

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392741** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.12.05

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.04.01

(54) АГОНИСТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К IL-2R И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) **63/170,383; 63/239,883**

(72) Изобретатель:

(32) **2021.04.02; 2021.09.01**

Тринклейн Натан, Харрис Кэтрин,

(33) **US**

Лорентсен Кайл, Малик Чодхри

(86) **PCT/US2022/023058**

Харбани Каур, Лохлин Кейтлин (US)

(87) **WO 2022/212848 2022.10.06**

(74) Представитель:

(71) Заявитель:

Медведев В.Н. (RU)

ТЕНЕОБИО, ИНК. (US)

(57) Раскрыты антитела к IL2R (например, к IL2RB, к IL2RG, к IL2RB/G), а также способы получения таких антител, композиций, в том числе фармацевтических композиций, содержащих такие антитела, и применение таких антител и композиций в лечении заболеваний и нарушений, которые опосредованы сигнальным путем IL2/IL2R.

Название	Кинетика			
	KD IL2RB (M)		KD IL2RG (M)	
	Человек	Яванский макак	Человек	Яванский макак
IL2RB_F09C**IL2RG_F16A	1,85E-08	1,07E-08	1,79E-09	4,87E-09
IL2RB_F09G**IL2RG_F16B	9,34E-08	1,67E-08	1,71E-08	5,02E-08
IL2RB_F09G**IL2RG_F16C	9,67E-08	1,60E-08	1,43E-09	3,58E-09
IL2RB_F09G**IL2RG_F18A	8,24E-08	1,73E-08	2,93E-09	5,81E-09
IL2RB_F09K**IL2RG_F16B	1,82E-07	1,65E-08	2,01E-08	4,15E-08
IL2RB_F18E**IL2RG_F16A	5,38E-08	5,52E-08	1,88E-09	5,42E-09

A1

202392741

202392741

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579249EA/042

АГОНИСТИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА К IL-2R И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

[1] Настоящая заявка испрашивает преимущество приоритета по предварительной заявке на патент США № 63/170383, поданной 2 апреля 2021 г., и по предварительной заявке на патент США № 63/239883, поданной 1 сентября 2021 г., содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[2] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и настоящим включен посредством ссылки во всей своей полноте. Указанная копия в формате ASCII, созданная 28 марта 2022 г., имеет название 60792_00054WO01_(TNO-0038-WO)_SL.txt, и ее размер составляет 90527 байт.

[3] Настоящее изобретение относится к антителам, которые связываются с рецептором (IL2R) интерлейкина-2 (IL-2) и проявляют агонистическую активность. Настоящее изобретение дополнительно относится к способам получения таких антител, композиций, в том числе фармацевтических композиций, содержащих такие антитела, и к применению таких антител и композиций в лечении заболеваний и нарушений, которые опосредованы сигнальным путем IL2/IL2R.

[4] Несмотря на мощную иммуноактивирующую активность и потенциал к индуцированию длительной регрессии опухоли у пациентов, страдающих от рака, успех IL-2 в качестве иммунотерапевтического средства был ограничен тяжелой дозозаменяющей токсичностью. Эти нежелательные явления во многом обусловлены преимущественным поглощением IL-2 клетками, которые экспрессируют высокоаффинный тримерный рецептор IL-2R $\alpha\beta\gamma$, такими как T-регуляторные (Treg) клетки и эндотелиальные клетки. Настоящее изобретение относится к антителам (например, полиспецифическим антителам, полиспецифическим антителам только с тяжелой цепью, биспецифическим антителам, биспецифическим антителам только с тяжелой цепью), которые связываются и активируют передачу сигнала через димерный рецепторный комплекс IL-2R $\beta\gamma$, который экспрессируется на покоящихся T-клетках и NK-клетках. Избегая связывания с IL-2R α , описанные в данном документе антитела устраняют преимущественную активацию Treg нативного IL-2, сохраняя при этом мощные стимулирующие эффекты на другие подгруппы T-клеток наряду с NK-клетками. Кроме того, наличие Fc-области в иллюстративных антителах, описанных в данном документе, значительно продлевает период полужизни *in vivo* по сравнению с периодом полужизни рекомбинантного IL-2, обеспечивая более удобный график введения доз в терапевтическом контексте. Исследования *in vivo* как на мышах, так и на яванских макаках подтвердили биологическую активность *in vivo*, расширенную фармакокинетику и улучшенный профиль безопасности иллюстративных антител, описанных в данном документе. В совокупности эти результаты подтверждают применение таких антител в качестве безопасных и эффективных агонистов IL-2R, а также применение сигнального пути IL-2 в качестве подхода к терапевтическому лечению нескольких типов рака.

[5] Четко установлена возможность использовать иммунную систему против опухолей, при этом интерлейкин-2 (IL-2) является одним из первых рекомбинантных белков, которые были успешно применены для лечения рака почти 40 лет назад. Lotze et al., *Journal of Immunology* 135(4), 2865-75 (1985); Rosenberg, S. A. *J Immunol* 192, 5451-58 (2014). IL-2 является ключевым регулятором иммунных клеток, индуцируя пролиферацию как Т-клеток, так и естественных клеток-киллеров (NK). Однако IL-2 представляет собой плейотропный цитокин, который также индуцирует пролиферацию иммуносупрессивных регуляторных Т-клеток (Treg). Fontenot et al., *Nat Immunol* 6, 1142-51 (2005). Различные функции IL-2 определяются составом субъединиц рецепторного комплекса IL-2, экспрессируемых на разных клетках-мишенях. Vouman et al., *Nat Rev Immunol* 12, 180-90 (2012). Высокоаффинный рецепторный комплекс IL-2 состоит из IL-2RA (CD25), IL-2RB (CD122), а также общего рецептора гамма-цепи IL-2RG (CD132) и конститутивно экспрессируется на CD4+FoxP3+ Treg-клетках и транзитно на активированных Т-клетках. Waldmann, T. A., *Nat Rev Immunol* 6, 595-601 (2006). Рецептор с промежуточной аффинностью состоит только из IL-2RB и IL-2RG и экспрессируется на покоящихся Т-клетках, CD8+ эффекторных Т-клетках памяти и NK-клетках. Choudhry, H. et al, *Biomed Res Int* 2018, 1-7 (2018). Субъединица IL-2RA не требуется для нисходящей передачи сигнала JAK-STAT, но ее ассоциация с IL-2RB и IL-2RG обеспечивает в 100 раз более высокую аффинность к IL-2 по сравнению с гетеродимерным рецептором, состоящим только из IL-2RB и IL-2RG. Исходя из этих различий в связывании рецепторов и клеточно-специфической экспрессии, было высказано предположение, что иммуносупрессивные Treg служат буфером для поглощения низких уровней IL-2 и создания порогового эффекта для IL-2-опосредованной экспансии эффекторных лимфоцитов. Feinerman, O. et al., *Mol Syst Biol* 6, 437 (2010).

[6] Благодаря своим уникальным сигнальным свойствам IL-2 в низкой дозе применяется в клинических условиях для стимуляции Treg с целью лечения аутоиммунных нарушений, тогда как IL-2 в высоких дозах был разработан и одобрен (Proleukin®) для лечения метастатической меланомы и метастатической почечноклеточной карциномы, при этом стойкие ответы наблюдались у 7-12% пациентов. McDermott, D. F. et al., *J Clin Oncol* 23, 133-141 (2004); Payne, R. et al., *J Immunother Cancer* 2, 13 (2014); Atkins, M. B. et al., *J Clin Oncol* 17, 2105-2105 (1999); Rosenberg, S. A. et al., *Ann Surg* 228, 307-319 (1998). Однако его короткий период полужизни и узкое терапевтическое окно создали серьезные затруднения для безопасного и эффективного применения IL-2 у пациентов. В частности, Proleukin® характеризуется тяжелыми побочными эффектами, в том числе синдромом утечки жидкости из сосудов, гипотензией и токсичностью для печени, что ограничивает его применение в противораковой иммунотерапии. Было показано, что токсичность утечки жидкости из сосудов связана с экспрессией высокоаффинного IL-2R на эндотелиальных клетках сосудов и эндотелиальных клетках легких, что приводит к отеку легких. Krieg, C., et al., *Proc National Acad Sci* 107, 11906-11 (2010). Противоопухолевые эффекты Proleukin®

дополнительно ухудшаются по причине его предпочтительного связывания с высокоаффинным рецептором на Treg-клетках, что снижает его эффективность в качестве противораковой терапии. Schwartzentruber, D. J. et al., *New Engl J Medicine* 364, 2119-2127 (2011); Rezvani, K. et al., *Blood* 108, 1291-1297 (2006). Например, у пациентов с меланомой, получающих средство терапии на основе ИЛ-2 в высокой дозе, костимулятор-положительные (ICOS+) Treg-клетки оказались наиболее пролиферативной популяцией лимфоцитов в крови после лечения с применением ИЛ-2, и большие количества ICOS+ Treg соответствовали худшим исходам у пациентов. Sim, G. C. et al., *J Clin Invest* 124, 99-110 (2014).

[7] По причине плейотропной природы нативного ИЛ-2 и связанных с ним ограничений в качестве терапевтической молекулы было предпринято значительное усилие по конструированию вариантов ИЛ-2, которые снижают дозолимитирующую токсичность и тем самым расширяют терапевтическое окно. Murer, P. et al., *New Biotechnol* 52, 42-53 (2019); Arenas-Ramirez, N. et al., *Trends Immunol* 36, 763-77 (2015). Одним из подходов к достижению этой цели являются варианты белки, которые позволяют избегать преимущественной активации клеток, экспрессирующих высокоаффинный ИЛ-2R, таких как Treg и эндотелиальные клетки сосудов. В попытке получить такую молекулу другие подходы включали мутирование поверхности связывания ИЛ-2RA с ИЛ-2, присоединение полиэтиленгликоля к белку ИЛ-2, получение синтетических белков ИЛ-2 и получение антитела, которое блокирует ИЛ-2RA-связывающий домен. Silva, D.-A. et al., *Nature* 565, 186-191 (2019); Charych, D. H. et al., *Clin Cancer Res* 22, 680-690 (2016); Arenas-Ramirez, N. et al., *Sci Transl Med* 8, 367ra166-367ra166 (2016); Levin, A. M. et al., *Nature* 484, 529-533 (2012); Lopes, J. E. et al., *J Immunother Cancer* 8, e000673 (2020). В качестве альтернативы ИЛ-2 другие исследователи сконструировали варианты ИЛ-15, которые связываются с субъединицами ИЛ-2RB/ИЛ-2RG. Субъединица ИЛ-15-специфического рецептора в норме связывается с ИЛ-15 в транс-положении относительно антигенпрезентирующих клеток, поэтому для активного рекомбинантного белка ИЛ-15 необходима одноцепочечная конструкция, с которой экспрессируется как ИЛ-15, так и субъединица рецептора. Bernett, M. J. et al. Abstract 5565: Potency-reduced IL15/IL15R α heterodimeric Fc-fusions display enhanced in vivo activity through increased exposure. 5565-5565 (2018) doi:10.1158/1538-7445.am2018-5565. Мутантные цитокины также были слиты с антителами или Fc-доменами для увеличения периода полужизни молекул in vivo и локализации цитокинов в месте нахождения опухоли. Murer, P. et al., *New Biotechnol* 52, 42-53 (2019); Klein, C. et al., *Oncoimmunology* 6:3 e1277306 (2017); Schliemann, C. et al., *Blood* 120, 3716-3716 (2012). Хотя некоторые из этих сконструированных белков обладают требуемой функциональной активностью, многие страдают от высоких уровней иммуногенности in vivo, а также имеются затруднения со стабильностью и изготовлением in vivo. Brummelen, E. M. J. van et al., *Oncotarget* 9, 24737-49 (2018); Groot, A. S. D. et al., *Trends Immunol* 28, 482-90 (2007); Schellekens, H., *Nephrol Dial Transpl* 18, 1257-59 (2003); Verhoef, J. J. F., et al., *Drug Discov Today* 19, 1945-52 (2014). Таким образом, в данной

области техники серьезной задачей остается получение противоопухолевого агониста пути IL-2 с требуемой биологической активностью, профилем безопасности и идеальными лекарствоводообными свойствами.

