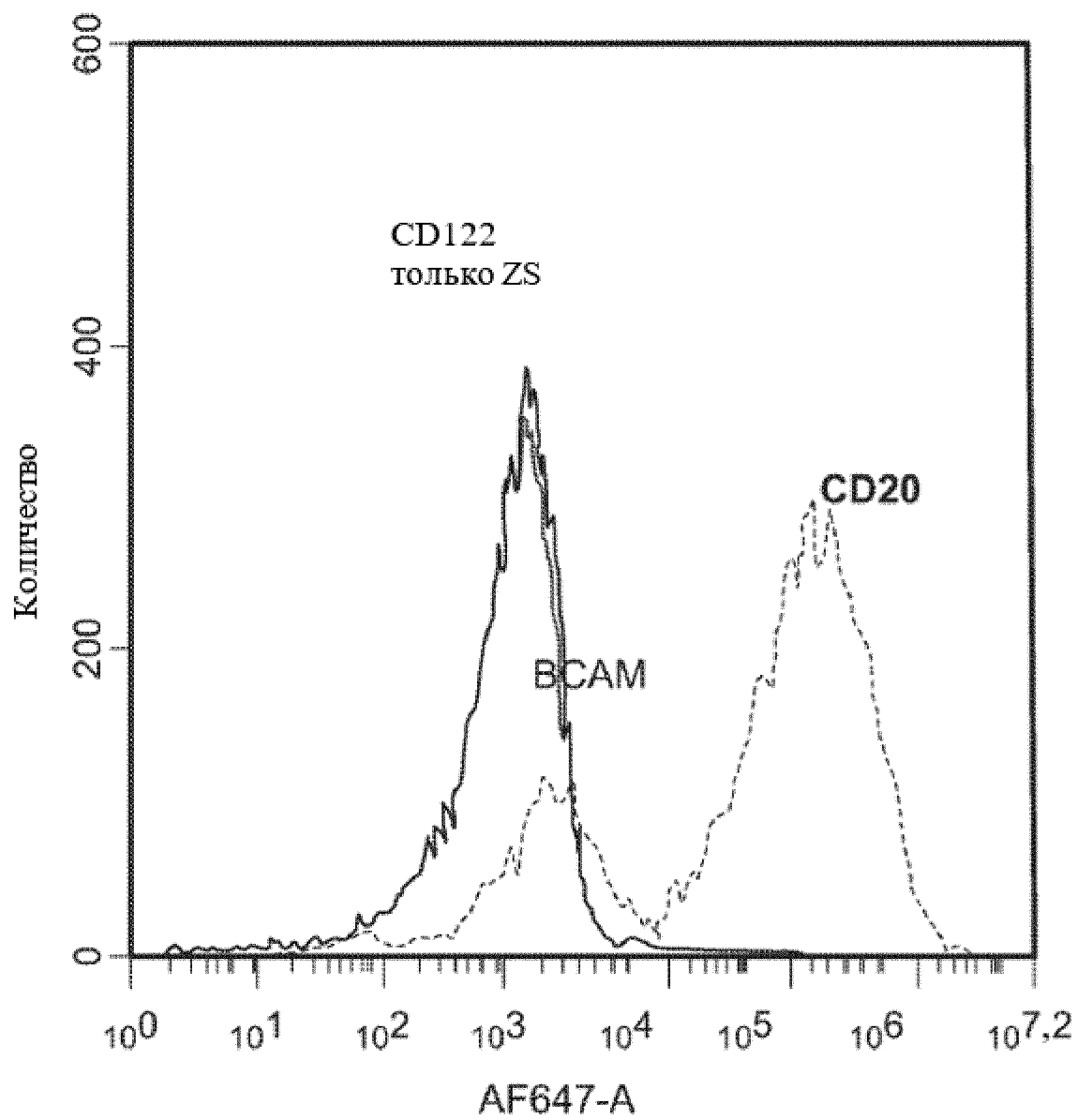
Фиг. 2D



ФИГ. 3А



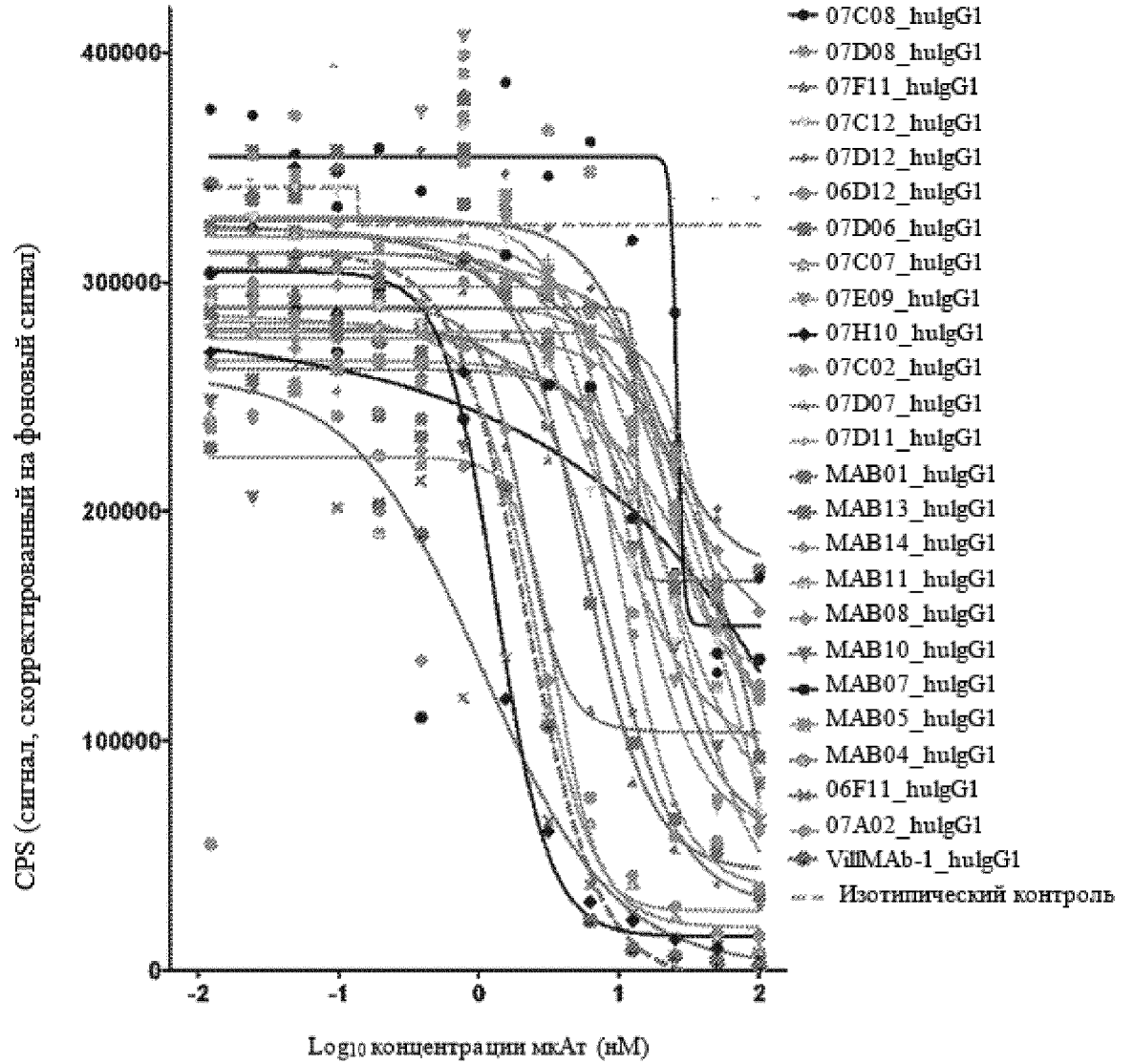
ФИГ. 3В



Фиг. 3С

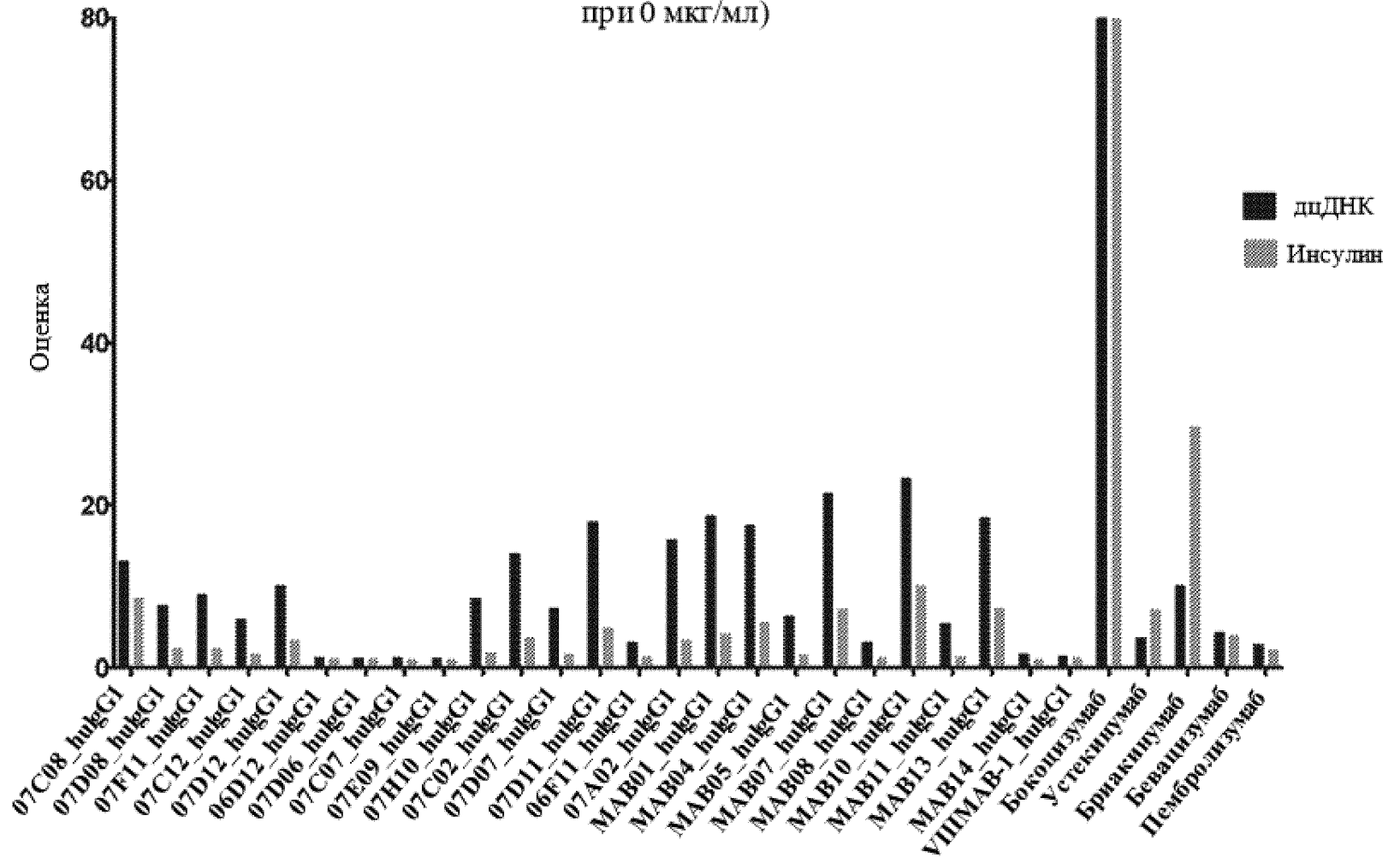
Фиг. 4

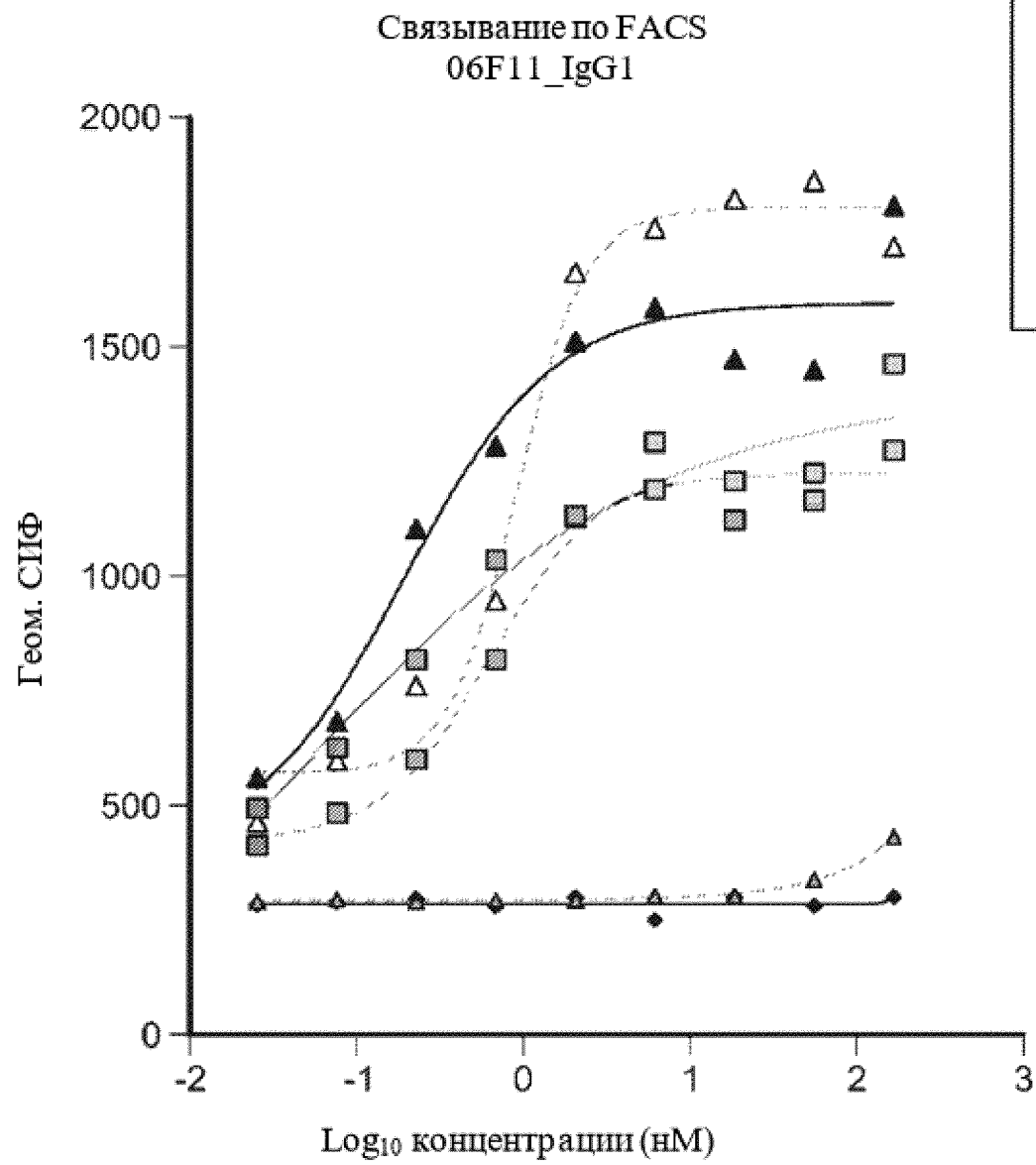
Конкурентный скрининг
V8MAB-1



Фиг. 5

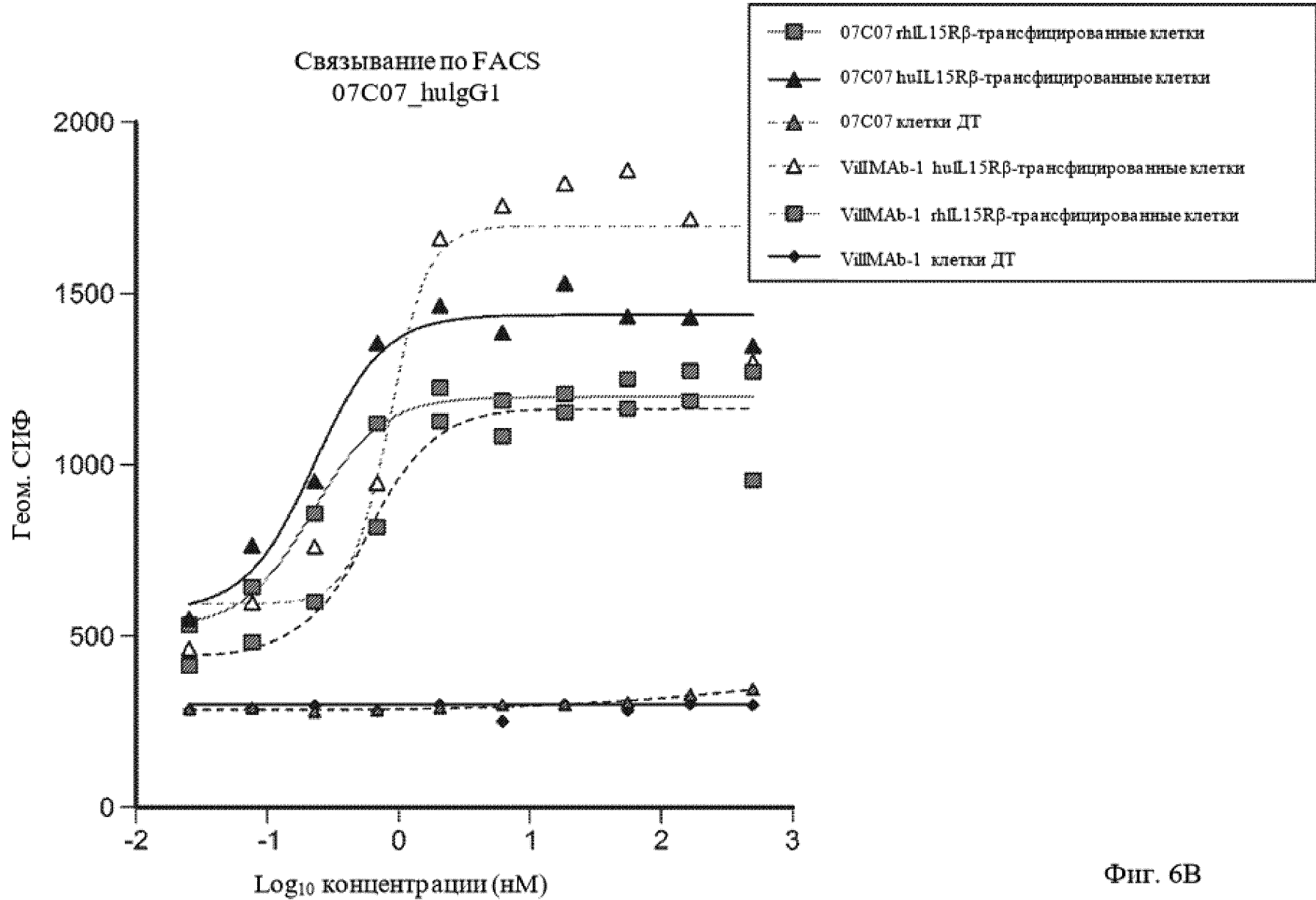
Оценка полиреактивности
 (ОП при 450нм при 10 мкг/мл:ОП при 450нм
 при 0 мкг/мл)



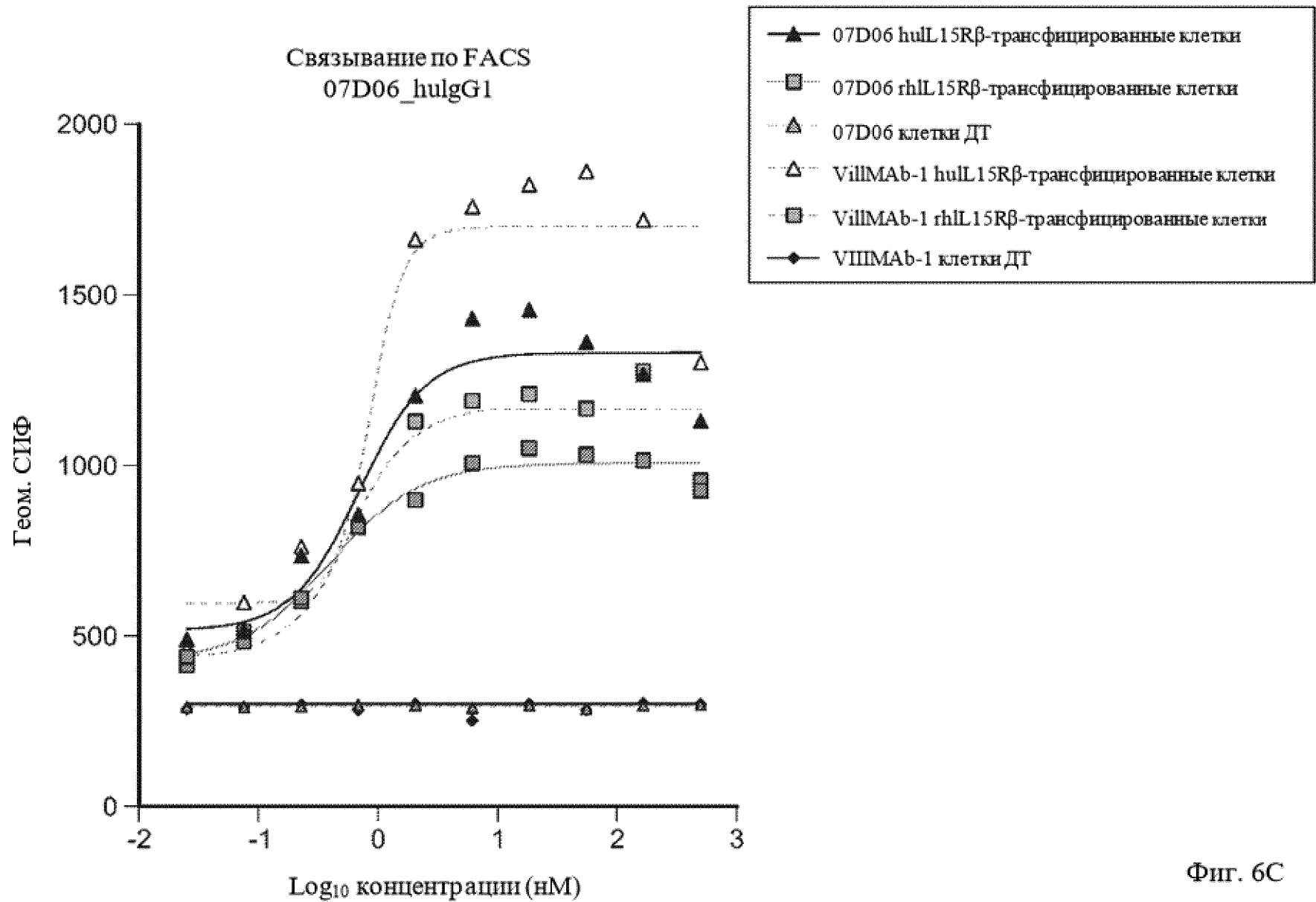


- ▲— 06F11 huIL15Rβ-трансфицированные клетки
- 06F11_rhIL15Rβ-трансфицированные клетки
- -△- - VIIIMAb-1 huIL15Rβ-трансфицированные клетки
- -■- - VIIIMAb-1 rhIL15Rβ-трансфицированные клетки
- △--- 06F11 клетки ДТ
- ◆— VIIIMAb-1 клетки ДТ