[8] Молекулы по настоящему изобретению сочетают благоприятные лекарствоводообные свойства антител с функциональным поведением молекул, которые облегчают ассоциацию IL-2RB и IL-2RG и нисходящую передачу сигнала. Аспекты настоящего изобретения включают последовательности антител, такие как последовательности полностью человеческих антител, таких как полностью человеческие полиспецифические (например, биспецифические) антитела, которые одновременно связывают субъединицы IL-2RB и IL-2RG и, следовательно, имитируют активность IL-2, избегая при этом связывания с IL-2RA. Помимо проявления требуемой активации и экспансии иммунных эффекторных клеток описанные в данном документе биспецифические агонистические антитела к IL-2RB/G также предотвращают преимущественную экспансию супрессивных Treg как *in vitro*, так и *in vivo*.

Неограничивающие иллюстративные варианты осуществления (перечень 1)

[9] Без ограничения некоторые иллюстративные варианты осуществления/признаки настоящего изобретения включают следующее.

1. Антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 1-3, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 4-6, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 7-10.

2. Антитело по признаку 1, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

3. Антитело по признаку 1 или 2, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

4. Антитело по любому из признаков 1-3, содержащее:

(a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8; или

(c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10.

5. Антитело по любому из признаков 1-4, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-14.

6. Антитело по любому из признаков 1-5, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 11-14.

7. Антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G G S I S S S X1 W (SEQ ID NO: 26),

где X1 представляет собой D или N;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I X2 H S G S T (SEQ ID NO: 27),

где X2 представляет собой D или S, и

(c) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

X3 R G X4 W E L X5 D A F D I (SEQ ID NO: 28),

где X3 представляет собой G или A;

X4 представляет собой S или Q, и

X5 представляет собой S или T.

8. Антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F T F S X1 Y G (SEQ ID NO: 29),

где X1 представляет собой S или T;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S Y D G S N X2 (SEQ ID NO: 30),

где X2 представляет собой K или R, и

(c) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

A R D L D Y D X3 L T G D P V G G F D I (SEQ ID NO: 31),

где X3 представляет собой V или I.

9. Антитело, которое связывается с IL2RG, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 15-16, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 17-19, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 20-21.

10. Антитело по признаку 9, содержащее:

- (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и/или
- (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и/или
- (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

11. Антитело по признаку 9 или 10, содержащее:

- (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и
- (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и
- (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

12. Антитело по любому из признаков 9-11, содержащее:

- (a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или
- (b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или
- (c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или
- (d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

13. Антитело по любому из признаков 9-12, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 22-25.

14. Антитело по любому из признаков 9-13, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 22-25.

15. Антитело, которое связывается с IL2RG, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

- (a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F X1 X2 X3 X4 Y Y (SEQ ID NO: 32),

где X1 представляет собой T или I;

X2 представляет собой F или V;

X3 представляет собой S, N или G, и

X4 представляет собой D или N;

- (b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S X5 S G X6 X7 I (SEQ ID NO: 33),

где X5 представляет собой S или N;

X6 представляет собой D, S, G или N, и

X7 представляет собой T или I, и

- (c) последовательность CDR3, содержащую последовательность ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20).

16. Антитело по любому из признаков 1-15, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

17. Антитело по любому из признаков 1-16, где антитело является полиспецифическим.

18. Антитело по любому из признаков 1-17, где антитело является биспецифическим.

19. Антитело по любому из признаков 1-18, где антитело связывается с IL2RB и IL2RG.

20. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

21. Антитело по признаку 20, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 11, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22.

22. Антитело по признаку 20 или 21, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 11, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

23. Антитело по любому из признаков 20-22, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 53, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 61.

24. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

25. Антитело по признаку 24, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23.

26. Антитело по признаку 24 или 25, где первая переменная область тяжелой

цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

27. Антитело по любому из признаков 24-26, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 62, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 63.

28. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

29. Антитело по признаку 28, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 13, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23.

30. Антитело по признаку 28 или 29, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 13, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

31. Антитело по любому из признаков 28-30, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 64, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 65.

32. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

33. Антитело по признаку 32, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22.

34. Антитело по признаку 32 или 33, где первая переменная область тяжелой

цепи содержит SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

35. Антитело по любому из признаков 32-34, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 66, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 67.

36. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

37. Антитело по признаку 36, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 24.

38. Антитело по признаку 36 или 37, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 24.

39. Антитело по любому из признаков 36-38, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 35.

40. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

41. Антитело по признаку 40, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 25.

42. Антитело по признаку 40 или 41, где первая переменная область тяжелой

цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 25.

43. Антитело по любому из признаков 40-42, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 36, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 37.

44. Антитело по любому из признаков 20, 24, 28, 32, 36 или 40, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH.

45. Антитело по любому из признаков 20, 24, 28, 32, 36, 40 или 44, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH.

46. Антитело по любому из признаков 1-22, 24-26, 28-30, 32-34, 36-38, 40-42, 44 или 45, где антитело содержит Fc-область.

47. Антитело по признаку 46, где Fc-область представляет собой вариантную Fc-область.

48. Антитело по признаку 47, где вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

49. Антитело по признаку 47 или 48, где вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения.

50. Антитело по признаку 49, где гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом).

51. Антитело по признаку 49 или 50, где гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой).

52. Антитело по любому из признаков 49-51, где гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс

D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

53. Антитело по любому из признаков 47-52, где вариантная Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу.

54. Антитело по признаку 53, где Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU.

55. Антитело по признаку 53 или 54, где Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование.

56. Антитело по любому из признаков 53-55, где Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2), и/или мутации K322A и L234A/L235A.

57. Антитело по любому из признаков 1-22, 24-26, 28-30, 32-34, 36-38, 40-42 или 44-56, где антитело содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1.

58. Антитело по любому из признаков 1-22, 24-26, 28-30, 32-34, 36-38, 40-42 или 44-57, где антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.

59. Антитело по признаку 58, где шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54).

60. Антитело по признаку 58, где шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55).

61. Антитело по любому из признаков 58-60, где домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56).

62. Антитело по любому из признаков 58-61, где домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A.

63. Антитело по любому из признаков 58-62, где домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58).

64. Антитело по любому из признаков 58-62, где домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W.

65. Антитело по любому из признаков 58-62, где домен СН3 содержит вариантную последовательность домена СН3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

66. Антитело по любому из признаков 1-65, где антитело представляет собой человеческое антитело.

67. Антитело по любому из признаков 1-66, где антитело представляет собой выделенное антитело.

68. Антитело по любому из признаков 1-67, где антитело представляет собой интактную молекулу IgG.

69. Антитело по любому из признаков 1-68, где антитело представляет собой интактную молекулу IgG1.

70. Антитело по любому из признаков 1-68, где антитело представляет собой интактную молекулу IgG2.

71. Антитело по любому из признаков 1-68, где антитело представляет собой интактную молекулу IgG4.

72. Антитело по любому из признаков 1-67, где антитело является иммунологически активной частью интактной молекулы IgG.

73. Антитело по любому из признаков 1-67, где антитело является иммунологически активной частью интактной молекулы IgG1.

74. Антитело по любому из признаков 1-67, где антитело является иммунологически активной частью интактной молекулы IgG2.

75. Антитело по любому из признаков 1-67, где антитело является иммунологически активной частью интактной молекулы IgG4.

76. Антитело по любому из признаков 1-67, где антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу.

77. Антитело по любому из признаков 1-67, где антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

78. Антитело по любому из признаков 1-77, где антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

79. Антитело по любому из признаков 1-78, где антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

80. Антитело по любому из признаков 1-79, где антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

81. Антитело по любому из признаков 1-80, где антитело характеризуется

аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

82. Антитело по любому из признаков 1-81, где антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

83. Антитело по любому из признаков 80-82, где Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме.

84. Антитело по любому из признаков 80-83, где Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме.

85. Антитело по любому из признаков 80-82, где Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

86. Антитело по любому из признаков 1-85, где антитело функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

87. Фармацевтическая композиция, содержащая:

антитело по любому из признаков 1-86 и

фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

88. Фармацевтическая композиция по признаку 87, где фармацевтическая композиция адаптирована для внутривенной доставки.

89. Фармацевтическая композиция по признаку 87, где фармацевтическая композиция адаптирована для подкожной доставки.

90. Полинуклеотид, кодирующий антитело по любому из признаков 1-86.

91. Вектор, содержащий полинуклеотид по признаку 90.

92. Клетка (например, клетка CHO), содержащая вектор по признаку 91.

93. Способ получения антитела по любому из признаков 1-86, при этом способ включает:

выращивание клетки (например, клетки CHO) в соответствии с признаком 92 в условиях, благоприятных для экспрессии антитела, и

выделение антитела из клетки и/или среды для культивирования клеток, в которой выращивают клетку.

94. Способ получения антитела по любому из признаков 1-86, при этом способ включает иммунизацию трансгенного животного (например, трансгенной крысы, животного UniRat™) с помощью IL2R и идентификацию IL2R-связывающих последовательностей тяжелой цепи.

95. Набор для лечения заболевания или нарушения у нуждающегося в этом индивидуума, содержащий

антитело по любому из признаков 1-86 или фармацевтическую композицию по любому из признаков 87-89 и

инструкции по применению.

96. Набор по признаку 95, дополнительно содержащий по меньшей мере один

дополнительный реагент.

97. Набор по признаку 96, где по меньшей мере один дополнительный реагент содержит химиотерапевтическое лекарственное средство.

98. Способ лечения заболевания или нарушения, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективной дозы антитела по любому из признаков 1-86 или фармацевтической композиции по любому из признаков 87-89.

99. Способ по признаку 98, где антитело или фармацевтическую композицию вводят в сочетании с другим курсом терапии.

100. Способ по признаку 98 или 99, где антитело или фармацевтическую композицию вводят в сочетании со схемой химиотерапии.

101. Применение антитела по любому из признаков 1-86 в получении лекарственного препарата для лечения заболевания или нарушения у нуждающегося в этом индивидуума.

102. Применение по признаку 101, где лекарственный препарат предназначен для введения в сочетании с другим курсом терапии.

103. Применение по признаку 101 или 102, где лекарственный препарат предназначен для введения в сочетании со схемой химиотерапии.

104. Антитело по любому из признаков 1-86 или фармацевтическая композиция по любому из признаков 87-89 для применения в лечении заболевания или нарушения у нуждающегося в этом индивидуума.

105. Антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 104, где антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в сочетании с другим курсом терапии.

106. Антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 104, где антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в сочетании со схемой химиотерапии.

107. Набор, способ, применение, антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по любому из признаков 95-106, где заболевание или нарушение представляет собой рак.

108. Набор, способ, применение, антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 107, где рак представляет собой рак поздней стадии или метастатический рак.

109. Набор, способ, применение, антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 107 или 108, где рак представляет собой рак в виде солидной опухоли.

110. Набор, способ, применение, антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 109, где рак в виде солидной опухоли выбран из почечноклеточной карциномы, меланомы, уротелиального рака, трижды негативного рака молочной железы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), колоректального рака, саркомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи и *метастатического кастрационно-*

резистентного рака предстательной железы.

111. Набор, способ, применение, антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 107 или 108, где рак представляет собой гемобластоз.

112. Набор, способ, применение, антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 111, где гемобластоз представляет собой множественную миелому или острый миелоидный лейкоз.

113. Способ стимулирования передачи сигнала IL2R в иммунной клетке, при этом способ включает приведение иммунной клетки в контакт с антителом по любому из признаков 1-86 или фармацевтической композицией по любому из признаков 87-89.

114. Способ стимулирования димерного рецепторного комплекса IL2RB/IL2RG на иммунной клетке, при этом способ включает приведение иммунной клетки в контакт с антителом по любому из признаков 1-86 или фармацевтической композицией по любому из признаков 87-89.

115. Способ по признаку 113 или 114, где иммунная клетка выбрана из CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки и естественной клетки-киллера (NK).

116. Применение антитела по любому из признаков 1-86 в получении лекарственного препарата для стимулирования передачи сигнала IL2R в иммунной клетке у нуждающегося в этом индивидуума.

117. Применение антитела по любому из признаков 1-86 в получении лекарственного препарата для стимулирования димерного рецепторного комплекса IL2RB/IL2RG на иммунной клетке у нуждающегося в этом индивидуума.

118. Применение по признаку 116 или 117, где иммунная клетка выбрана из CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки и естественной клетки-киллера (NK).

119. Антитело по любому из признаков 1-86 или фармацевтическая композиция по любому из признаков 87-89 для применения в способе стимулирования передачи сигнала IL2R в иммунной клетке.

120. Антитело по любому из признаков 1-86 или фармацевтическая композиция по любому из признаков 87-89 для применения в способе стимулирования димерного рецепторного комплекса IL2RB/IL2RG на иммунной клетке.

121. Антитело для применения или фармацевтическая композиция для применения по признаку 119 или 120, где иммунная клетка выбрана из CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки и естественной клетки-киллера (NK).

Неограничивающие иллюстративные варианты осуществления (перечень 2)

[10] Без ограничения некоторые иллюстративные варианты осуществления/положения настоящего изобретения включают следующее.

1. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, которое связывается с IL2RB, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(а) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 1-3, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 4-6, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 7-10.

2. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 1, где указанные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

3. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 1 или 2, дополнительно содержащее последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1.

4. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 1-3, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

5. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 4, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

6. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 5, содержащее:

(a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8; или

(c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10.

7. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 1-5, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью с любой из SEQ ID NO: 11-14.

8. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 7, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-14.

9. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, которое связывается с IL2RB, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G G S I S S S X1 W (SEQ ID NO: 26),

где X1 представляет собой D или N;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I X2 H S G S T (SEQ ID NO: 27),

где X2 представляет собой D или S, и

(с) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

X3 R G X4 W E L X5 D A F D I (SEQ ID NO: 28),

где X3 представляет собой G или A;

X4 представляет собой S или Q, и

X5 представляет собой S или T.

10. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, которое связывается с IL2RB, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(а) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F T F S X1 Y G (SEQ ID NO: 29),

где X1 представляет собой S или T;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S Y D G S N X2 (SEQ ID NO: 30),

где X2 представляет собой K или R, и

(с) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

A R D L D Y D X3 L T G D P V G G F D I (SEQ ID NO: 31),

где X3 представляет собой V или I.

11. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 9-10, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

12. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, которое связывается с IL2RG, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(а) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 15-16, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 17-19, и/или

(с) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 20-21.

13. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 12, где указанные последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

14. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 12 или 13, дополнительно содержащее последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1.

15. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 12-14, содержащее:

(а) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и/или

(с) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

16. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 15, содержащее:
- (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и
 - (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и
 - (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.
17. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 16, содержащее:
- (a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или
 - (b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или
 - (c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или
 - (d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.
18. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 12-16, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью с любой из SEQ ID NO: 22-25.
19. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 18, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22-25.
20. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, которое связывается с IL2RG, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:
- (a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:
G F X1 X2 X3 X4 Y Y (SEQ ID NO: 32),
где X1 представляет собой T или I;
X2 представляет собой F или V;
X3 представляет собой S, N или G, и
X4 представляет собой D или N;
 - (b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:
I S X5 S G X6 X7 I (SEQ ID NO: 33),
где X5 представляет собой S или N;
X6 представляет собой D, S, G или N, и
X7 представляет собой T или I, и
 - (c) последовательность CDR3, содержащую последовательность ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20).
21. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 20, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.
22. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 1-21, которое является полиспецифическим.
23. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 22, которое является

биспецифическим.

24. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 22 или 23, которое связывается с IL2RB и IL2RG.

25. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 1-24, дополнительно содержащее константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.

26. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 25, где шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54).

27. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по пункту 25, где шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55).

28. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 25-27, где домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56).

29. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 25-27, где домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A.

30. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 25-29, где домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58).

31. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 25-29, где домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W.

32. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 25-29, где домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

33. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, по любому из пунктов 22-32, которое функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

34. Биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

35. Антитело по пункту 34, где первая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 11, и вторая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22.

36. Антитело по пункту 35, где первая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 11, и вторая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

37. Антитело по пункту 36, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 53, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 61.

38. Биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

39. Антитело по пункту 38, где первая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23.

40. Антитело по пункту 39, где первая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

41. Антитело по пункту 40, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 62, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 63.

42. Биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9, и

вторую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

43. Антитело по пункту 42, где первая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 13, и вторая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23.

44. Антитело по пункту 43, где первая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 13, и вторая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

45. Антитело по пункту 44, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 64, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 65.

46. Биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10, и

вторую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

47. Антитело по пункту 46, где первая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 14, и вторая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22.

48. Антитело по пункту 47, где первая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 14, и вторая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

49. Антитело по пункту 48, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 66, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 67.

50. Биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

51. Антитело по пункту 50, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 24.

52. Антитело по пункту 51, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 24.

53. Антитело по пункту 52, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 35.

54. Биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

55. Антитело по пункту 54, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 25.

56. Антитело по пункту 55, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 25.

57. Антитело по пункту 56, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 36, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 37.

58. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пунктов 1-57.

59. Полинуклеотид, кодирующий антитело по любому из пунктов 1-57.

60. Вектор, содержащий полинуклеотид по пункту 59.

61. Клетка, содержащая вектор по пункту 60.

62. Способ получения антитела по любому из пунктов 1-57, при этом способ включает выращивание клетки по пункту 61 в условиях, благоприятных для экспрессии антитела, и выделение антитела из клетки и/или среды для культивирования клеток, в которой выращивают клетку.

63. Способ получения антитела по любому из пунктов 1-57, при этом способ включает иммунизацию животного UniRat с помощью IL2R и идентификацию IL2R-связывающих последовательностей тяжелой цепи.

64. Набор для лечения заболевания или нарушения у нуждающегося в этом индивидуума, содержащий антитело по любому из пунктов 1-57 или фармацевтическую композицию по пункту 58 и инструкции по применению.

65. Набор по пункту 64, дополнительно содержащий по меньшей мере один дополнительный реагент.

66. Набор по пункту 65, где по меньшей мере один дополнительный реагент содержит химиотерапевтическое лекарственное средство.

67. Способ лечения, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективной дозы антитела по любому из пунктов 1-57 или фармацевтической композиции по пункту 58.

68. Применение антитела по любому из пунктов 1-57 в получении лекарственного препарата для лечения заболевания или нарушения у нуждающегося в этом индивидуума.

69. Антитело по любому из пунктов 1-57 или фармацевтическая композиция по пункту 58 для применения в терапии у нуждающегося в этом индивидуума.

70. Способ лечения рака, включающий введение субъекту с указанным раком антитела по любому из пунктов 1-57 или фармацевтической композиции по пункту 58.

71. Способ или применение по любому из пунктов 67-70, где рак представляет собой рак поздней стадии или метастатический рак.

72. Способ или применение по любому из пунктов 67-71, где рак представляет собой рак в виде солидной опухоли.

73. Способ или применение по пункту 72, где рак в виде солидной опухоли выбран из группы, состоящей из почечноклеточной карциномы, меланомы, уротелиального рака, трижды негативного рака молочной железы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), колоректального рака, саркомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи и *метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы*.

74. Способ стимулирования передачи сигнала IL2R в иммунной клетке, при этом способ включает приведение иммунной клетки в контакт с антителом по любому из пунктов 1-57 или фармацевтической композицией по пункту 58.

75. Способ стимулирования димерного рецепторного комплекса IL2RB/IL2RG на иммунной клетке, при этом способ включает приведение иммунной клетки в контакт с антителом по любому из пунктов 1-57 или фармацевтической композицией по пункту 58.