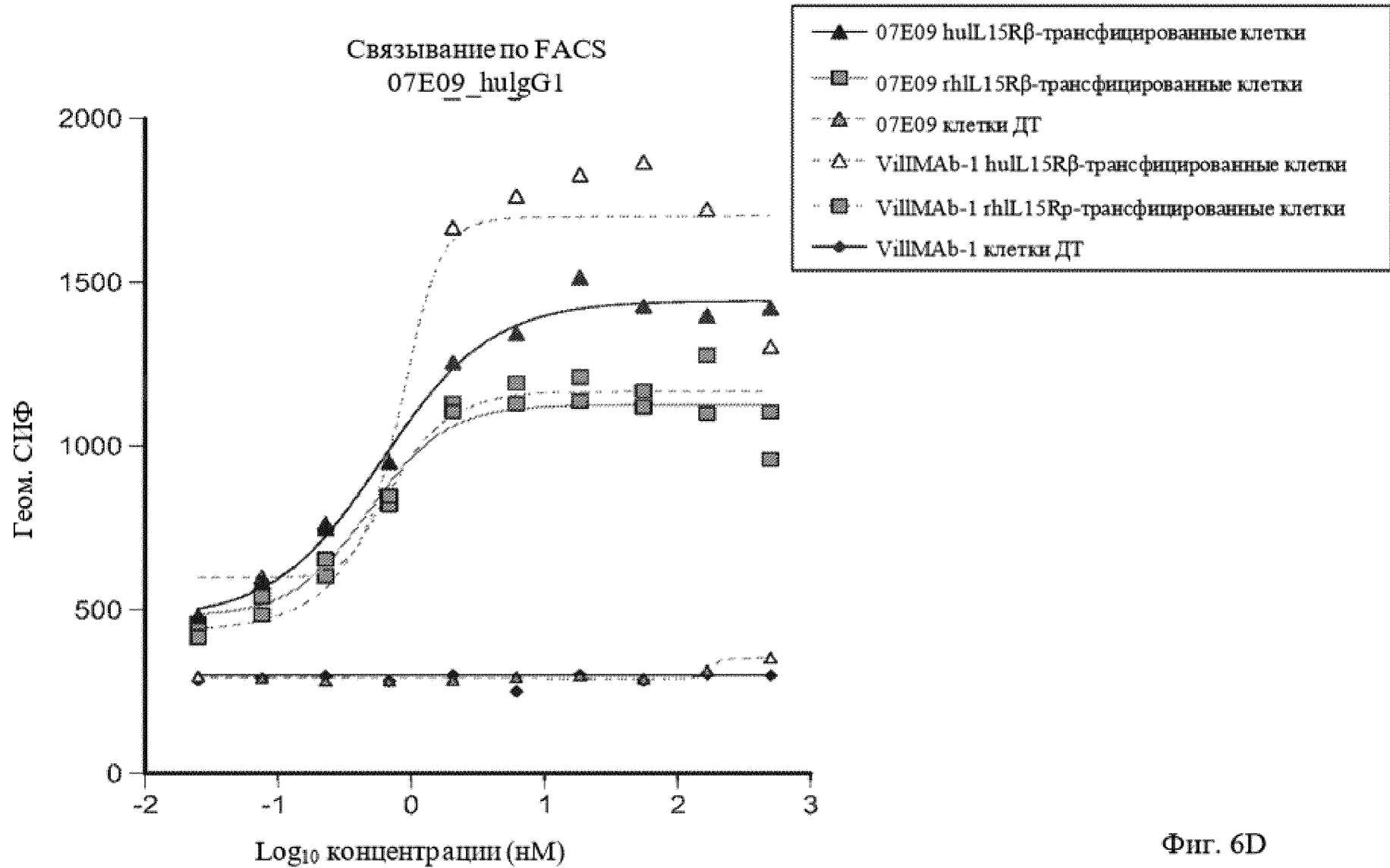
Фиг. 6А



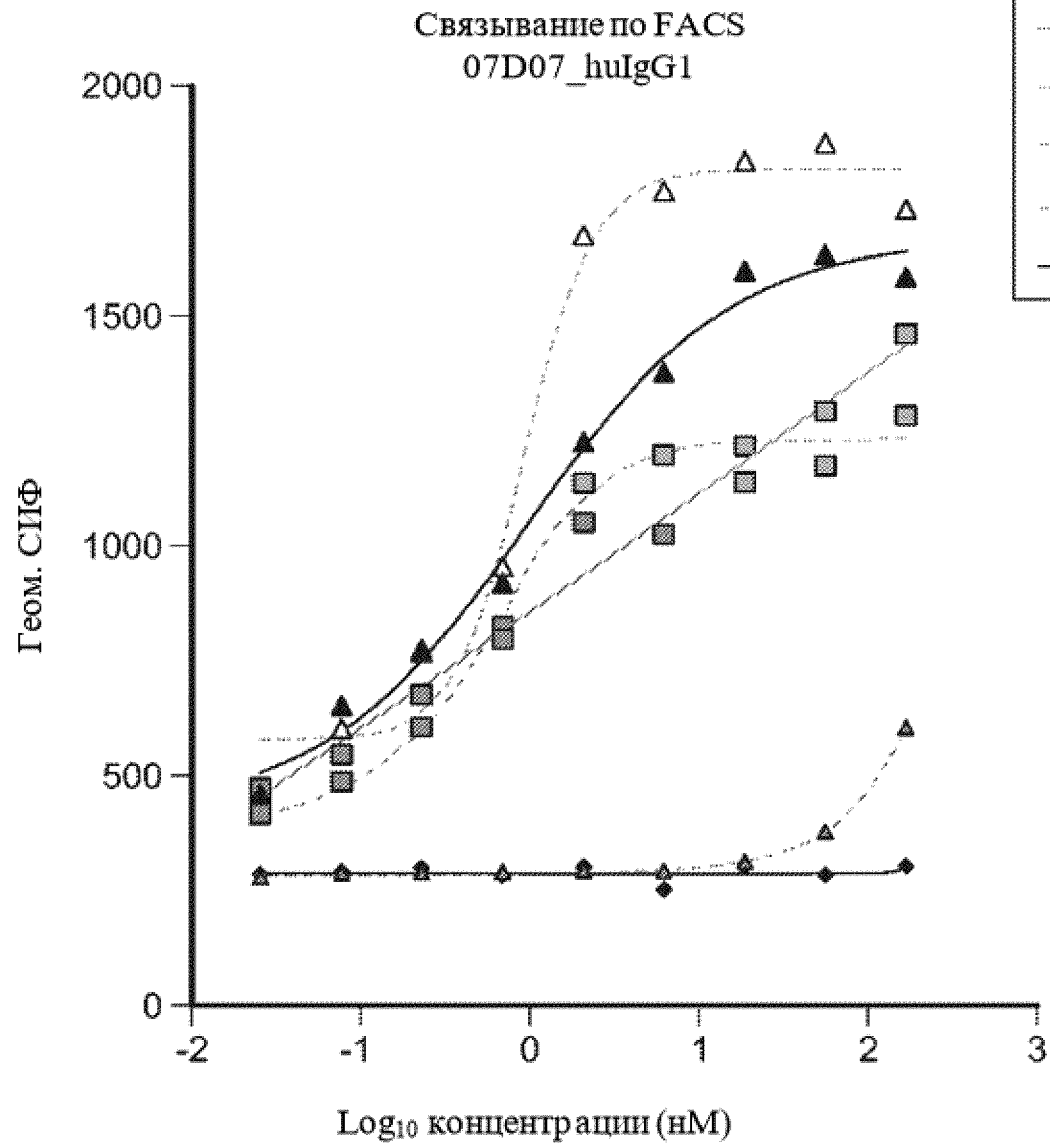
Фиг. 6В



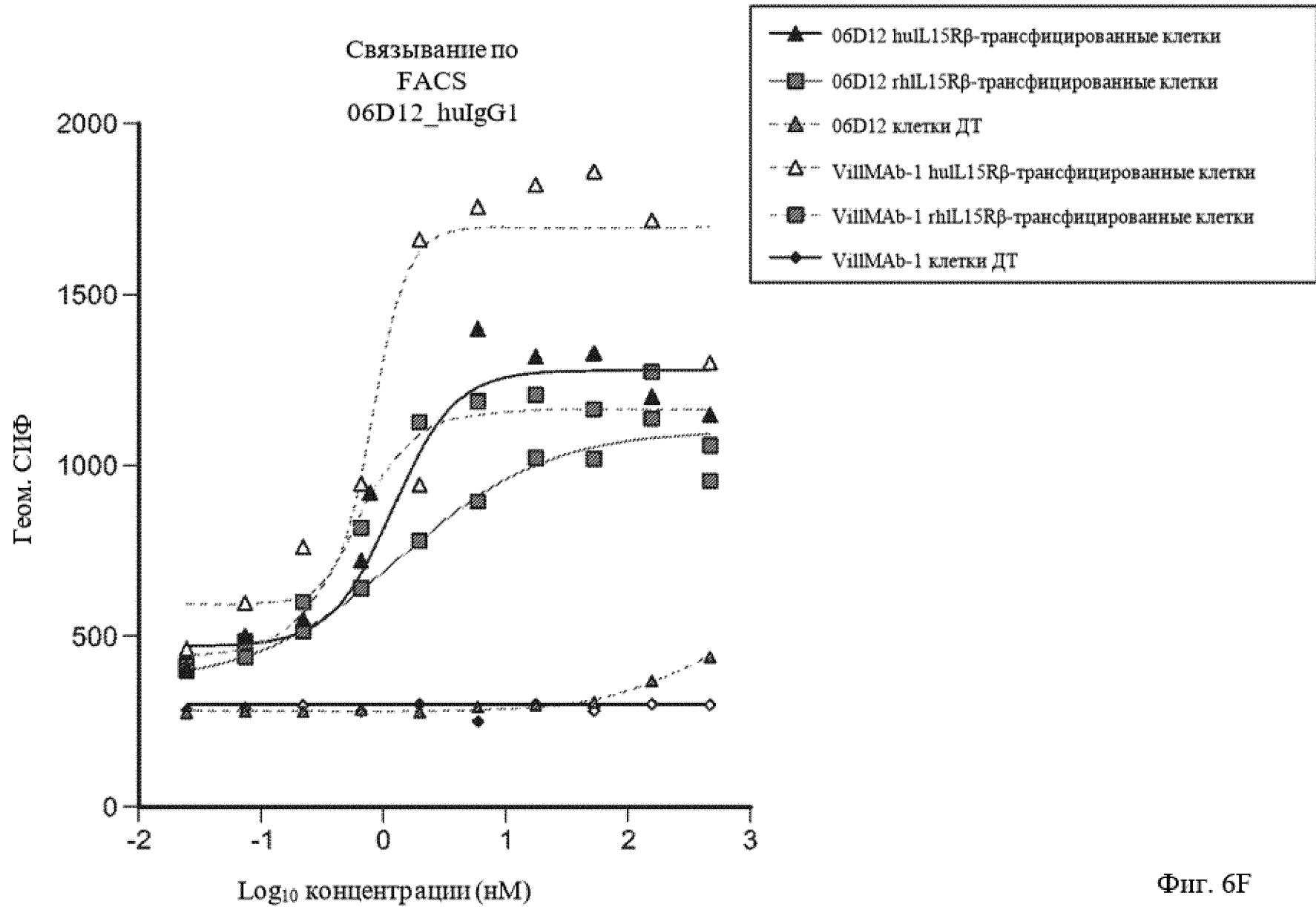
Фиг. 6С



Фиг. 6D

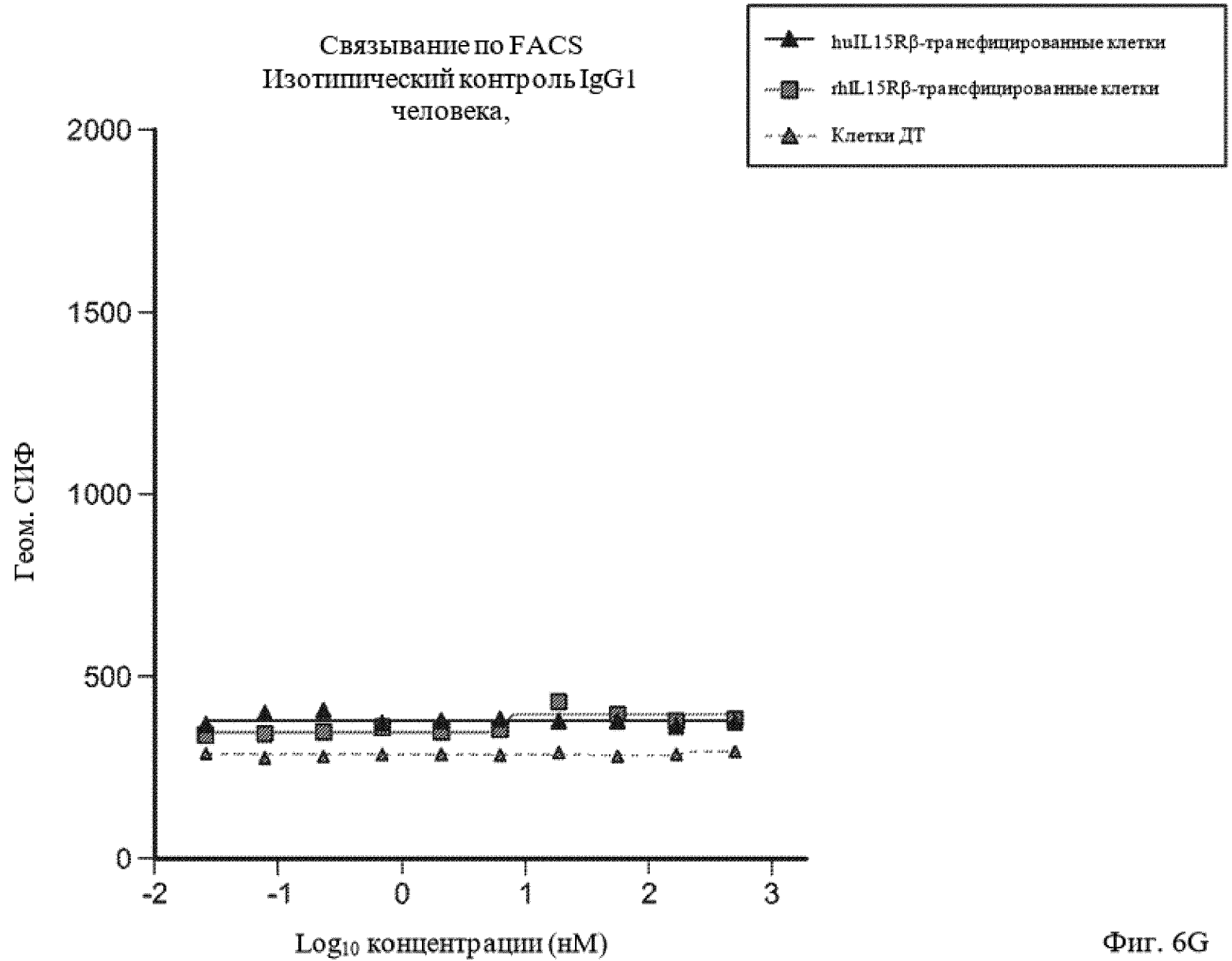


Фиг. 6E



Фиг. 6F

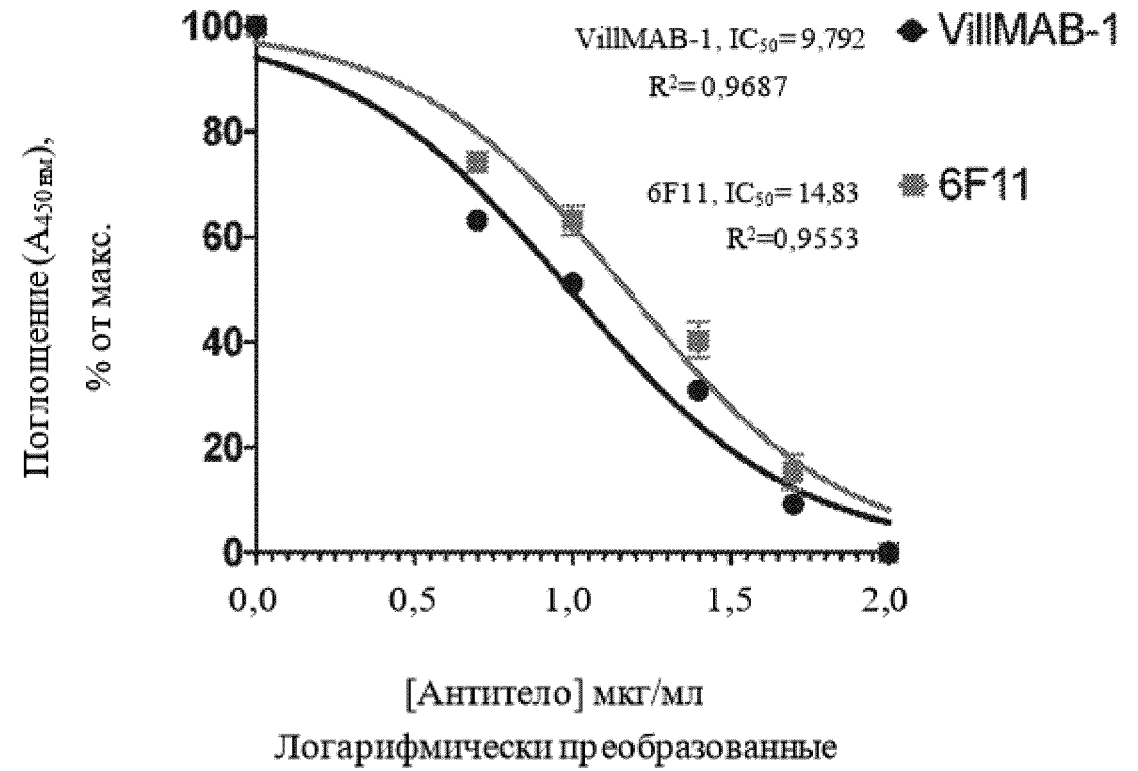
Связывание по FACS
Изотипический контроль IgG1
человека,