76. Способ по пункту 74 или 75, где иммунная клетка выбрана из группы состоящей из CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки и естественной клетки-киллера (NK).

[11] IL-2R, также известный как рецептор интерлейкина-2, представляет собой гетеродимерный белок, экспрессирующийся на поверхности различных иммунных клеток, который служит когнатным лигандом для интерлейкина 2 (IL-2). Комплекс IL-2R состоит из различных комбинаций белковых цепей IL-2R α (IL2RA), IL-2R β (IL2RB) и IL-2R γ (IL2RG). IL-2RA также обозначается как CD25, а последовательность человеческого IL2RA (UniProtKB № P01589) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 38. IL-2RB также обозначается как CD122, а последовательность человеческого IL2RB (UniProtKB № P14784) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 39. IL-2RG также обозначается как CD132, а последовательность человеческого IL2RG (UniProtKB № P31785) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 40. Последовательность человеческого IL-2 (UniProtKB № P60568) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 41.

[12] Аспекты настоящего изобретения относятся к антителу, которое связывается с IL2RB, содержащему переменную область тяжелой цепи, содержащую: (a) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 1-3, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 4-6, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 7-10.

[13] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

[14] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

[15] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит:

(a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8; или

(c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10.

[16] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[17] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность, содержащую шесть или меньше

(например, пять или меньше, четыре или меньше, три или меньше, две или меньше, шесть, пять, четыре, три, два, один, ноль) замен в любой из SEQ ID NO: 11-14. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-14. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-14.

[18] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[19] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[20] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% гомологией (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) с Fc-областью нативной последовательности.

[21] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в

другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[22] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[23] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2

человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[24] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C.

[25] В некоторых вариантах осуществления антитело является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[26] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[27] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[28] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[29] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[30] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата

антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[31] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G G S I S S S X1 W (SEQ ID NO: 26),

где X1 представляет собой D или N;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I X2 H S G S T (SEQ ID NO: 27),

где X2 представляет собой D или S, и

(c) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

X3 R G X4 W E L X5 D A F D I (SEQ ID NO: 28),

где X3 представляет собой G или A; X4 представляет собой S или Q, и X5 представляет собой S или T.

[32] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[33] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[34] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[35] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере

приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[36] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[37] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[38] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности СН1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен СН2 и домен СН3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен СН2 содержит последовательность домена СН2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен СН2 предусматривает вариантный домен СН2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит последовательность домена СН3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит вариантную последовательность домена СН3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит вариантную последовательность домена СН3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[39] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[40] В некоторых вариантах осуществления антитело является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[41] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[42] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[43] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется

аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[44] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[45] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[46] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(а) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F T F S X1 Y G (SEQ ID NO: 29),

где X1 представляет собой S или T;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S Y D G S N X2 (SEQ ID NO: 30),

где X2 представляет собой K или R, и

(c) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

A R D L D Y D X3 L T G D P V G G F D I (SEQ ID NO: 31),

где X3 представляет собой V или I.

[47] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[48] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[49] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах

осуществления антителио представляет собой трехцепочечную антителиоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антителио представляет собой антителио, содержащее только тяжелые цепи.

[50] В некоторых вариантах осуществления антителио содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антителио содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[51] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[52] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область,

подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[53] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[54] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[55] В некоторых вариантах осуществления антитело является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[56] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до

около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[57] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[58] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[59] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[60] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[61] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, которое связывается с IL2RG, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую: (а) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 15-16, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 17-19, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 20-21.

[62] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: (а) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

[63] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит: (а) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

[64] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит:

(а) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(с) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

[65] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[66] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность, содержащую шесть или меньше (например, пять или меньше, четыре или меньше, три или меньше, две или меньше; шесть, пять, четыре, три, два, один, ноль) замен в любой из SEQ ID NO: 22-25. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 22-25. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22-25.

[67] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[68] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[69] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью

нативной последовательности.

[70] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[71] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[72] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит

последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности СН1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен СН2 и домен СН3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен СН2 содержит последовательность домена СН2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен СН2 предусматривает вариантный домен СН2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит последовательность домена СН3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит вариантную последовательность домена СН3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит вариантную последовательность домена СН3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[73] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[74] В некоторых вариантах осуществления антитело является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[75] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[76] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[77] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

М.

[78] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[79] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[80] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, которое связывается с IL2RG, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F X1 X2 X3 X4 Y Y (SEQ ID NO: 32),

где X1 представляет собой T или I; X2 представляет собой F или V; X3 представляет собой S, N или G, и X4 представляет собой D или N;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S X5 S G X6 X7 I (SEQ ID NO: 33),

где X5 представляет собой S или N; X6 представляет собой D, S, G или N, и X7 представляет собой T или I, и

(c) последовательность CDR3, содержащую последовательность ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20).

[81] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[82] В некоторых вариантах осуществления антитело является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело связывается с IL2RB и IL2RG.

[83] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[84] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой

иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[85] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи не содержит последовательность CH1. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[86] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C.

[87] В некоторых вариантах осуществления антитело функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[88] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10⁻¹¹ М до около приблизительно 10⁻⁶ М (например, от приблизительно 10⁻¹⁰ М до около приблизительно 10⁻⁶ М; от приблизительно 10⁻⁹ М до около приблизительно 10⁻⁶ М; от приблизительно 10⁻⁸ М до около приблизительно 10⁻⁶ М; от приблизительно 10⁻¹¹ М до около приблизительно 10⁻⁸ М; от приблизительно 10⁻¹⁰ М до около приблизительно 10⁻⁸ М; от приблизительно 10⁻⁹ М до около приблизительно 10⁻⁸ М; от приблизительно 10⁻¹¹ М до около приблизительно 10⁻⁹ М;

от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[89] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[90] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[91] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[92] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[93] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[94] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[95] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 11, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 11, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

[96] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[97] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[98] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[99] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и

К392С в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) К409Е в одной цепи плюс D399К в другой; 2) К409Е в одной цепи плюс D399R в другой; 3) К409D в одной цепи плюс D399К в другой; 4) К409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) К392Е в одной цепи плюс D399R в другой; 6) К392Е в одной цепи плюс D399К в другой; 7) К392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) К392D в одной цепи плюс D399К в другой; 9) К409D и К360D в одной цепи плюс D399К и E356К в другой; 10) К409D и К370D в одной цепи плюс D399К и E357К в другой; 11) К409D и К392D в одной цепи плюс D399К, E356К и E357К в другой; 12) К409D и К392D в одной цепи и D399К в другой; 13) К409D и К392D в одной цепи плюс D399К и E356К в другой; 14) К409D и К392D в одной цепи плюс D399К и D357К в другой; 15) К409D и К370D в одной цепи плюс D399К и D357К в другой; 16) D399К в одной цепи плюс К409D и К360D в другой или 17) К409D и К439D в одной цепи плюс D399К и E356К в другой).

[100] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[101] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3

человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[102] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 53, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 61.

[103] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[104] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[105] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[106] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[107] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[108] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[109] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[110] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой вариабельной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй вариабельной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй вариабельных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[111] В некоторых вариантах осуществления первая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления первая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

[112] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[113] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[114] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью

нативной последовательности.

[115] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[116] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[117] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит

последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности СН1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен СН2 и домен СН3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен СН2 содержит последовательность домена СН2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен СН2 предусматривает вариантный домен СН2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит последовательность домена СН3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит вариантную последовательность домена СН3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен СН3 содержит вариантную последовательность домена СН3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[118] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 62, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 63.

[119] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[120] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с Kd от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[121] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[122] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[123] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется

аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[124] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[125] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[126] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[127] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 13, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 13, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

[128] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[129] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления

антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[130] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[131] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в

другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[132] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[133] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[134] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 64, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 65.

[135] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно

55°C до приблизительно 65°C и Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C.

[136] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с Kd от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[137] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[138] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[139] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[140] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[141] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[142] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[143] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой

цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

[144] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[145] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[146] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[147] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в

другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[148] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[149] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2

человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[150] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 66, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 67.

[151] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[152] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[153] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[154] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[155] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[156] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе

"Примеры" в данном документе.

[157] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[158] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[159] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 24.

[160] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[161] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную

молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[162] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[163] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[164] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или

более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[165] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[166] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 35.

[167] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[168] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М;

от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[169] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[170] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[171] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[172] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[173] Аспекты настоящего изобретения включают антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

[174] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[175] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 25.

[176] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой выделенное человеческое антитело.

[177] В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой интактную молекулу IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.

[178] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[179] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и

К392С в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) К409Е в одной цепи плюс D399К в другой; 2) К409Е в одной цепи плюс D399R в другой; 3) К409D в одной цепи плюс D399К в другой; 4) К409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) К392Е в одной цепи плюс D399R в другой; 6) К392Е в одной цепи плюс D399К в другой; 7) К392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) К392D в одной цепи плюс D399К в другой; 9) К409D и К360D в одной цепи плюс D399К и E356К в другой; 10) К409D и К370D в одной цепи плюс D399К и E357К в другой; 11) К409D и К392D в одной цепи плюс D399К, E356К и E357К в другой; 12) К409D и К392D в одной цепи и D399К в другой; 13) К409D и К392D в одной цепи плюс D399К и E356К в другой; 14) К409D и К392D в одной цепи плюс D399К и D357К в другой; 15) К409D и К370D в одной цепи плюс D399К и D357К в другой; 16) D399К в одной цепи плюс К409D и К360D в другой или 17) К409D и К439D в одной цепи плюс D399К и E356К в другой).

[180] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[181] В некоторых вариантах осуществления антитело дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3

человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[182] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 36, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 37.

[183] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[184] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[185] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[186] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[187] В некоторых вариантах осуществления антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[188] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[189] В обычном антителе, представляющем собой IgG, ассоциация тяжелой цепи и легкой цепи частично обусловлена гидрофобным взаимодействием между константной областью легкой цепи и константным доменом CH1 тяжелой цепи. Существуют дополнительные остатки в каркасной области 2 (FR2) и каркасной области 4 (FR4) тяжелой цепи, которые также участвуют в этом гидрофобном взаимодействии между тяжелой и легкой цепями.

[190] Однако известно, что сыворотка крови верблюдовых (подотряд Tylopoda,

который включает верблюдов, дромедаров и лам) содержит основной тип антител, состоящих исключительно из спаренных Н-цепей (антител, содержащих только тяжелые цепи, или HCAb). Антитела Camelidae (*Camelus dromedarius*, *Camelus bactrianus*, *Lama glama*, *Lama guanaco*, *Lama alpacas* и *Lama vicugna*), содержащие только тяжелые цепи, характеризуются уникальной структурой, состоящей из единственного переменного домена (V_HH), шарнирной области и двух константных доменов (СН₂ и СН₃), которые являются высокомолекулярными доменами СН₂ и СН₃ классических антител. Эти антитела, содержащие только тяжелые цепи, характеризуются отсутствием первого домена константной области (СН₁), который присутствует в геноме, но подвергается сплайсингу в ходе процессинга mRNA. Отсутствие домена СН₁ объясняет отсутствие легкой цепи в антителах, содержащих только тяжелые цепи, так как этот домен представляет собой место закоривания константного домена легкой цепи. Такие антитела, содержащие только тяжелые цепи, естественным образом эволюционировали с приданием им антигенсвязывающей специфичности и высокой аффинности за счет трех CDR из обычных антител или их фрагментов. Muyltermans, 2001; *J Biotechnol* 74:277-302; Revets et al., 2005; *Expert Opin Biol Ther* 5:111-124. Хрящевые рыбы, такие как акулы, также выработали особый тип иммуноглобулина, обозначаемый как IgNAR, который характеризуется отсутствием легких полипептидных цепей и полностью состоит из тяжелых цепей. Молекулы IgNAR можно подвергать манипуляциям посредством молекулярной инженерии для получения переменного домена единственного полипептида тяжелой цепи (vNAR). Nuttall et al. *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall et al. *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley et al., *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003).

[191] Способность антител, содержащих только тяжелые цепи и не содержащих легкую цепь, связывать антиген была установлена в 1960-х гг. (Jaton et al. (1968) *Biochemistry*, 7, 4185-4195). Тяжелая цепь иммуноглобулина, физически отделенная от легкой цепи, сохраняла 80% антигенсвязывающей активности по сравнению с тетрамерным антителом. Sitia et al. (1990) *Cell*, 60, 781-790 продемонстрировали, что удаление домена СН₁ из перегруппированного мышинового гена μ приводит к продуцированию антитела, содержащего только тяжелые цепи, не содержащего легкую цепь, в культуре клеток млекопитающего. Продуцируемые антитела сохраняли специфичность связывания V_H и эффекторные функции.

[192] Антитела с тяжелыми цепями с высокой специфичностью и аффинностью могут быть получены против различных антигенов посредством иммунизации (van der Linden, R.H., et al. *Biochim. Biophys. Acta.* 1431, 37-46 (1999)), и часть V_HH можно легко клонировать и экспрессировать в дрожжах (Frenken, L. G. J., et al. *J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)). Их уровни экспрессии, растворимости и стабильности значительно выше, чем у классических фрагментов F(ab) или F_v. Ghahroudi, M. A. et al. *FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997).

[193] Мыши, у которых локус легкой (L) цепи λ (лямбда) и/или локусы L-цепей λ и

к (каппа) были функционально подвергнуты сайленсингу, и антитела, продуцируемые такими мышами, описаны в патентах США №№ 7541513 и 8367888. О рекомбинантном продуцировании антител, содержащих только тяжелые цепи, у мышей и крыс сообщалось, например, в WO 2006008548; публикации заявки на патент США № 20100122358; Nguyen et al., 2003, *Immunology*; 109(1), 93-101; Brüggemann et al., *Crit. Rev. Immunol.*; 2006, 26(5):377-90 и Zou et al., 2007, *J Exp Med*; 204(13): 3271-3283. Получение крыс с нокаутом посредством микроинъекций нуклеаз с цинковыми пальцами в эмбрион описано в Geurts et al., 2009, *Science*, 325(5939):433. Растворимые антитела, содержащие только тяжелые цепи, и трансгенные грызуны, содержащие гетерологичный локус тяжелой цепи, продуцирующие такие антитела, описаны в патентах США №№ 8883150 и 9365655. Структуры CAR-T, содержащие однодоменные антитела в качестве связывающих (нацеливающихся) доменов, описаны, например, в Iri-Sofla et al., 2011, *Experimental Cell Research* 317:2630-2641 и Jamnani et al., 2014, *Biochim Biophys Acta*, 1840:378-386.

[194] Аспекты настоящего изобретения включают антитела, содержащие только тяжелые цепи, которые связываются с IL2RB, содержащие вариabельную область тяжелой цепи, содержащую: (a) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 1-3, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 4-6, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 7-10.

[195] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит: (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

[196] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит: (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

[197] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит:

(a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8; или

(c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10.

[198] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[199] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательность, содержащую шесть или меньше (например, пять или меньше, четыре или меньше, три или меньше, две или меньше; шесть, пять, четыре, три, два, один, ноль) замен в любой из SEQ ID NO: 11-14. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариабельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-14. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 11-14.

[200] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% гомологией (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) с Fc-областью нативной последовательности.

[201] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в

одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[202] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[203] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[204] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tm от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых

вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[205] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[206] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[207] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[208] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[209] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[210] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[211] Аспекты настоящего изобретения включают антитела, содержащие только тяжелые цепи, которые связываются с IL2RB, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(а) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G G S I S S S X1 W (SEQ ID NO: 26),

где X1 представляет собой D или N;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I X2 H S G S T (SEQ ID NO: 27),

где X2 представляет собой D или S, и

(c) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

X3 R G X4 W E L X5 D A F D I (SEQ ID NO: 28),

где X3 представляет собой G или A; X4 представляет собой S или Q, и X5 представляет собой S или T.

[212] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[213] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[214] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в

другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[215] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[216] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[217] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tm от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tm от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и Tagg от приблизительно 55°C до

приблизительно 65°C.

[218] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[219] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[220] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[221] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[222] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[223] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[224] Аспекты настоящего изобретения включают антитела, содержащие только тяжелые цепи, которые связываются с IL2RB, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(а) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F T F S X1 Y G (SEQ ID NO: 29),

где X1 представляет собой S или T;

(б) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S Y D G S N X2 (SEQ ID NO: 30),

где X2 представляет собой K или R, и

(с) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

A R D L D Y D X3 L T G D P V G G F D I (SEQ ID NO: 31),

где X3 представляет собой V или I.

[225] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[226] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[227] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16)

D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[228] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[229] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[230] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tm от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется Tm от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и Tagg от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C.

[231] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления

антитело, содержащее только тяжелые цепи, является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[232] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[233] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[234] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[235] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[236] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[237] Аспекты настоящего изобретения включают антитела, содержащие только тяжелые цепи, которые связываются с IL2RG, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую: (а) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 15-16, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 17-19, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше (например, 0, 1 или 2) в любой из SEQ ID NO: 20-21.

[238] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит: (а) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и/или (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и/или (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

[239] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит: (a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и (b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и (c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

[240] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит:

(a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

[241] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[242] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую последовательность, содержащую шесть или меньше (например, пять или меньше, четыре или меньше, три или меньше, две или меньше; шесть, пять, четыре, три, два, один, ноль) замен в любой из SEQ ID NO: 22-25. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит переменную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 22-25. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22-25.

[243] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[244] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи

и Т394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и Т366Y в другой; 6) Т366Y и F405A в одной цепи и Т394W и Y407T в другой; 7) Т366W и F405W в одной цепи и Т394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и Т366W и Т394S в другой или 9) Т366W в одном полипептиде Fc и Т366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) Т394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[245] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[246] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых

вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[247] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[248] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, связывается с IL2RB и IL2RG. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[249] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[250] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[251] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[252] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[253] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[254] Аспекты настоящего изобретения включают антитела, содержащие только тяжелые цепи, которые связываются с IL2RG, содержащие переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F X1 X2 X3 X4 Y Y (SEQ ID NO: 32),

где X1 представляет собой T или I; X2 представляет собой F или V; X3 представляет собой S, N или G, и X4 представляет собой D или N;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S X5 S G X6 X7 I (SEQ ID NO: 33),

где X5 представляет собой S или N; X6 представляет собой D, S, G или N, и X7 представляет собой T или I, и

(c) последовательность CDR3, содержащую последовательность ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20).

[255] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[256] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, является биспецифическим. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, связывается с IL2RB и IL2RG.

[257] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи не содержит последовательность CH1. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2

содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[258] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[259] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.

[260] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[261] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[262] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[263] В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[264] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d

измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[265] Аспекты настоящего изобретения включают биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[266] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[267] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 11, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 11, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

[268] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[269] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в

вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[270] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[271] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи,

содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[272] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 53, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 61.

[273] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[274] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[275] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[276] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к

IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[277] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[278] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[279] Аспекты настоящего изобретения включают биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[280] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[281] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

[282] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах

осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[283] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[284] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую

эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[285] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[286] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 62, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 63.

[287] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[288] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до

около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[289] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[290] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[291] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[292] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[293] Аспекты настоящего изобретения включают биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[294] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[295] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 13, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере

мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления первая варибельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 13, и вторая варибельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

[296] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[297] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи

плюс D399K и E356K в другой).

[298] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[299] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[300] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 64, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 65.

[301] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее

только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[302] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[303] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[304] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[305] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[306] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[307] Аспекты настоящего изобретения включают биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[308] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной

области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[309] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

[310] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[311] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс

D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[312] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[313] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[314] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое

антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 66, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 67.

[315] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[316] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[317] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[318] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[319] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[320] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[321] Аспекты настоящего изобретения включают биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под

SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[322] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой вариабельной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй вариабельной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй вариабельных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[323] В некоторых вариантах осуществления первая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления первая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая вариабельная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 24.

[324] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[325] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в

одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[326] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[327] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий

мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[328] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 35.

[329] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[330] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[331] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[332] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[333] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с K_d от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[334] В некоторых вариантах осуществления K_d измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления K_d

измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[335] Аспекты настоящего изобретения включают биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

[336] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой и второй переменных областях тяжелой цепи присутствуют в каркасных областях человеческой VH.

[337] В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% (например, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 25. В некоторых вариантах осуществления первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 25.

[338] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит Fc-область. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит вариантную Fc-область. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) гомологией с Fc-областью нативной последовательности.

[339] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит гетеродимеризующие изменения. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены "выступы" и "впадины" (например, в

вариантной Fc-области IgG1, 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой или 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены, которые образуют новые дисульфидные мостики (например, в вариантной Fc-области IgG1, 1) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 2) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; 3) Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; 4) L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; 5) T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или 6) D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой). В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения включают замены заряженных пар (например, 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой или 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой).

[340] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая изменяет гликозилирование. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, ослабляющую эффекторную функцию (например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[341] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, дополнительно содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит константную область тяжелой цепи,

содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[342] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, содержит первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 36, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 37.

[343] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C . В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется T_m от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C и T_{agg} от приблизительно 55°C до приблизительно 65°C .