Фиг. 6G

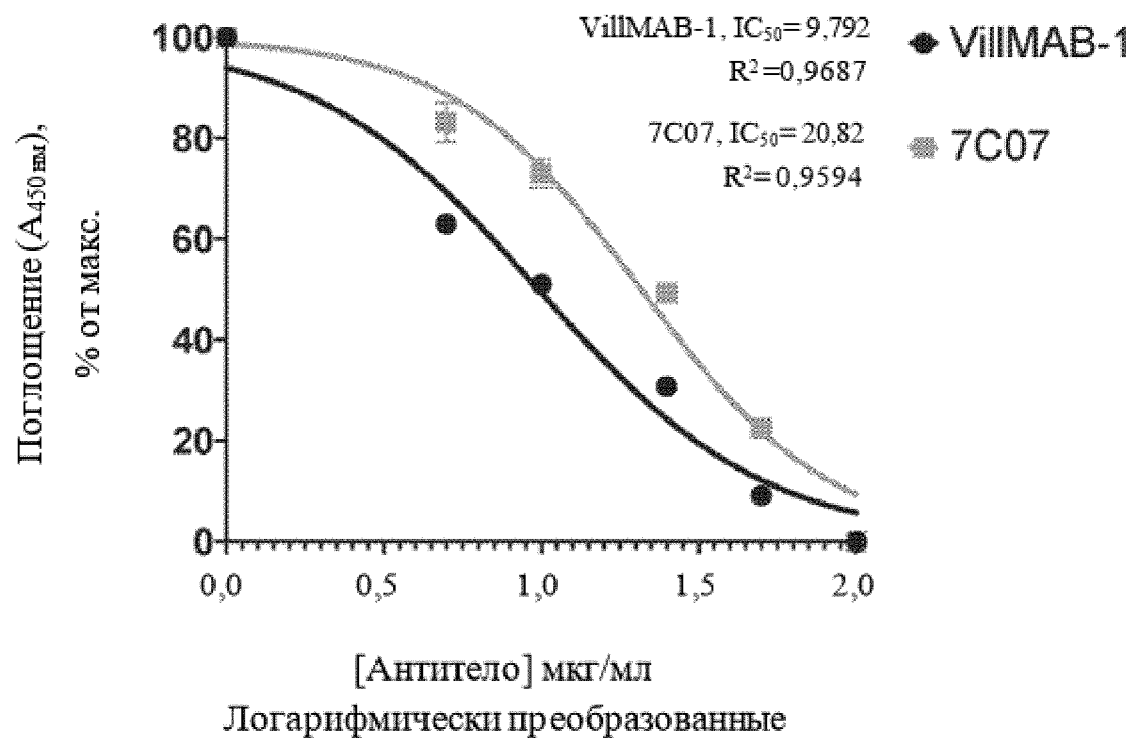
Фиг. 7А

VillMAB-1 и 6F11



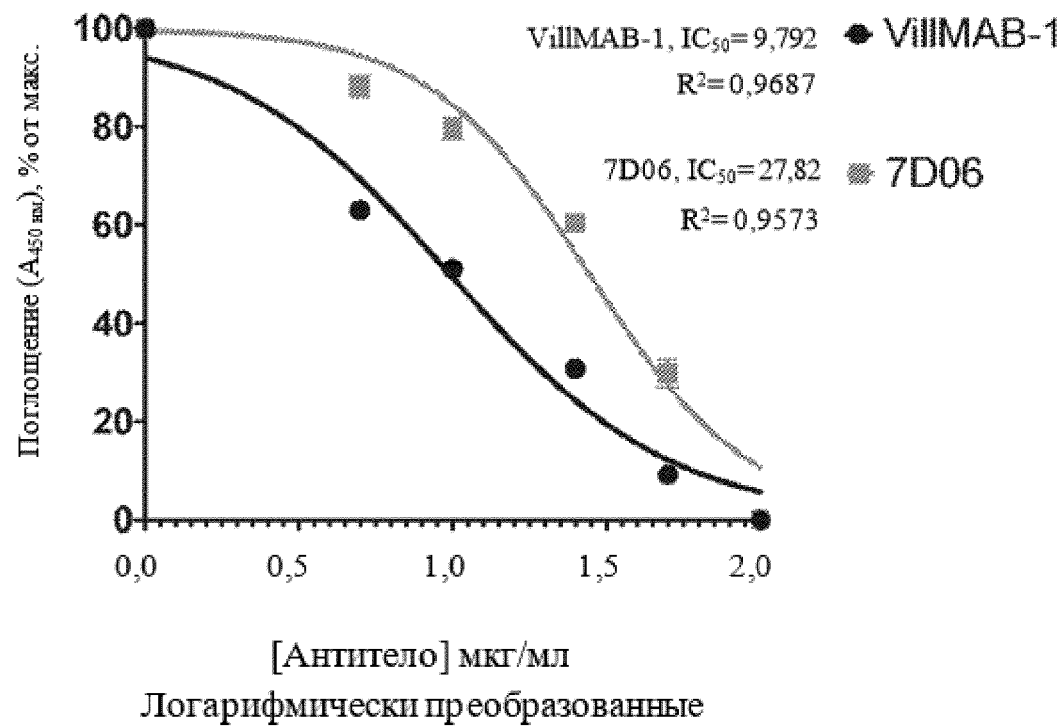
Фиг. 7В

VillMAB-1 и 7C07



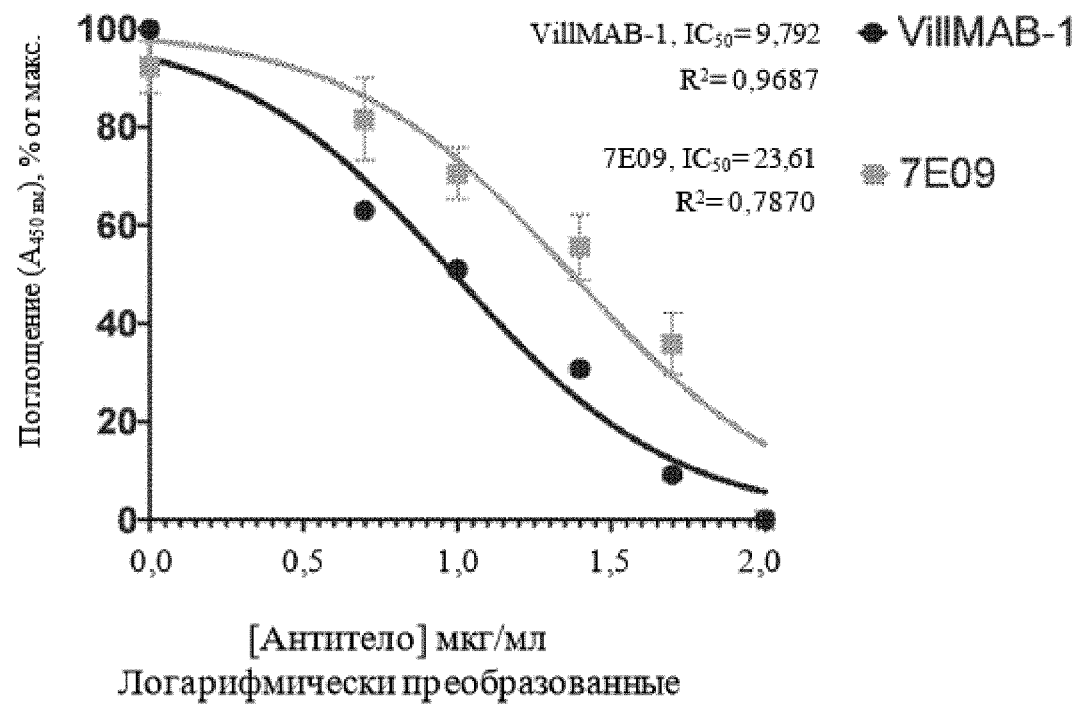
Фиг. 7С

VllMAB-1 и 7D06



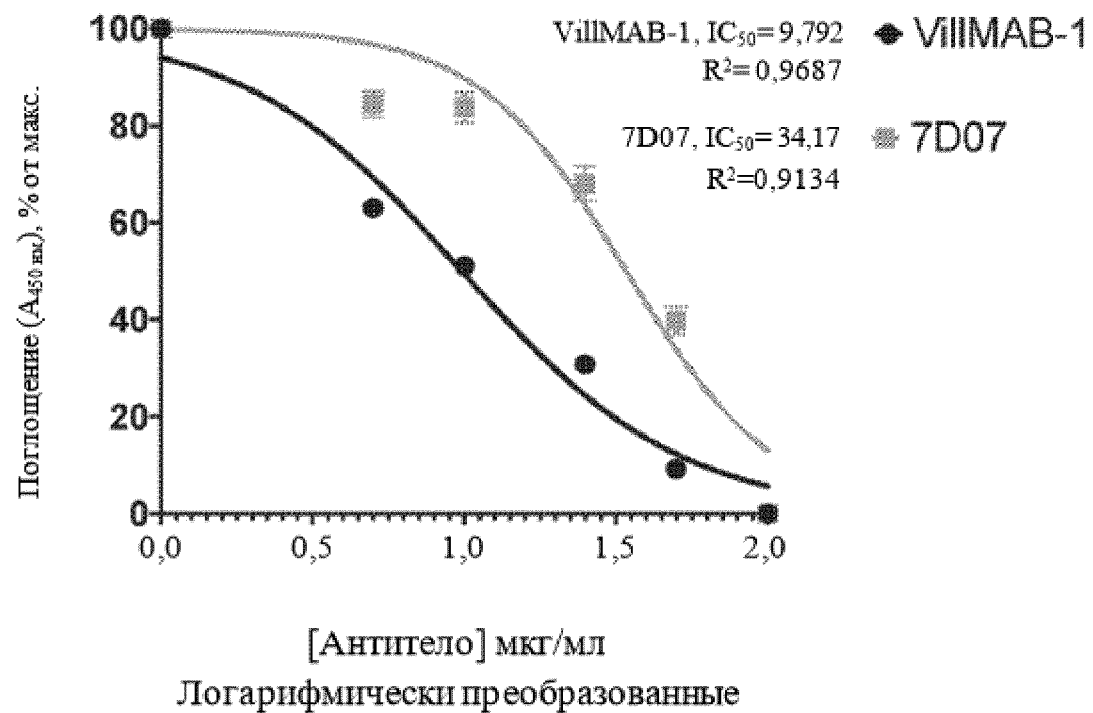
Фиг. 7D

VillMAB-1 и 7E09



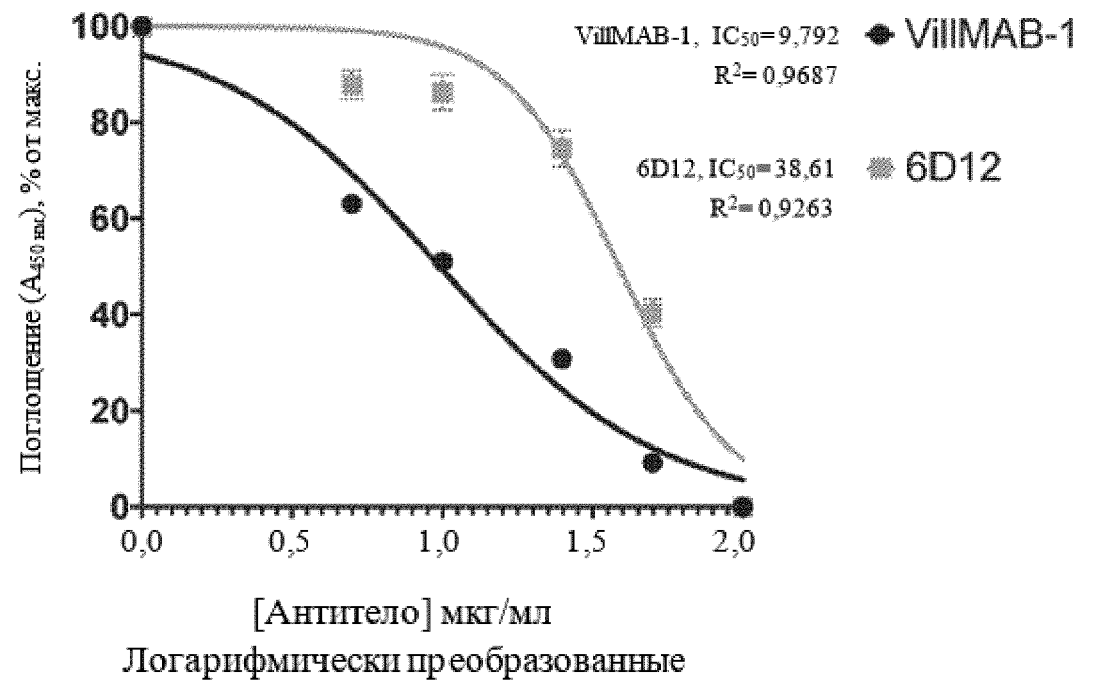
Фиг. 7Е

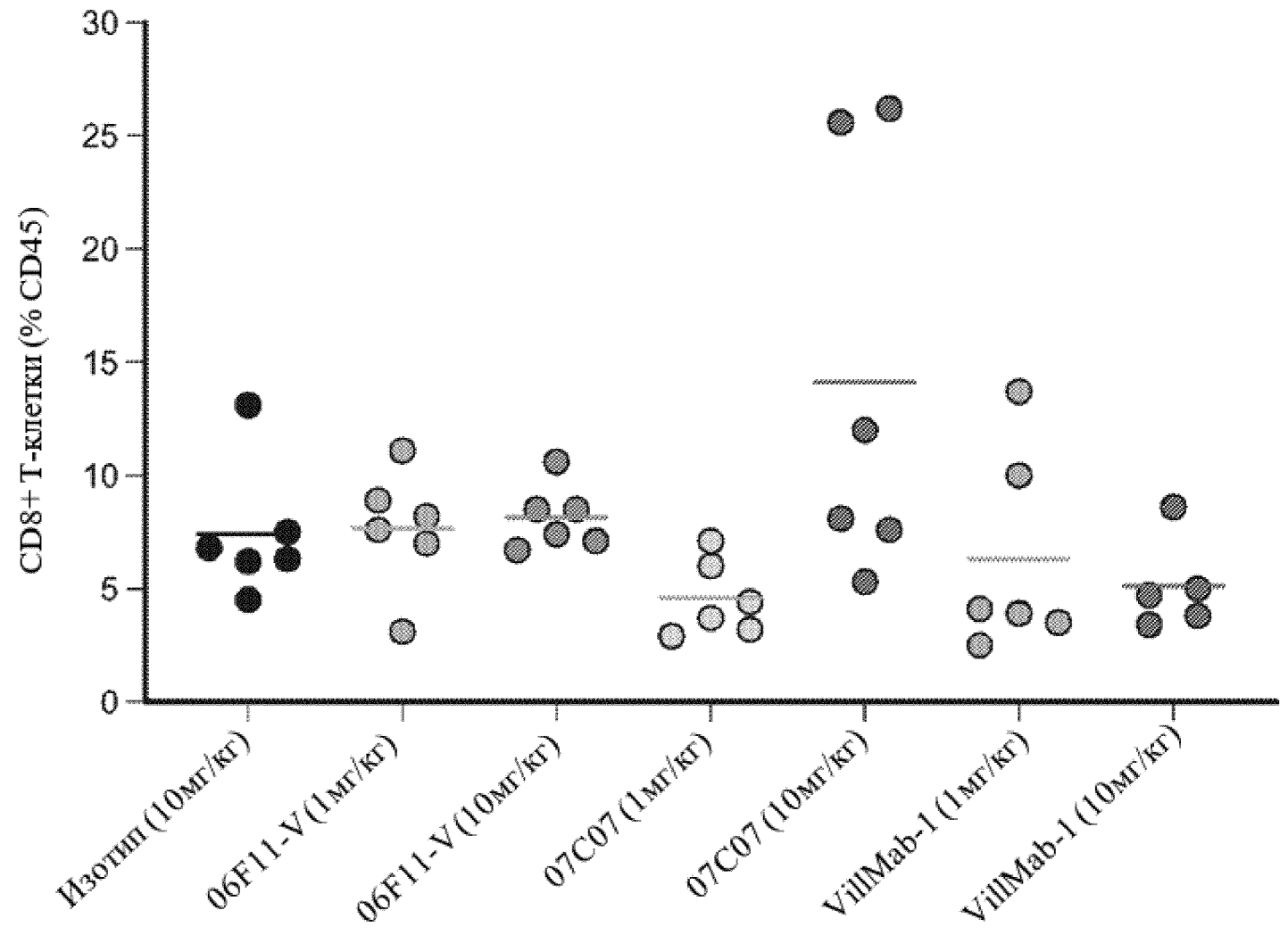
VilIMAB-1 и 7D07



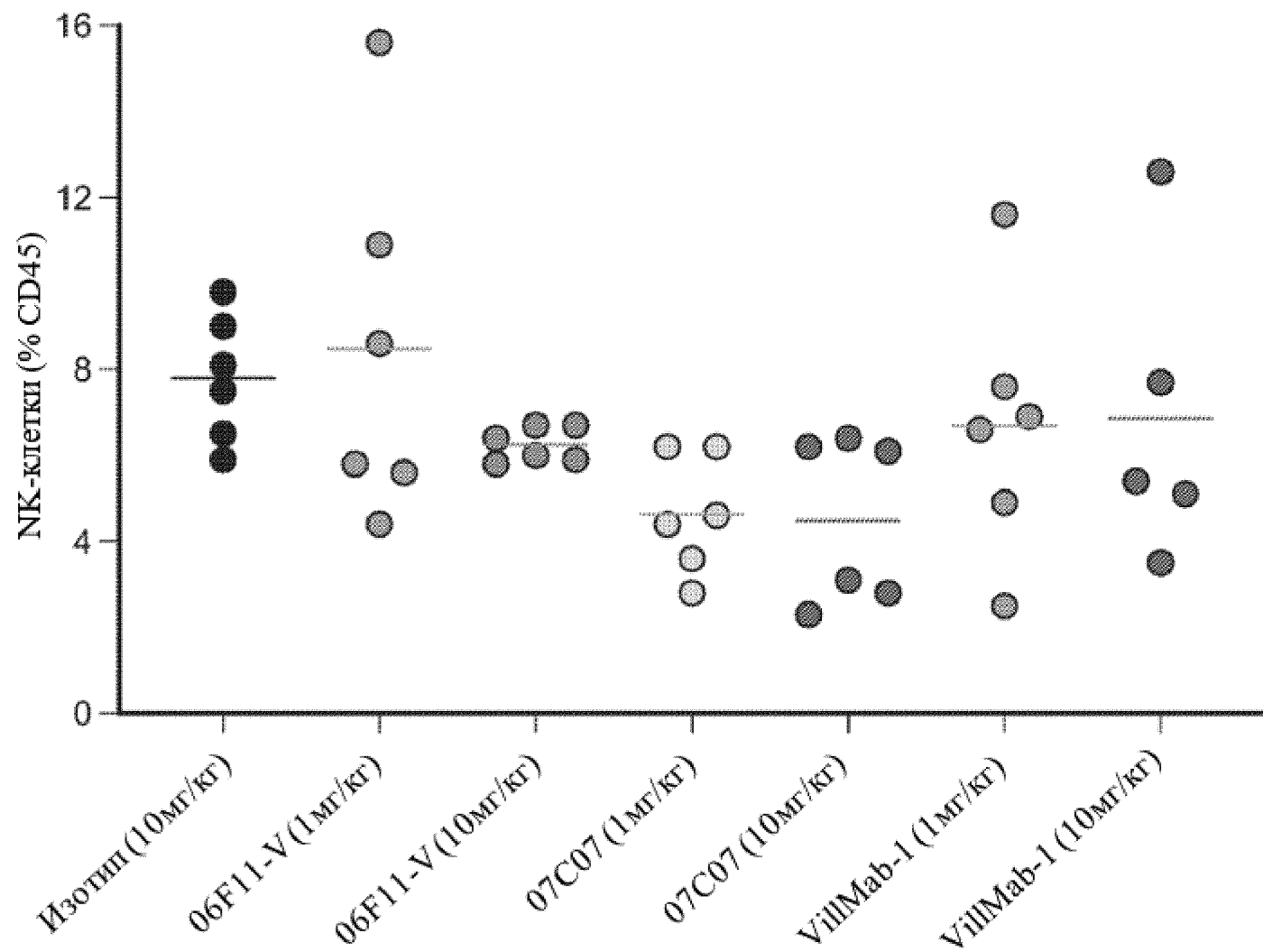
Фиг. 7F

VIIIМAB-1 и 6D12

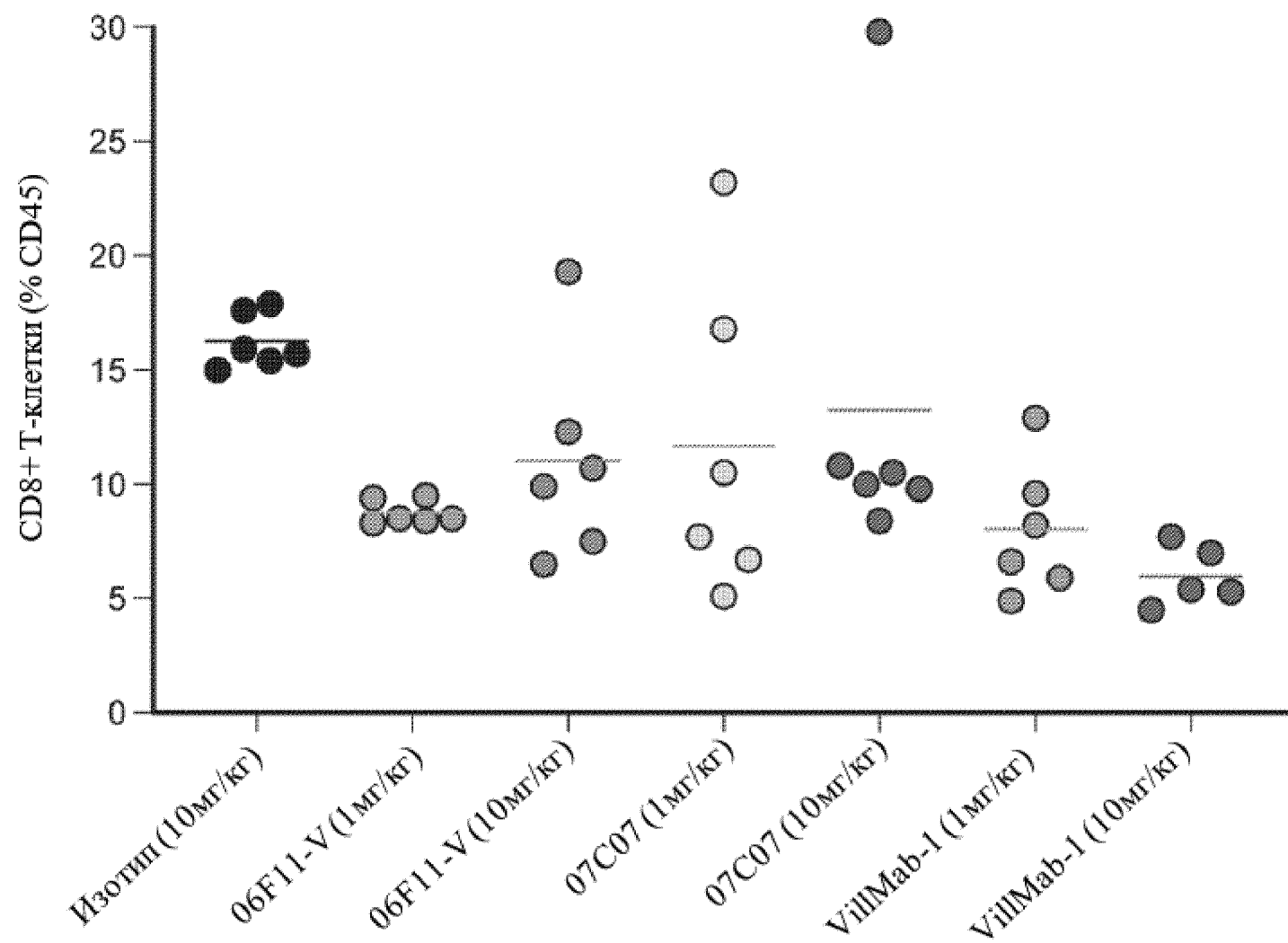




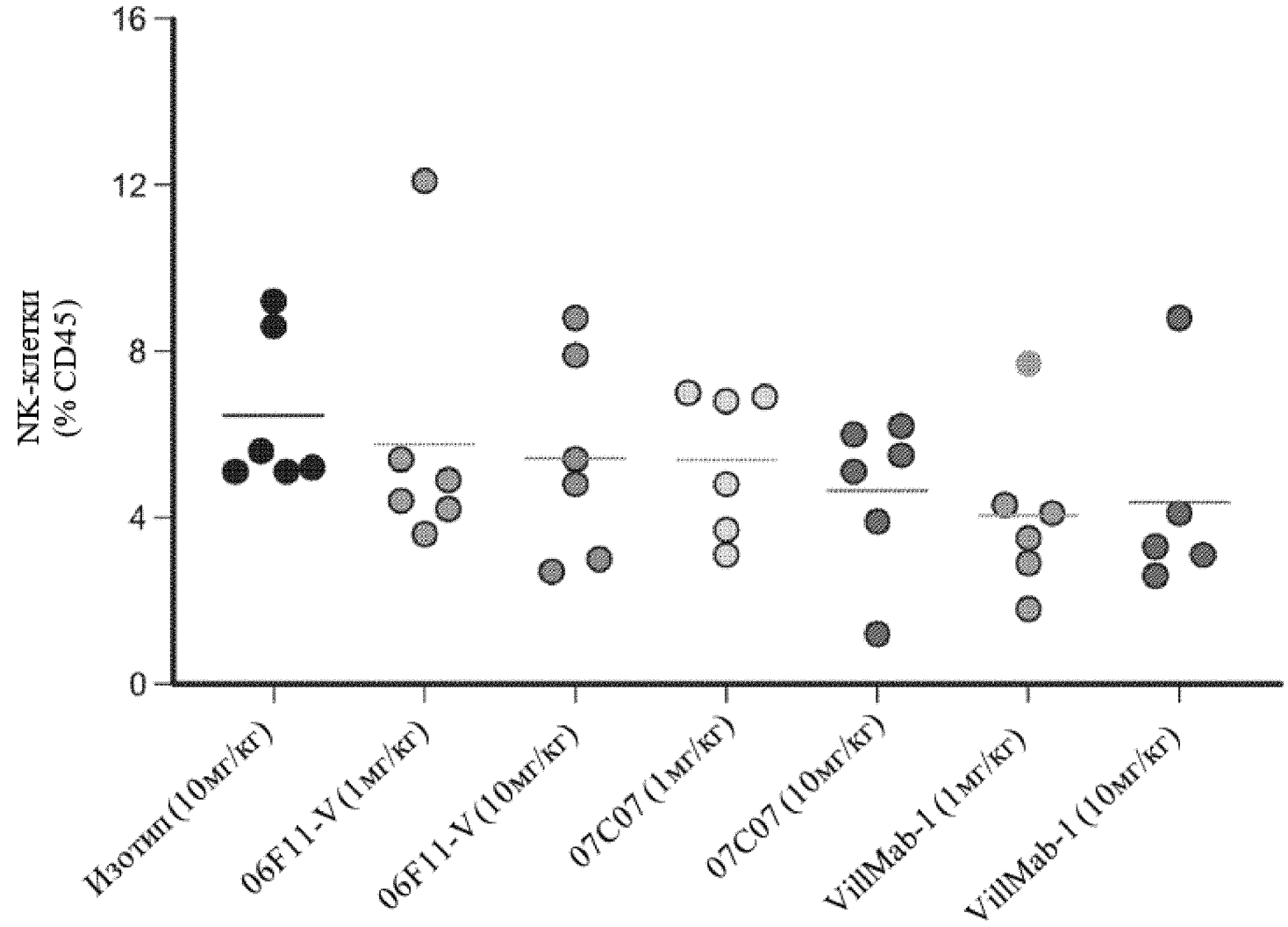
Фиг. 8А



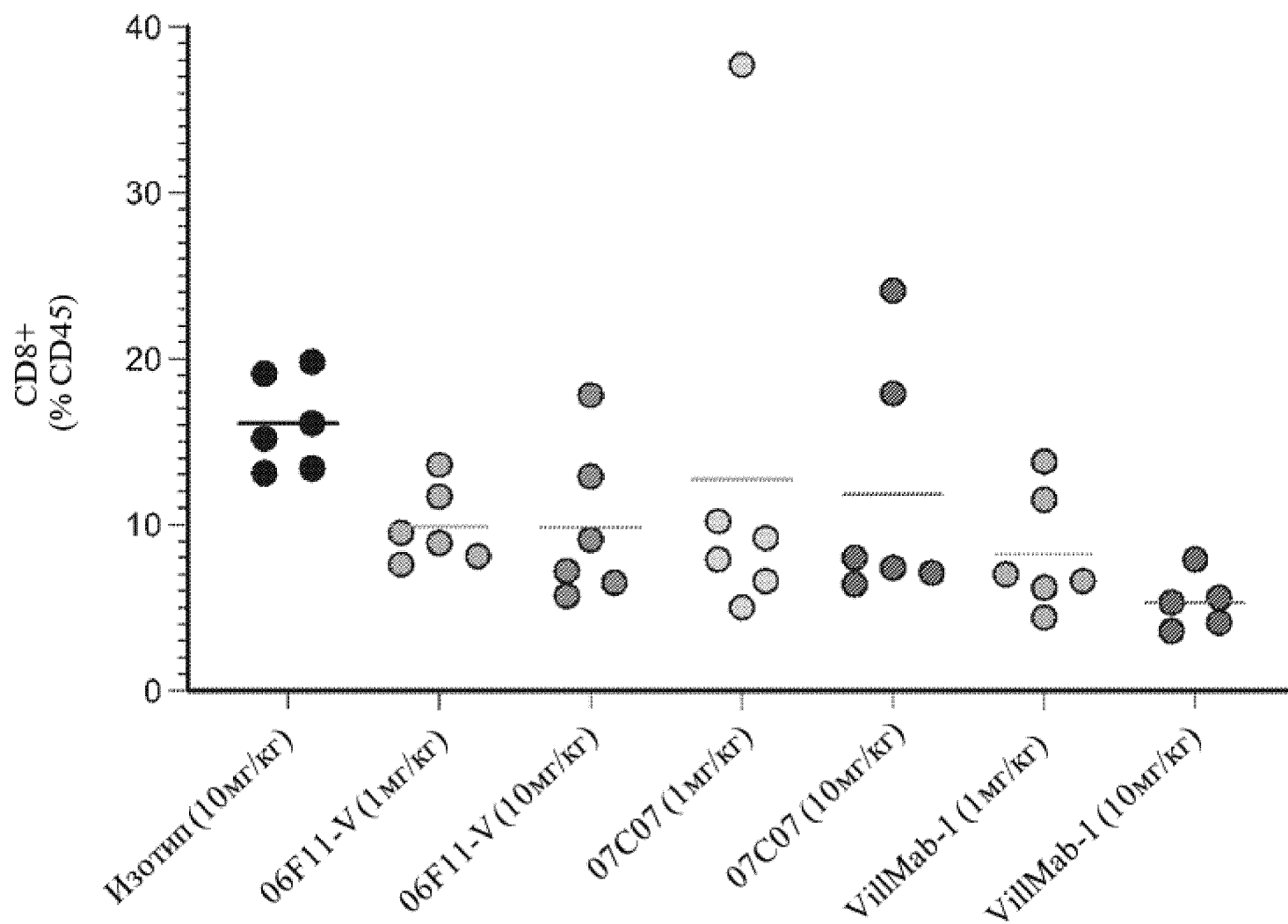
Фиг. 8В



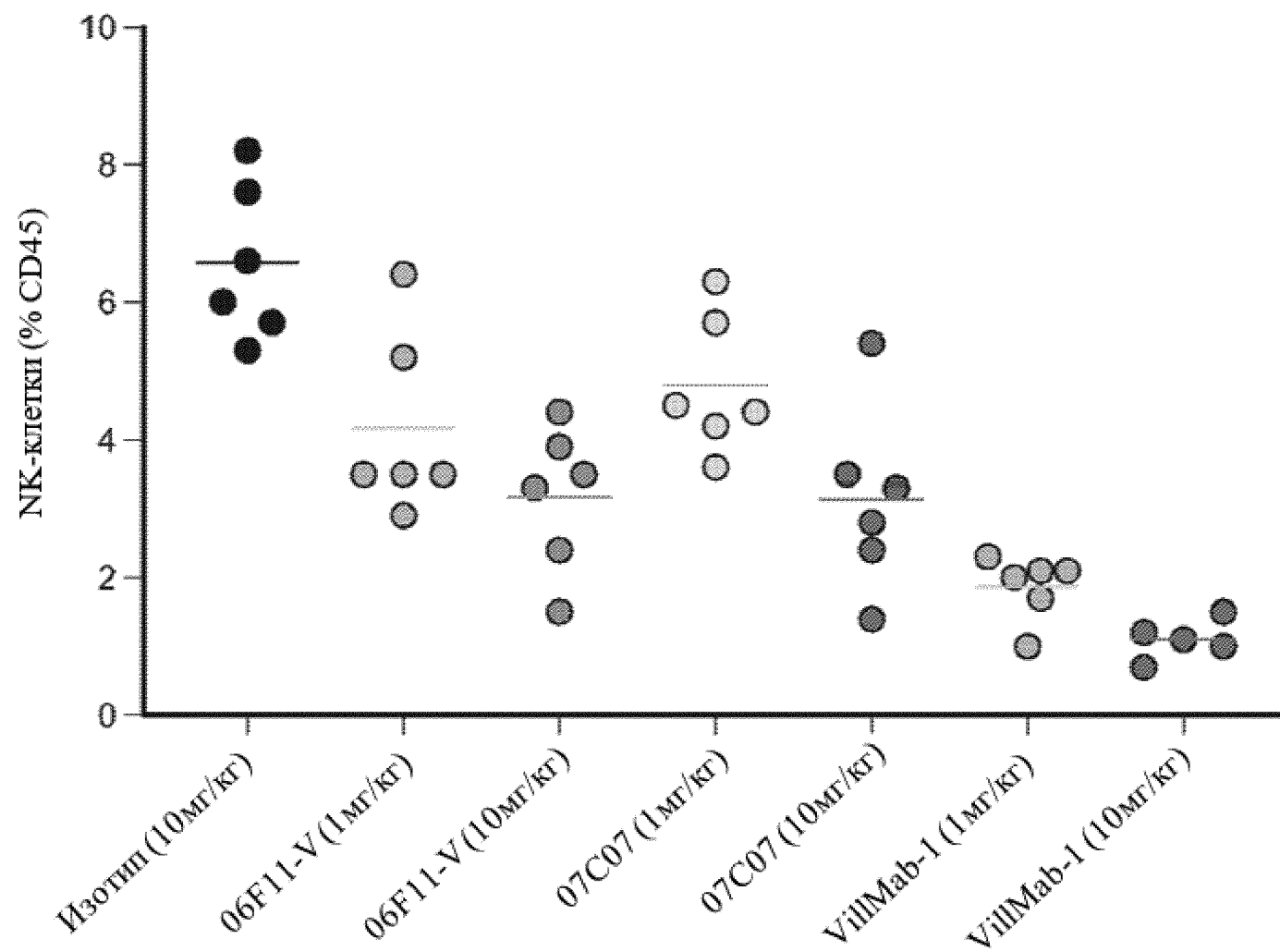
Фиг. 8С



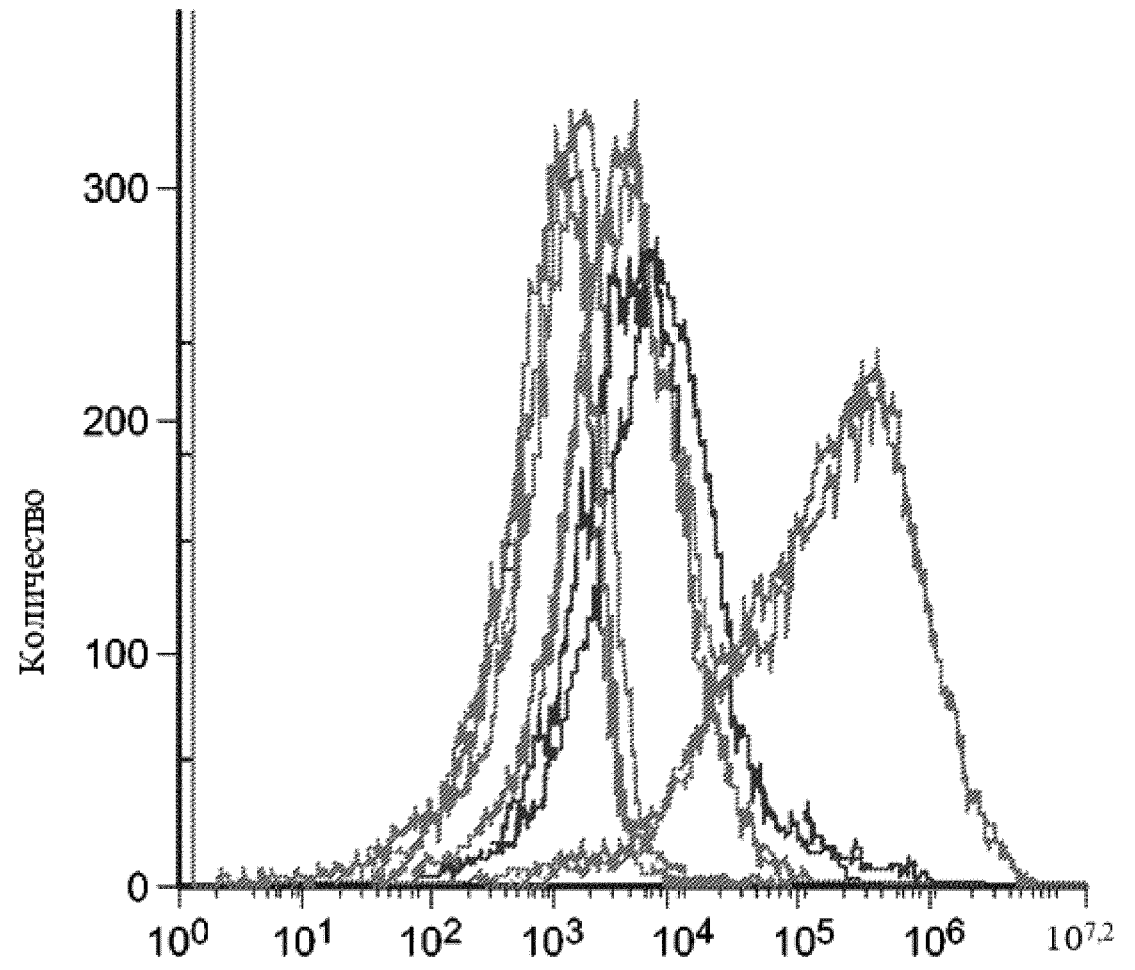
Фиг. 8D



Фиг. 8E

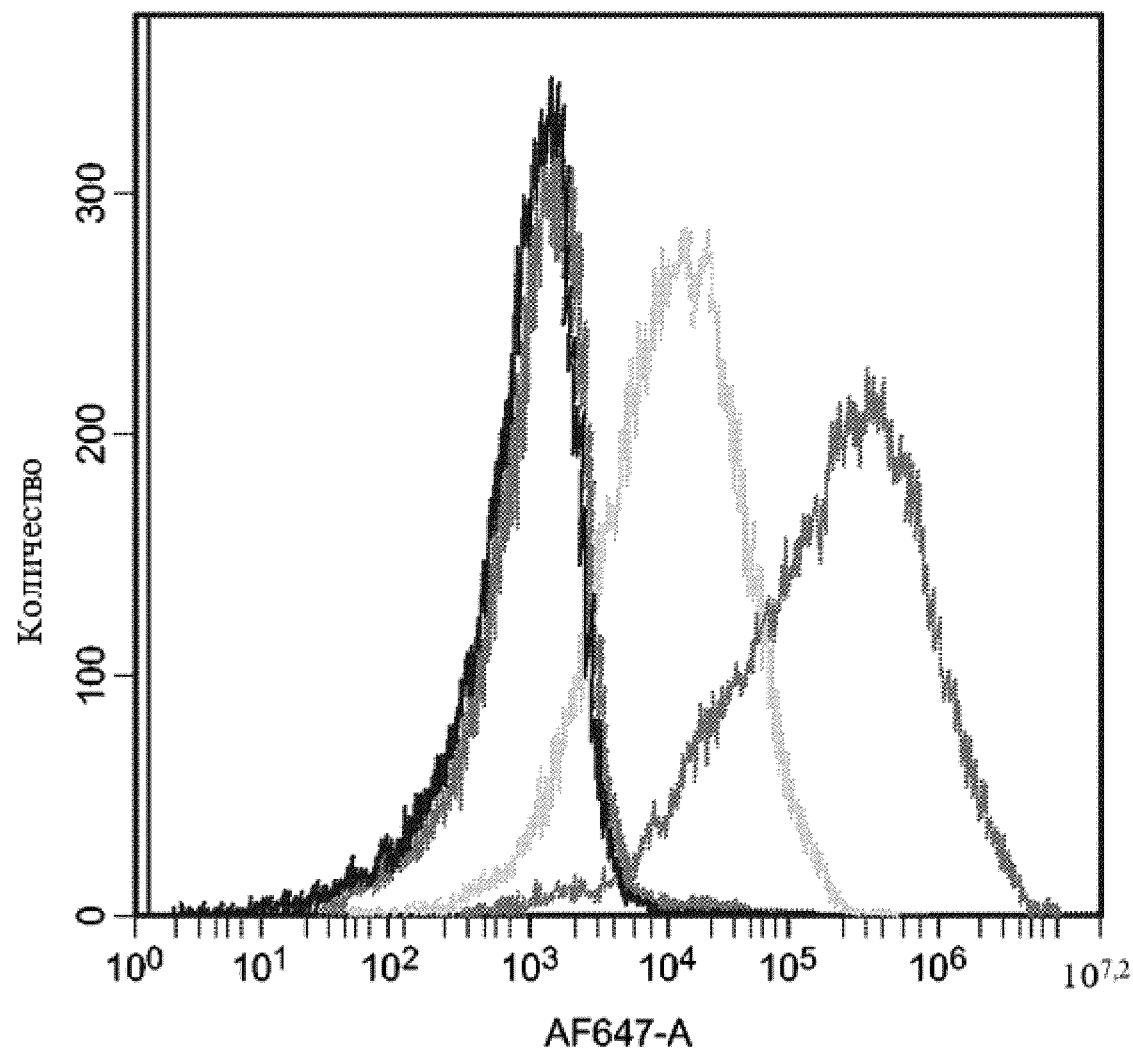


Фиг. 8F

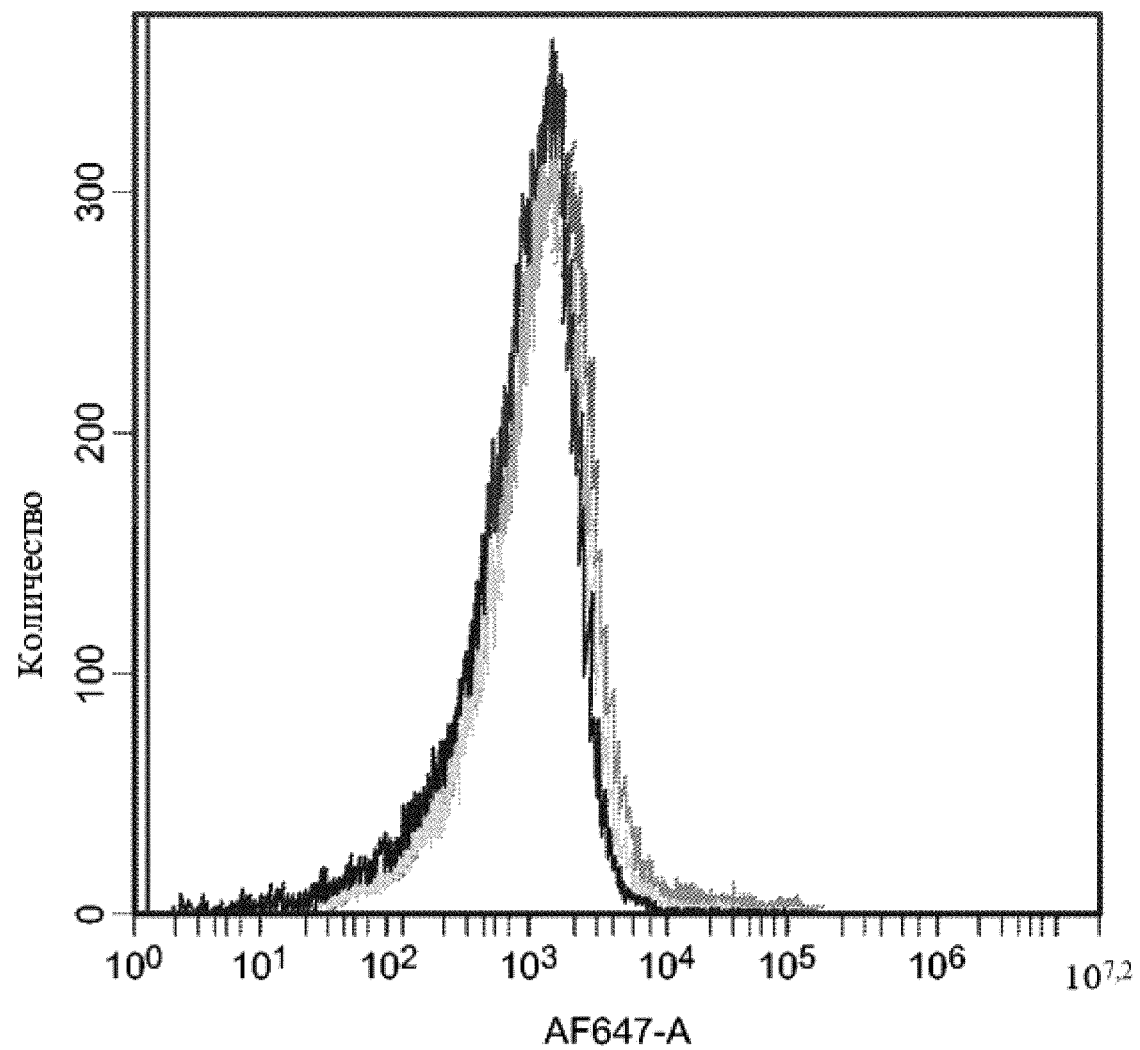


AF647-A

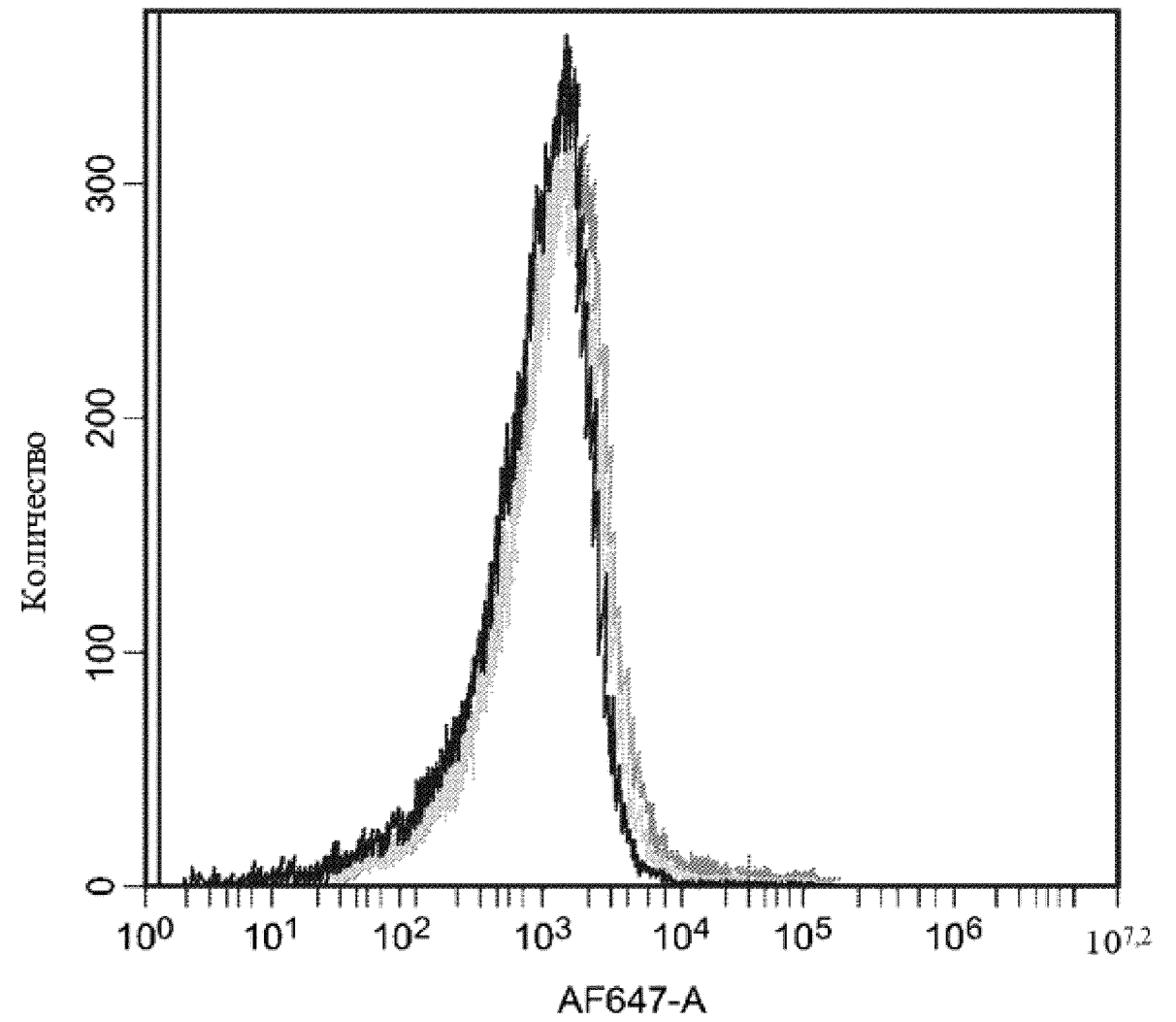