[344] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2R с K_d от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М (например, от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно 10^{-6} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно 10^{-8} М; от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-9} М; от приблизительно 10^{-10} М до около приблизительно 10^{-9} М).

[345] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с K_d от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М.

[346] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к

IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[347] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи, характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М и аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.

[348] В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384 в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена с применением прибора ForteBio Octet Qk384, содержащего сенсор захвата антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005), в кинетическом режиме. В некоторых вариантах осуществления Kd измерена в соответствии со способом, описанным в разделе "Примеры" в данном документе.

[349] Аспекты настоящего изобретения включают фармацевтические композиции, содержащие описанное в данном документе антитело (например, антитело, содержащее только тяжелые цепи; биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи).

[350] Аспекты настоящего изобретения включают полинуклеотиды, кодирующие описанное в данном документе антитело (например, антитело, содержащее только тяжелые цепи; биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи).

[351] Аспекты настоящего изобретения включают векторы, содержащие описанный в данном документе полинуклеотид.

[352] Аспекты настоящего изобретения включают клетки, содержащие описанные в данном документе векторы.

[353] Аспекты настоящего изобретения включают способы получения описанного в данном документе антитела (например, антитела, содержащего только тяжелые цепи; биспецифического агонистического антитела к IL2R, содержащего только тяжелые цепи), при этом способы включают выращивание описанной в данном документе клетки в условиях, благоприятных для экспрессии антитела, и выделение антитела из клетки и/или среды для культивирования клеток, в которой выращивают клетку.

[354] Аспекты настоящего изобретения включают способы получения описанного в данном документе антитела, при этом способы включают иммунизацию животного UniRat™ с помощью IL2R и идентификацию IL2R-связывающих последовательностей тяжелых цепей.

[355] Аспекты настоящего изобретения включают наборы для лечения заболевания или нарушения у нуждающегося индивидуума, содержащие описанное в данном документе антитело (например, антитело, содержащее только тяжелые цепи; биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи) или описанную в данном документе фармацевтическую композицию и инструкции по применению.

[356] В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит по меньшей мере один дополнительный реагент. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один дополнительный реагент предусматривает химиотерапевтическое лекарственное средство.

[357] Аспекты настоящего изобретения включают способы лечения, включающие введение нуждающемуся индивидууму эффективной дозы описанного в данном документе антитела (например, антитела, содержащего только тяжелые цепи; биспецифического агонистического антитела к IL2R, содержащего только тяжелые цепи) или описанной в данном документе фармацевтической композиции.

[358] Аспекты настоящего изобретения включают применение описанного в данном документе антитела (например, антитела, содержащего только тяжелые цепи; биспецифического агонистического антитела к IL2R, содержащего только тяжелые цепи) в получении лекарственного препарата для лечения заболевания или нарушения у нуждающегося индивидуума. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поздней стадии или метастатический рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гемобластоз, такой как, например, множественная миелома или острый миелоидный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак в виде солидной опухоли. В некоторых вариантах осуществления рак в виде солидной опухоли выбран из группы, состоящей из почечноклеточной карциномы, меланомы, уротелиального рака, трижды негативного рака молочной железы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), колоректального рака, саркомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи и *метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы*.

[359] Аспекты настоящего изобретения включают описанное в данном документе антитело (например, антитело, содержащее только тяжелые цепи; биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи) или описанную в данном документе фармацевтическую композицию для применения в терапии у нуждающегося индивидуума.

[360] Аспекты настоящего изобретения включают описанное в данном документе антитело (например, антитело, содержащее только тяжелые цепи; биспецифическое агонистическое антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи) или описанную в данном документе фармацевтическую композицию для применения в лечении заболевания или нарушения у нуждающегося индивидуума. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поздней стадии или метастатический рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гемобластоз, такой как, например, множественная миелома или острый миелоидный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак в виде солидной опухоли. В некоторых вариантах осуществления рак в виде солидной опухоли

выбран из группы, состоящей из почечноклеточной карциномы, меланомы, уротелиального рака, трижды негативного рака молочной железы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), колоректального рака, саркомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи и *метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы*.

[361] Аспекты настоящего изобретения включают способы лечения рака, включающие введение субъекту с указанным раком описанного в данном документе антитела (например, антитела, содержащего только тяжелые цепи; биспецифического агонистического антитела к IL2R, содержащего только тяжелые цепи) или описанной в данном документе фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поздней стадии или метастатический рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гемобластоз, такой как, например, множественная миелома или острый миелоидный лейкоз. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак в виде солидной опухоли. В некоторых вариантах осуществления рак в виде солидной опухоли выбран из группы, состоящей из почечноклеточной карциномы, меланомы, уротелиального рака, трижды негативного рака молочной железы, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), колоректального рака, саркомы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи и *метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы*.

[362] Аспекты настоящего изобретения включают способы стимулирования передачи сигнала IL2R в иммунной клетке, при этом способы включают приведение иммунной клетки в контакт с описанным в данном документе антителом (например, антителом, содержащим только тяжелые цепи; биспецифическим агонистическим антителом к IL2R, содержащим только тяжелые цепи) или описанной в данном документе фармацевтической композицией.

[363] Аспекты настоящего изобретения включают способы стимулирования димерного рецепторного комплекса IL2RB/IL2RG на иммунной клетке, при этом способ включает приведение иммунной клетки в контакт с описанным в данном документе антителом (например, антителом, содержащим только тяжелые цепи, биспецифическим агонистическим антителом к IL2R, содержащим только тяжелые цепи) или описанной в данном документе фармацевтической композицией.

[364] В некоторых вариантах осуществления иммунная клетка выбрана из группы, состоящей из CD4⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки и естественной клетки-киллера (NK).

[365] Эти и дополнительные аспекты будут дополнительно объяснены в остальной части настоящего раскрытия, в том числе в разделе "Примеры".

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[366] **Фиг. 1** представляет собой таблицу, в которой обобщена кинетика связывания перечисленных конструкций биспецифических антител в отношении IL2RB и IL2RG человека и яванского макака.

[367] **Фиг. 2**, панели А-С, представляют собой ряд таблиц тепловых карт, на

которых изображена кратность индуцирования фосфорилированного STAT5 (pSTAT5) в CD8⁺ Т-клетках из PBMC человека, обработанных биспецифическими UniAbs™ к IL2Rβ/γ (панель А), моноспецифическими UniAbs™ к IL2Rβ и к IL2Rγ в смеси 1:1 или в качестве отдельных средств (панель В) или IL-2 в качестве контроля (панель С) при 50 нМ в течение 1 часа. Уровни pSTAT5 определяли посредством проточной цитометрии и регистрировали в виде геометрической средней интенсивности флуоресценции (gMFI) по сравнению с gMFI нестимулированных клеток.

[368] **Фиг. 3**, панели А-С, представляют собой ряд графиков, на которых продемонстрирована зависимость связывания клеток указанного типа от концентрации для изображенных конструкций биспецифических антител. Связывание клеток определяли посредством проточной цитометрии и регистрировали в виде геометрической средней интенсивности флуоресценции (gMFI) по сравнению с gMFI клеток, окрашенных только с помощью вторичного детектирующего антитела.

[369] **Фиг. 4**, панели А-Е, представляют собой ряд графиков, на которых продемонстрированы кривые зависимости дозы фосфорилирования STAT5 в PBMC человека и яванского макака от концентрации для изображенных конструкций биспецифических антител и контрольных молекул (IL-2 и варианта IL-2). Уровни pSTAT5 определяли посредством проточной цитометрии и регистрировали в виде процента указанного типа клеток.

[370] **Фиг. 5**, панели А-Д, представляют собой ряд графиков, на которых продемонстрирована зависимость пролиферации (кривые дозы Ki67) в указанных клетках человека от концентрации изображенных конструкций биспецифических антител и контрольных молекул (IL-2 и варианта IL-2). Уровни Ki67 определяли посредством проточной цитометрии и регистрировали в виде процента указанного типа клеток.

[371] **Фиг. 6**, панели А-Д, представляют собой ряд графиков, на которых продемонстрирована зависимость секреции цитокинов в цельной крови человека от концентрации изображенных конструкций биспецифических антител и контрольных молекул (IL-2).

[372] **На фиг. 7**, панелях А-В, приведены данные клеточной интернализации для указанных конструкций биспецифических антител. На панели А изображена интернализация указанных UniAb к IL2Rβ/γ CD8⁺ Т-клетками из PBMC человека в зависимости от времени. На панели В эти данные приведены изображены в табличном формате. Поверхностные уровни UniAb детектировали посредством проточной цитометрии и регистрировали относительно клеток, которым не была предоставлена возможность осуществления интернализации. Наблюдаемые периоды полужизни варьировались от 0,27 часа до 0,81 часа. Как наблюдалось в данном случае, интернализация потенциально частично зависела от специфического плеча к IL2RG биспецифического антитела, поскольку молекулы, содержащие связывающую последовательность IL2RG_F16B, интернализировались быстрее и в большей степени, чем молекулы, содержащие различные связывающие последовательности антитела к IL2RG.

[373] **На фиг. 8**, панелях А-В, приведены ПК данные мышиной модели в графическом (панель А) и табличном (панель В) форматах. Мышам BALB/c (n=3 на группу в каждой временной точке) вводили 1 мг/кг указанных UniAb к IL2R β / γ путем инъекции в хвостовую вену. Сыворотку крови собирали в 6 временных точках в течение двух недель и тестировали совместно посредством ELISA в отношении человеческого IgG4. Результаты показаны в зависимости времени (панель А) или в табличном формате (панель В).

[374] **Фиг. 9** представляет собой таблицу, в которой обобщены некоторые свойства указанных конструкций биспецифических антител. Все конструкции экспрессировали в системе экспрессии ExpiCHO и подвергали 2-стадийной очистке. Стабильность определяли на основании процента агрегации посредством SE-HPLC после температурного стресса. T_m и Tagg измеряли с применением платформы UNcle. Для экспериментов с применением SE-HPLC 20 мкг белка анализировали на колонке TSK gel G3000 5 мкм.

[375] **На фиг. 10**, панелях А-С, представлены обобщенные данные, полученные с применением мышиной модели GVHD. Каждой из облученных мышей NSG (5 на группу обработки) прививали 20 миллионов PBMC человека. Затем животных обрабатывали либо только средой-носителем (100 мкл), 22 мкг rhIL-2 один раз в сутки, либо одной из двух указанных конструкций биспецифических антител при 1 мг/кг в 100 мкл два раза в неделю до умерщвления (потеря 20% веса тела). На панели А приведен обзор мышиной модели GVHD и последующей схемы введения доз. На панели В показана зависимость значений веса тела животных от времени для указанных экспериментальных групп. На панели С изображены результаты анализа клеток из селезенок мышей, участвовавших в исследовании, собранных после дня 5 обработки. Пролиферацию CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺ Т-клеток сравнивали между 4 группами обработки путем измерения окрашивания CFSE в различных популяциях лимфоцитов. Обе из двух протестированных конструкций биспецифических антител (IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (BsAb-1) и IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (BsAb-2)) демонстрировали значительно большее количество пролиферирующих CD8⁺ Т-клеток по сравнению с rhIL-2 и контролем, представляющим собой среду-носитель. CD4⁺ Т-клетки размножались в меньшей степени, однако значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток наблюдали у мышей, которых обрабатывали с помощью IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (BsAb-2), по сравнению с контролем, представляющим собой среду-носитель (панель С). Эти данные демонстрируют, что агонисты цитокиновых рецепторов способствуют активации и пролиферации иммунных эффекторных клеток *in vivo* и ускоряют GVHD у мышей NSG с привитыми huPBMC со скоростью, сходной с таковой в группах с цитокиновыми контролями.

[376] **Фиг. 11**, панели А-Ж, представляют собой ряд графиков, на которых обобщены фармакодинамические (PD) данные *in vivo*, полученные в результате исследования на яванских макаках без соблюдения GLP. На панелях А-Е изображены

проценты указанных типов клеток в зависимости от времени после введения дозы. На панелях F-J изображена концентрация указанных типов клеток на мкл крови ($\times 10^5$) в зависимости времени после введения дозы. На панели K показано соотношение CD8+ Т-клеток и CD4+ Т-клеток в зависимости от времени после введения дозы.

[377] **Фиг. 12**, панель А, представляет собой график, на котором показана концентрация указанного биспецифического антитела в сыворотке крови в зависимости от времени (дней). Панель В представляет собой таблицу, в которой показана информация о молекуле, дозе и периоде полужизни ($t_{1/2}$).

[378] **Фиг. 13** представляет собой график, на котором продемонстрирована зависимость веса тела (%) от времени (дня исследования) для животных в модели ускоренной GVHD.

[379] **Фиг. 14** представляет собой график, на котором продемонстрирована зависимость вероятности выживания от времени (дня исследования) для животных в модели ускоренной GVHD.

[380] **Фиг. 15**, панели А-С, представляют собой совокупность графиков, на которых показана пролиферация клеток указанного типа клеток, измеренная через 5 дней после обработки и разделенная на группы обработки. На панели А показаны результаты для CD8+ Т-клеток, на панели В показаны результаты для CD4+ Т-клеток, и на панели С показаны результаты для NK-клеток.

[381] **Фиг. 16**, панели А-Л, представляют собой совокупность графиков, на которых показаны пролиферация клеток и абсолютная концентрация клеток для указанных типов клеток при указанных условиях введения доз в зависимости от времени.

[382] При реализации на практике настоящего изобретения будут применяться, если не указано иное, обычные методики молекулярной биологии (в том числе рекомбинантные методики), микробиологии, клеточной биологии, биохимии и иммунологии, которые находятся в пределах компетенции специалистов в данной области техники. Такие методики полностью объяснены в литературе, такой как "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", second edition (Sambrook et al., 1989); "Oligonucleotide Synthesis" (M. J. Gait, ed., 1984); "Animal Cell Culture" (R. I. Freshney, ed., 1987); "Methods in Enzymology" (Academic Press, Inc.); "Current Protocols in Molecular Biology" (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, and periodic updates); "PCR: The Polymerase Chain Reaction", (Mullis et al., ed., 1994); "A Practical Guide to Molecular Cloning" (Perbal Bernard V., 1988); "Phage Display: A Laboratory Manual" (Barbas et al., 2001); Harlow, Lane and Harlow, Using Antibodies: A Laboratory Manual: Portable Protocol No. I, Cold Spring Harbor Laboratory (1998) и Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory; (1988).

[383] Если не указано иное, остатки антител в данном документе пронумерованы в соответствии с системой нумерации согласно Kabat (например, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)).

[384] В следующем описании представлены многочисленные конкретные детали для обеспечения более полного понимания настоящего изобретения. Однако специалисту в данной области техники будет очевидно, что настоящее изобретение может быть реализовано на практике без одной или нескольких из этих конкретных деталей. В других случаях широко известные признаки и процедуры, широко известные специалистам в данной области техники, не были описаны в целях избегания затруднения понимания настоящего изобретения.

[385] Все ссылки, цитируемые во всем настоящем изобретении, в том числе заявки патент и публикации патента, включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В случае каких-либо расхождений в определении между упомянутыми процитированными источниками и определениями, представленными в данном документе, определения, представленные в данном документе, имеют преимущественную силу.

Определения

[386] В некоторых вариантах осуществления "приблизительно", используемый в связи с измеряемой числовой переменной, относится к указанному значению переменной и ко всем значениям переменной, которые находятся в пределах экспериментальной ошибки указанного значения (например, в пределах 95% доверительного интервала для среднего) или $\pm 10\%$ от указанного значения, в зависимости от того, что больше. В некоторых вариантах осуществления числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон.

[387] В случае, когда представлен диапазон значений, необходимо понимать, что каждое промежуточное значение до десятой единицы измерения нижнего предела, если контекст явно не указывает иное, между верхними и нижними пределами данного диапазона и любое другое указанное или промежуточное значение в данном указанном диапазоне, охвачено в настоящем изобретении. Верхние и нижние пределы этих меньших диапазонов могут быть независимо включены в меньшие диапазоны, которые также охвачены в настоящем изобретении, за исключением любого особым образом исключенного предела в указанном диапазоне. В случае, когда указанный диапазон включает один или оба из этих указанных пределов, диапазоны, исключаящие один или оба из указанных включенных пределов, также включены в настоящее изобретение.

[388] Под "содержащим" подразумевается, что перечисленные элементы требуются в композиции/способе/наборе, но другие элементы могут быть включены для образования композиции/способа/набора и т. п. в пределах объема формулы изобретения или варианта осуществления.

[389] Под "состоящим по сути из" подразумевается ограничение объема описанных композиции или способа конкретными материалами или стадиями, которые существенно не влияют на основную(ые) и новую(ые) характеристику(и) заявленного изобретения.

[390] Под "состоящим из" подразумевается исключение из композиции, способа или набора любого элемента, стадии или ингредиента, не указанных в формуле

изобретение или варианте осуществления.

[391] Остатки антител по данному документу пронумерованы в соответствии с системой нумерации согласно Kabat и системой нумерации согласно EU. Система нумерации согласно Kabat обычно применяется при обозначении остатка в переменном домене (примерно остатки 1-113 тяжелой цепи) (например, Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). "Система нумерации согласно EU" или "EU-индекс" обычно применяется при обозначении остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, EU-индекс, описанный в Kabat et al., см. выше). "EU-индекс согласно Kabat" относится к нумерации согласно EU остатков человеческого антитела IgG1. Если не указано иное, ссылки на номера остатков в переменном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации согласно Kabat. Если в данном документе не указано иное, ссылки на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации согласно EU.

[392] Антитела, также называемые иммуноглобулинами, обычно содержат по меньшей мере одну тяжелую цепь и одну легкую цепь, где аминоконцевой домен тяжелой и легкой цепей является переменным по последовательности, и поэтому его обычно называют доменом переменной области или переменным доменом тяжелой цепи (VH) или переменным доменом легкой цепи (VL). Два домена обычно связываются с образованием области специфического связывания, хотя, как будет обсуждаться в данном документе, специфическое связывание также может быть получено с переменными последовательностями, представленными только тяжелыми цепями, и множество не встречающихся в природе конфигураций антител известны и применяются в данной области техники.

[393] "Функционально" или "биологически активное" антитело или антигенсвязывающая молекула (в том числе, например, антитела, содержащие только тяжелые цепи, и мультиспецифические (например, биспецифические) антитела, а также трехцепочечные антителоподобные молекулы (ТСА, описанные в данном документе)) могут характеризоваться одной или несколькими своими естественными видами активности в структурных, регуляторных, биохимических или биофизических явлениях. Например, функциональное антитело или другая связывающая молекула, например ТСА, может характеризоваться способностью специфически связывать антиген, и связывание в свою очередь может приводить к индукции или изменению клеточного или молекулярного явления, такого как передача сигнала или ферментативная активность. Функциональное антитело или другая связывающая молекула, например ТСА, может также блокировать активацию рецептора лигандом или действовать как агонист или антагонист. Способность антитела или другой связывающей молекулы, например, ТСА, характеризоваться одной или несколькими своими естественными видами активности зависит от нескольких факторов, в том числе правильной укладки и сборки полипептидных цепей.

[394] Термин "антитело" используется в данном документе в самом широком смысле и, в частности, охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мономеры, димеры, мультимеры, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), антитела, содержащие только тяжелые цепи, трехцепочечные антитела, ТСА, одноцепочечные Fv (scFv), наноантитела и т. п., а также предусматривают фрагменты антител, если они характеризуются требуемой биологической активностью. Miller et al (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861. Антитела могут быть мышьиными, человеческими, гуманизированными, химерными или полученными из других видов.

[395] Например, термин "антитело" может относиться к полноразмерной тяжелой цепи, полноразмерной легкой цепи, интактной молекуле иммуноглобулина или иммунологически активной части любого из таких полипептидов, т. е. полипептиду, который содержит антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывает антиген мишени, представляющей интерес, или ее части; такие мишени включают без ограничения раковую клетку или клетки, которые продуцируют аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Иммуноглобулин, раскрытый в данном документе, может относиться к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу молекулы иммуноглобулина, в том числе сконструированным подклассам с измененными Fc-частями, которые характеризуются уменьшенной или усиленной активностью эффекторных клеток. Легкие цепи рассматриваемых антител могут представлять собой легкие цепи каппа (V-каппа-цепи) или легкие цепи лямбда (V-лямбда-цепи). Иммуноглобулины могут быть получены из любых видов. В одном аспекте иммуноглобулин преимущественно характеризуется человеческим происхождением.

[396] Термин "моноклональное антитело", применяемый в данном документе, относится к антителу, полученному из популяции по сути гомогенных антител, т. е. отдельных антител, составляющих популяцию, идентичных, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела характеризуются высокой специфичностью и направлены против единственного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от обычных (поликлональных) препаратов на основе антител, которые, как правило, включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против единственной детерминанты антигена. Моноклональные антитела в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены посредством метода гибридом, впервые описанного Kohler et al. (1975) *Nature* 256:495, и также могут быть получены, например, посредством способов получения рекомбинантного белка (см., например, патент США № 4816567).