Фиг. 9А



ФИГ. 9В



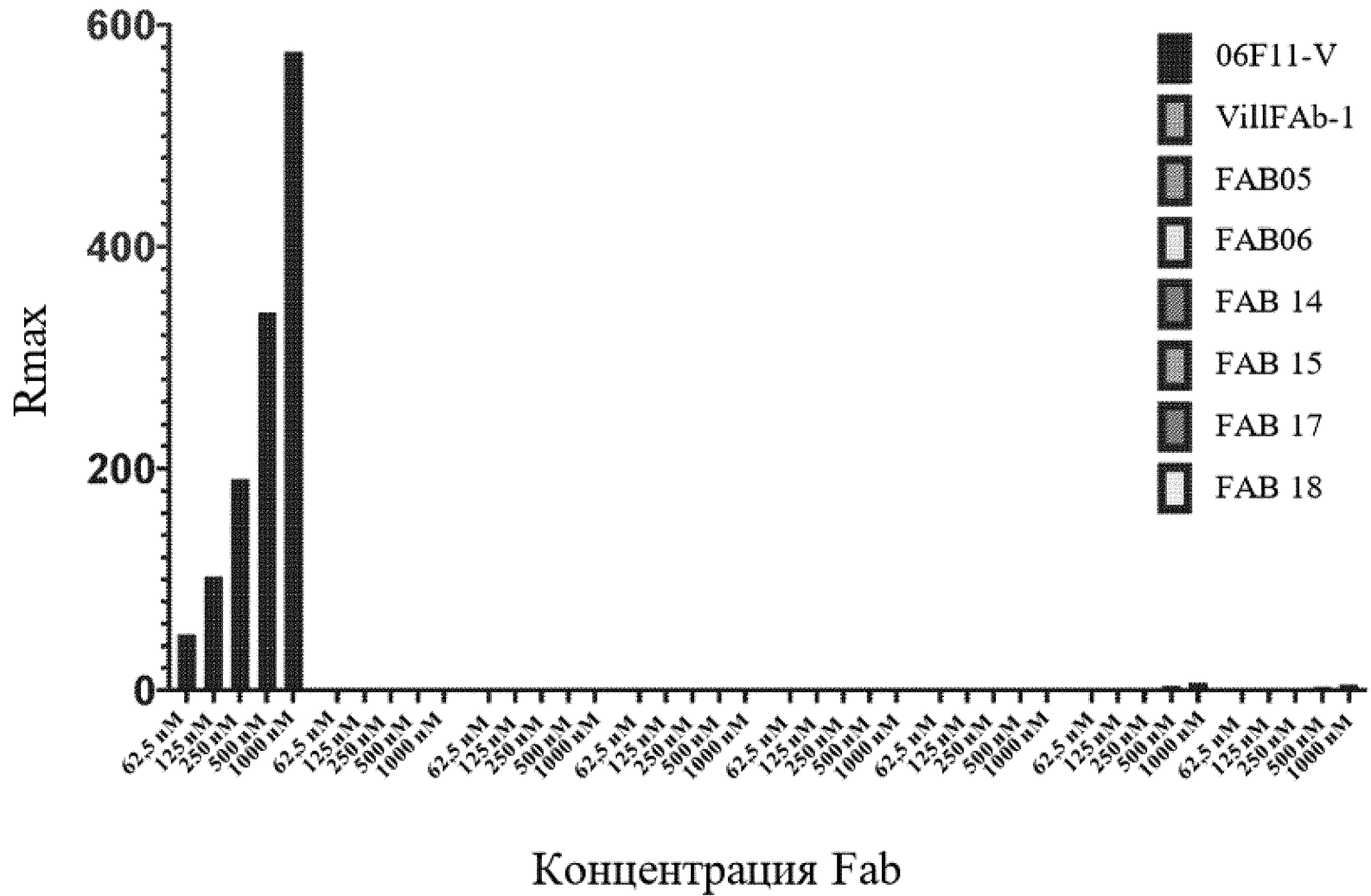
Фиг. 9С



Фиг. 9D

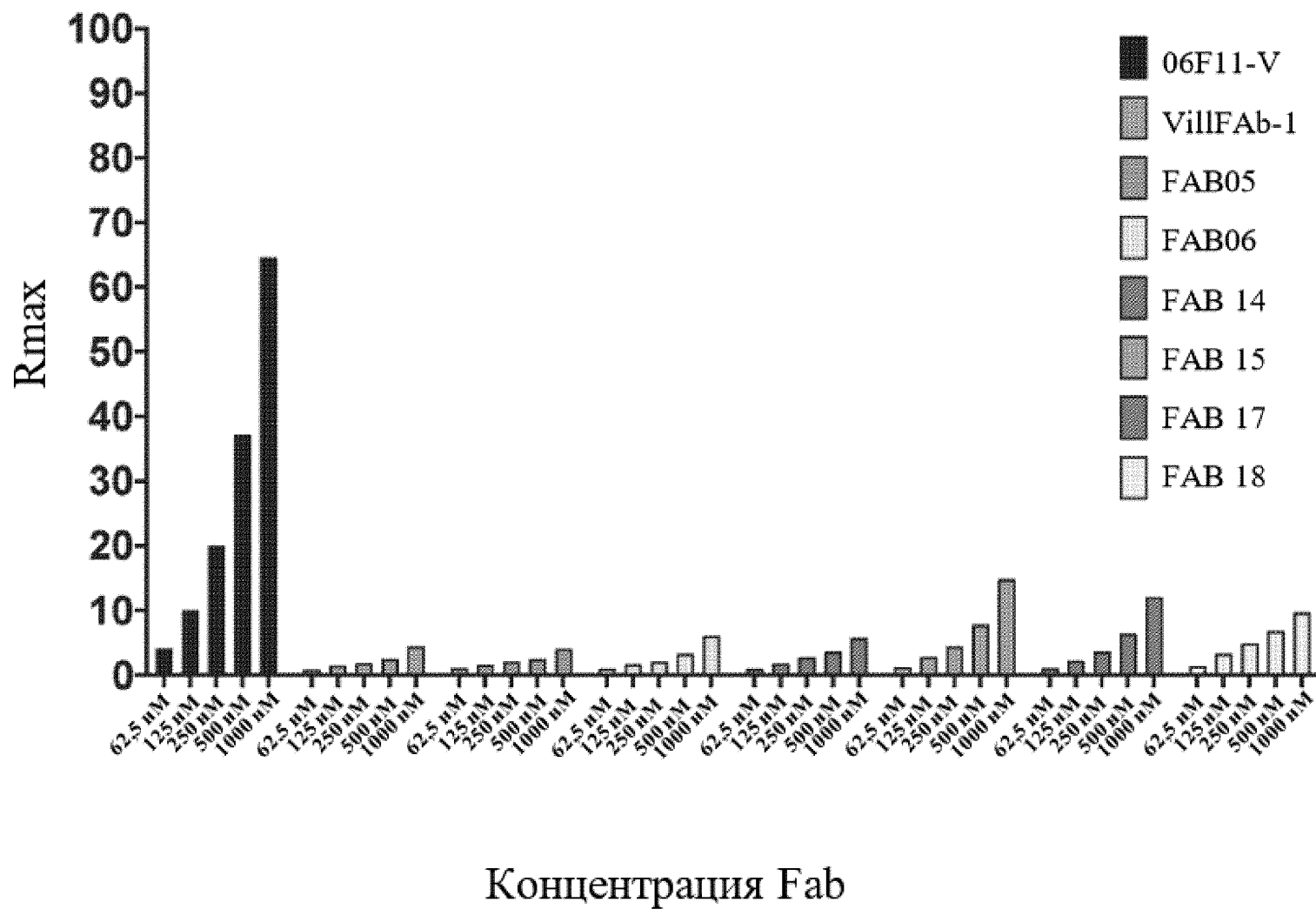
Фиг. 10А

Связывание Fab с человеческим нейдезином

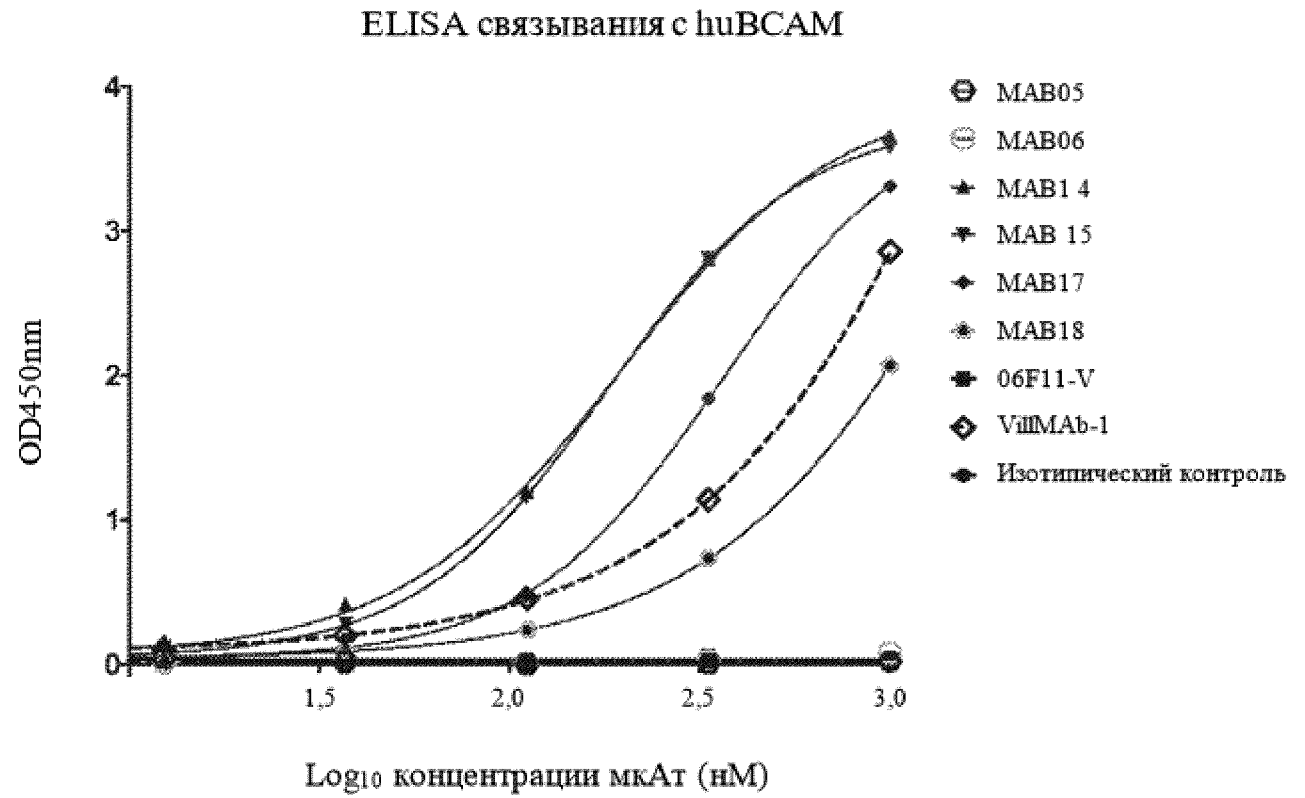


Фиг. 10В

Связывание Fab с СІLP2 человека



Фиг. 10С



Фиг. 11А

VH

```

VHIMAB-1 EVQLLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLG
MAB05 EVQLLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIIVTSYAVHWIRQAPGKGLEWLG
MAB06 EVQLLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIIVTSYAVHWIRQAPGKGLEWLG
MAB14 EVQLLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLG
MAB15 EVQLLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLG
MAB17 EVQLLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLG
MAB18 EVQLLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSVTSYGVHWIRQAPGKGLEWLG
    
```

```

VHIMAB-1 VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLR AEDTAVYYCARAGDYNYDGFAYWGQGT LVTVSS
MAB05 VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLR AEDTAVYYCARAGDYNYDGFAYWGQGT LVTVSS
MAB06 VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLR AEDTAVYYCARAGDYNYDGFAYWGQGT LVTVSS
MAB14 VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLR AEDTAVYYCARAGDYNYDGFAYWGQGT LVTVSS
MAB15 VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLR AEDTAVYYCARAGDYNYDGFAYWGQGT LVTVSS
MAB17 VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLR AEDTAVYYCARAGDYNYDGFAYWGQGT LVTVSS
MAB18 VIWSGGSTDYNAAFISRLTISKDNSKNTVYFQMNSLR AEDTAVYYCARAGDYNYDGFAYWGQGT LVTVSS
    
```

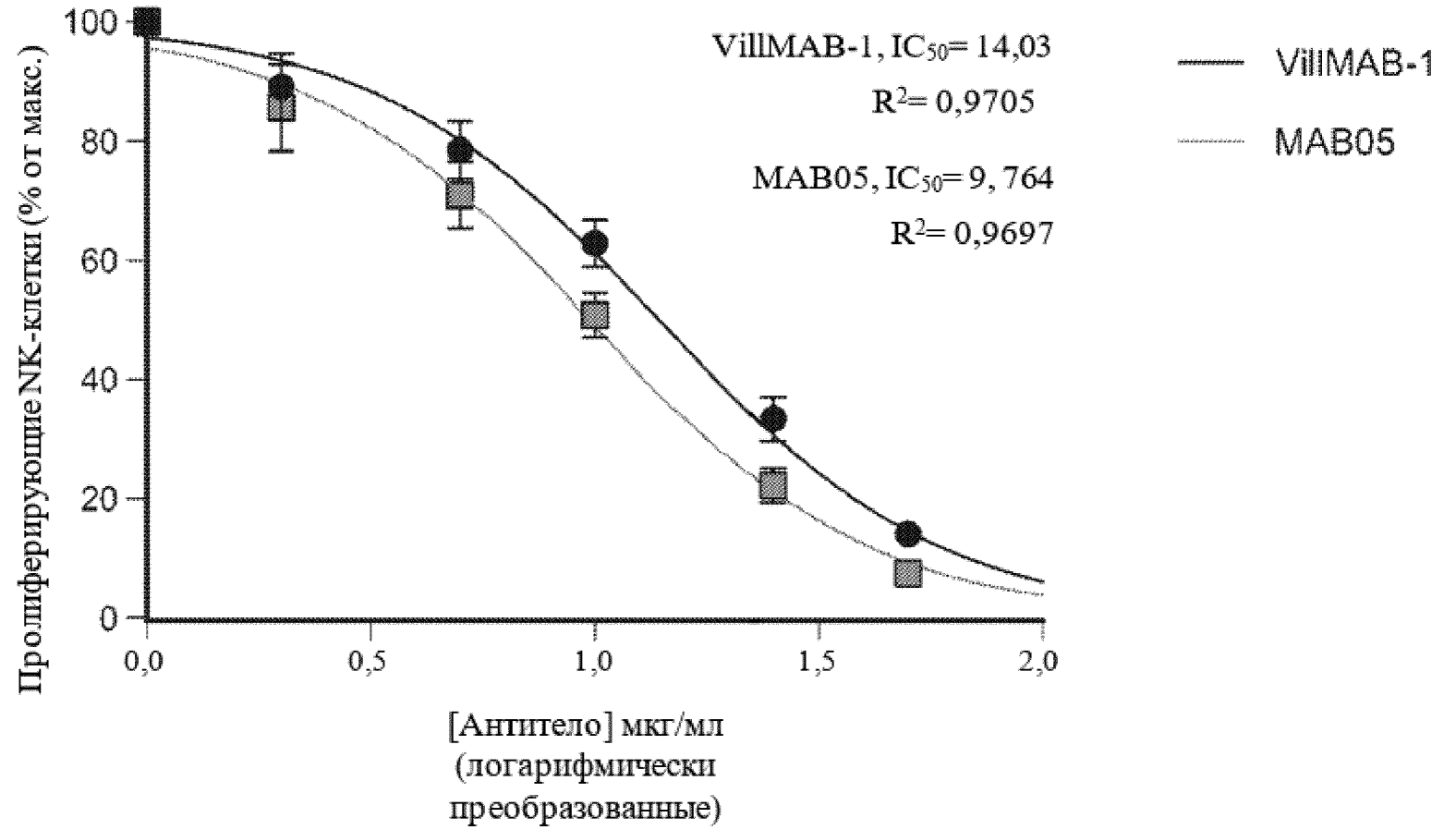
Фиг. 11B

VL

VIIIMAB-1	D	I	V	L	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	S	G	S	S	S	V	S	F	M	Y	W	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	R	L	L	I	Y
MAB05	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	Q	A	S	Q	S	V	S	F	L	Y	W	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	R	L	L	I	Y
MAB06	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	Q	A	S	S	S	V	S	F	M	Y	W	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	R	L	L	I	Y
MAB14	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	Q	A	S	Q	S	V	S	F	L	Y	W	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	R	L	L	I	Y
MAB15	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	Q	A	S	S	S	V	S	F	M	Y	W	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	R	L	L	I	Y
MAB17	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	Q	A	S	Q	S	V	S	F	L	Y	W	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	R	L	L	I	Y
MAB18	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T	I	T	C	Q	A	S	S	S	V	S	F	M	Y	W	Y	Q	Q	R	P	G	K	A	P	R	L	L	I	Y

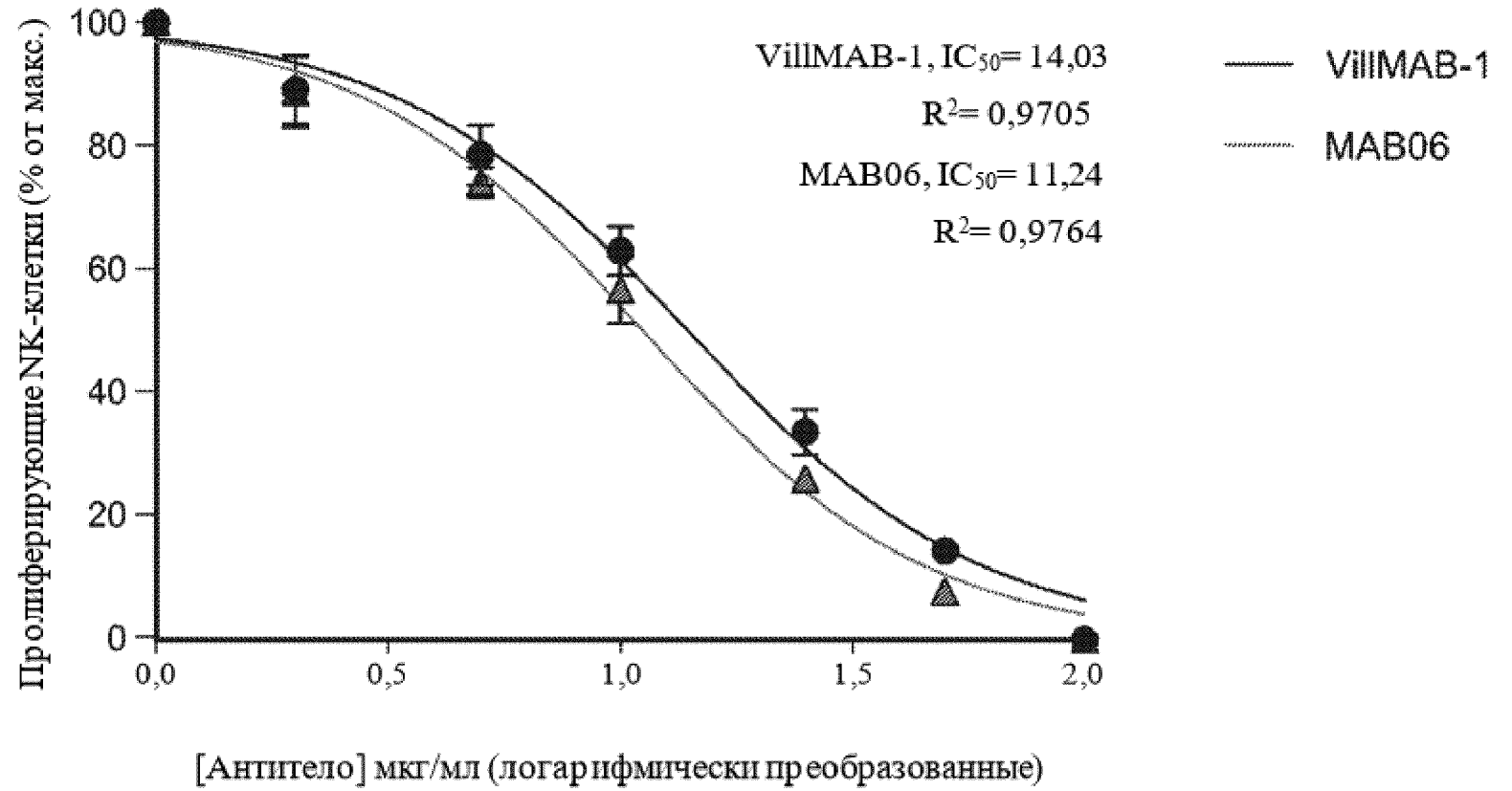
VIIIMAB-1	D	I	S	N	L	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	T	F	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	I	A	T	Y	Y	C	Q	Q	W	S	I	Y	P	L	I	F	G	Q	G	T	K	V	E	V	K
MAB05	D	T	S	N	L	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	T	F	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	I	A	T	Y	Y	C	Q	Q	W	S	T	Y	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	K	
MAB06	D	T	S	N	L	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	T	F	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	I	A	T	Y	Y	C	Q	Q	W	S	T	Y	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	K	
MAB14	D	T	S	N	L	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	T	F	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	I	A	T	Y	Y	C	Q	Q	W	S	T	Y	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	K	
MAB15	D	T	S	N	L	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	T	F	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	I	A	T	Y	Y	C	Q	Q	W	S	T	Y	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	K	
MAB17	D	T	S	N	L	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	T	F	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	I	A	T	Y	Y	C	Q	Q	W	S	T	Y	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	K	
MAB18	D	T	S	N	L	A	S	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	S	Y	T	F	T	I	S	S	L	Q	P	E	D	I	A	T	Y	Y	C	Q	Q	W	S	T	Y	P	L	T	F	G	Q	G	T	K	V	E	K	

VillMAB-1 и MAB05



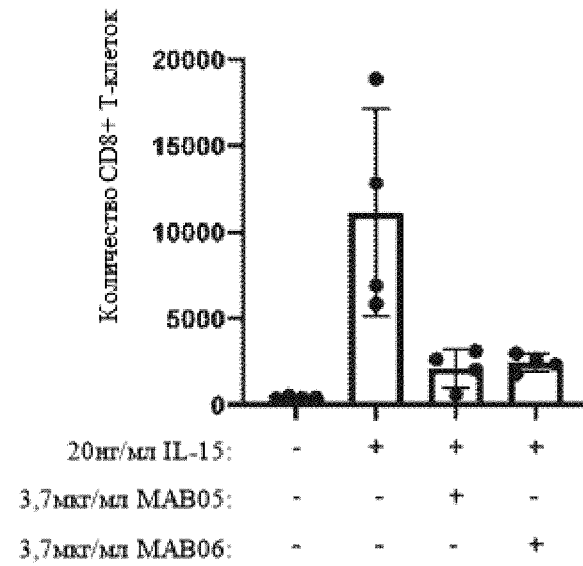
Фиг. 12А

VIII MAB-1 и MAB06

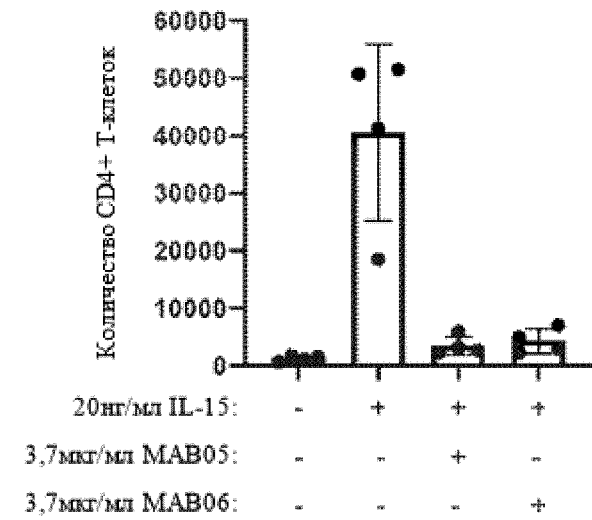


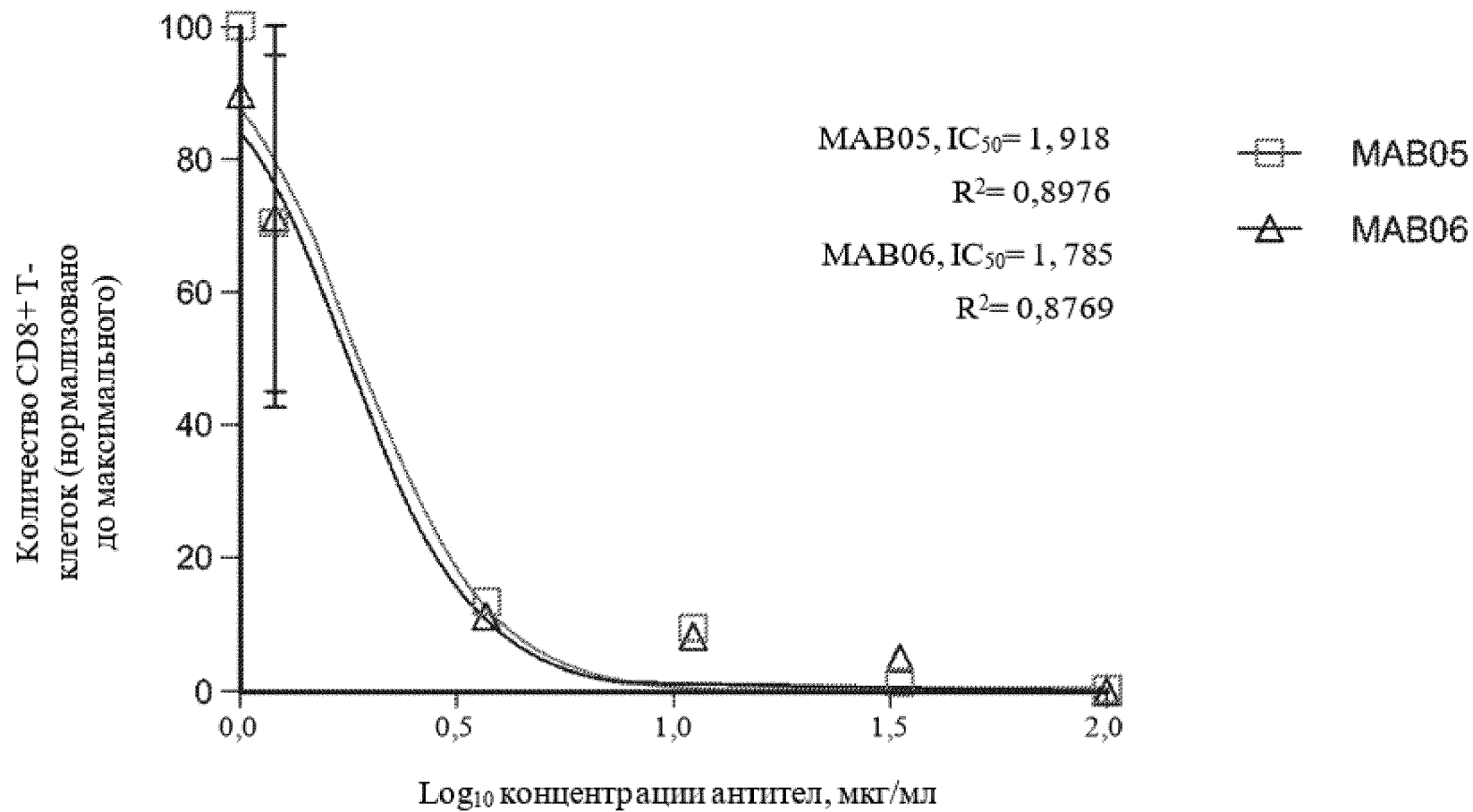
Фиг. 12В

ФИГ. 13А

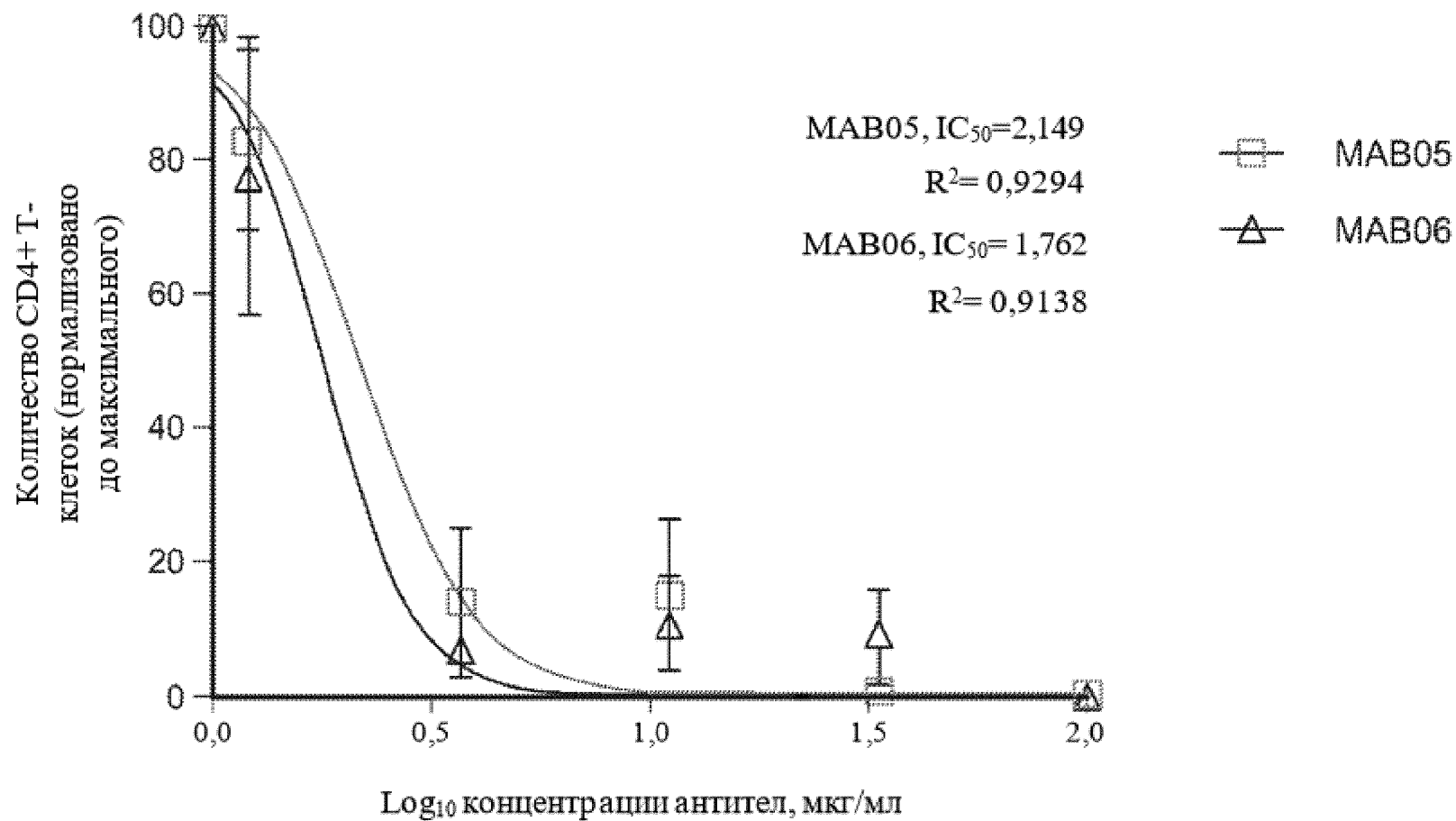


ФИГ. 13В





Фиг. 14А



Фиг. 14В