[397] Термин "вариабельный", применяемый в связи с антителами, относится к тому факту, что определенные части вариабельных доменов антител значительно различаются по последовательности среди антител и используются для связывания и проявления специфичности каждого конкретного антитела в отношении его конкретного

антигена. Однако вариабельность неравномерно распределена по вариабельным доменам антител. Она сконцентрирована в трех сегментах, называемых гипервариабельными областями, в вариабельных доменах как легкой цепи, так и тяжелой цепи. Более высококонсервативные части вариабельных доменов называются каркасными областями (FR). Каждый из вариабельных доменов нативной тяжелой и легкой цепей содержит четыре FR, в значительной степени принимающих конфигурацию β -листа, соединенных тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли, соединяющие структуру β -листа и в некоторых случаях образующие ее часть. Гипервариабельные области в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости друг от друга посредством FR и вместе с гипервариабельными областями из другой цепи способствуют образованию антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Константные домены не участвуют непосредственно в связывании антитела с антигеном, но выполняют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC).

[398] Термин "гипервариабельная область", применяемый в данном документе, относится к аминокислотным остаткам антитела, которые отвечают за связывание антигена. Гипервариабельная область обычно содержит аминокислотные остатки из "определяющей комплементарности области" или "CDR" (например, остатки 31-35 (H1), 50-65 (H2) и 95-102 (H3) в вариабельном домене тяжелой цепи; Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) и/или такие остатки из остатков 26-32 (H1), 53-55 (H2) и 96-101 (H3) "гипервариабельной петли" в вариабельном домене тяжелой цепи; Chothia and Lesk J. *Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). В некоторых вариантах осуществления "CDR" означает определяющую комплементарность область антитела, как определено в Lefranc, MP et al., *IMGT, the International ImMunoGeneTics database, Nucleic Acids Res.*, 27:209-212 (1999). Остатки "каркасной области" или "FR" представляют собой остатки вариабельного домена, отличные от остатков гипервариабельной области/CDR, определенных в данном документе.

[399] Иллюстративные обозначения CDR показаны в данном документе, однако специалисту в данной области техники будет понятно, что обычно используется ряд определений CDR, в том числе определение согласно Kabat (см. Zhao et al. "A germline knowledge based computational approach for determining antibody complementarity determining regions." *Mol Immunol.* 2010;47:694-700), которое основано на вариабельности последовательностей и является наиболее широко применяемым. Определение согласно Chothia основано на положении областей структурных петель (Chothia et al. "Conformations of immunoglobulin hypervariable regions." *Nature.* 1989; 342:877-883). Альтернативные определения CDR, представляющие интерес, включают без ограничения определения, раскрытые в Honegger, "Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool." *J Mol Biol.* 2001;309:657-670;

Ofran et al. "Automated identification of complementarity determining regions (CDRs) reveals peculiar characteristics of CDRs and B-cell epitopes." *J Immunol.* 2008;181:6230-6235; Almagro "Identification of differences in the specificity-determining residues of antibodies that recognize antigens of different size: implications for the rational design of antibody repertoires." *J Mol Recognit.* 2004;17:132-143 и Padlan et al. "Identification of specificity-determining residues in antibodies." *Faseb J.* 1995;9:133-139., каждый из которых конкретно включена в данный документ посредством ссылки.

[400] Термины "антитело, содержащее только тяжелые цепи" и "антитело на основе тяжелых цепей" применяются в данном документе взаимозаменяемо и относятся в самом широком смысле к антителам или к одному или нескольким частям антитела, например, одному или нескольким плечам антитела, отсутствию легкой цепи традиционного антитела (т. е. "антитело на основе тяжелых цепей" может состоять из выделенной части антитела или формата антитела, отличных от традиционного антитела, в котором отсутствует легкая цепь). Термины конкретно включают без ограничения гомодимерные антитела, содержащие антигенсвязывающий домен VH и константные домены CH2 и CH3 в отсутствие домена CH1; функциональные (антигенсвязывающие) варианты таких антител, растворимые варианты VH, Ig-NAR, содержащие гомодимер одного переменного домена (V-NAR) и пяти C-подобных константных доменов (C-NAR) и их функциональные фрагменты, и растворимые однодоменные антитела (например, UniDabs™). В одном варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена переменной области, состоящего из каркасной области 1, CDR1, каркасной области 2, CDR2, каркасной области 3, CDR3, и каркасной области 4. В другом варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и доменов CH2 и CH3. В другом варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена CH2. В дополнительном варианте осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена CH3. В данном документе также предусмотрены антитела, содержащие только тяжелые цепи, в которых домен CH2 и/или CH3 является усеченным. В дополнительном варианте осуществления тяжелая цепь состоит из антигенсвязывающего домена и по меньшей мере одного домена CH (CH1, CH2, CH3 или CH4), но не содержит шарнирную область. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, может находиться в форме димера, в котором две тяжелые цепи связаны дисульфидной связью или иным образом, ковалентно или нековалентно присоединены друг к другу. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, может принадлежать к подклассу IgG, но в данном документе также предусмотрены антитела, принадлежащие к другим подклассам, таким как подклассы IgM, IgA, IgD и IgE. В конкретном варианте осуществления антитело на основе тяжелых цепей может принадлежать к подтипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, например, подтипу IgG1 или IgG4. В одном варианте осуществления

антитело на основе тяжелых цепей, относится к подтипу IgG1 или IgG4, где один или несколько доменов СН модифицированы с изменением эффекторной функции антитела. В одном варианте осуществления антитело, содержащее тяжелые цепи, относится к подтипу IgG4, где один или несколько доменов СН модифицированы с изменением эффекторной функции антитела. В другом варианте осуществления антитело, содержащее тяжелые цепи, относится к подтипу IgG1, где один или несколько доменов СН модифицированы с изменением эффекторной функции антитела. В данном документе дополнительно описаны модификации доменов СН, которые обеспечивают изменение эффекторной функции. Неограничивающие примеры антител, содержащих тяжелые цепи, описаны, например, в WO 2018/039180, раскрытие которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[401] В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе антитела, содержащие только тяжелые цепи, применяют в качестве связывающего (нацеливающего) домена химерного антигенного рецептора (CAR). Определение конкретно включает человеческие антитела, содержащие только тяжелые цепи, продуцируемые крысами, трансгенными по иммуноглобулину человека (например, UniRatTM), такие как, например, UniAbsTM. Вариабельные области (VH) UniAbsTM называются UniDabsTM и представляют собой универсальные строительные блоки, которые можно связать с Fc-областями или сывороточным альбумином для разработки новых терапевтических средств с мультиспецифичностью, повышенной эффективностью и продленным периодом полувыведения. Поскольку в гомодимерных UniAbTM отсутствует легкая цепь и, следовательно, домен VL, антиген распознается одним единственным доменом, т. е. вариабельным доменом тяжелой цепи антитела, содержащего тяжелые цепи (VH или VHH).

[402] "Интактная цепь антитела", применяемая в данном документе, представляет собой цепь, содержащую полноразмерную вариабельную область и полноразмерную константную область (Fc). Интактное "традиционное" антитело содержит интактную легкую цепь и интактную тяжелую цепь, а также константный домен легкой цепи (CL) и константные домены тяжелой цепи: CH1, шарнир, CH2 и CH3 для секретируемого IgG. Другие изотипы, такие как IgM или IgA, могут содержать другие домены СН. Константные домены могут представлять собой константные домены нативной последовательности (например, константные домены человеческой нативной последовательности) или варианты их аминокислотной последовательности. Интактное антитело может характеризоваться одной или несколькими "эффекторными функциями", которые относятся к тем биологическим активностям, которые приписываются константной Fc-области (Fc-области нативной последовательности или Fc-области варианта аминокислотной последовательности) антитела. Примеры эффекторных функций антител предусматривают связывание C1q; комплементзависимую цитотоксичность; связывание Fc-рецептора; антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз и снижение экспрессии

рецепторов клеточной поверхности. Варианты константной области предусматривают те, которые обеспечивают изменение эффекторного профиля, связывания с Fc-рецепторами и т. п.

[403] В зависимости от аминокислотной последовательности Fc (константного домена) их тяжелые цепи антитела и различные антигенсвязывающие белки могут быть представлены в виде разных классов. Существует пять основных классов Fc-областей тяжелой цепи: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM и некоторые из них могут быть дополнительно разделены на "подклассы" (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Константные Fc-домены, которые соответствуют разным классам антител, могут обозначаться как α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации разных классов иммуноглобулинов являются хорошо известными. Формы Ig предусматривают шарнирные модификации или бесшарнирные формы. Roux et al (1998) *J. Immunol.* 161:4083-4090; Lund et al (2000) *Eur. J. Biochem.* 267:7246-7256; US 2005/0048572; US 2004/0229310. Легкие цепи антител любых видов позвоночных могут быть отнесены к одному из двух типов, называемых κ (каппа) и λ (лямбда), на основании аминокислотных последовательностей их константных доменов. Антитела в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения могут содержать последовательности легкой каппа-цепи или последовательности легкой лямбда-цепи.

[404] "Функциональная Fc-область" обладает "эффекторной функцией" Fc-области нативной последовательности. Неограничивающие примеры эффекторных функций предусматривают связывание C1q; CDC; связывание Fc-рецептора; ADCC; ADCP; снижение экспрессии рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора) и т. п. Такие эффекторные функции обычно требуют, чтобы Fc-область взаимодействовала с рецептором, например, рецепторами Fc γ RI; Fc γ RIIA; Fc γ RIIB1; Fc γ RIIB2; Fc γ RIIA; Fc γ RIIB и низкоаффинным рецептором FcRn; и могут быть оценены с применением различных анализов, известных из уровня техники. "Мертвая" или "подвергнутая сайленсингу" Fc-область представляет собой такую область, которая была мутирована с сохранением активности в отношении, например, продления периода полужизни в сыворотке крови, но которая не активирует высокоаффинный Fc-рецептор, или которая характеризуется уменьшенной аффинностью к Fc-рецептору.

[405] "Fc-область нативной последовательности" содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности Fc-области, обнаруженной в природе. Человеческие Fc-области нативной последовательности предусматривают, например, Fc-область человеческого IgG1 нативной последовательности (отличные от A и аллотипы A); Fc-область человеческого IgG2 нативной последовательности; Fc-область человеческого IgG3 нативной последовательности и Fc-область человеческого IgG4 нативной последовательности, а также их встречающиеся в природе варианты.

[406] "Вариантная Fc-область" содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от такой последовательности в Fc-области нативной

последовательности на по меньшей мере одну аминокислотную модификацию, например, одну или несколько (например, две или более, три или более, четыре или более) аминокислотных замен. В качестве иллюстрации, в некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется по меньшей мере одной аминокислотной заменой по сравнению с Fc-областью нативной последовательности или Fc-областью исходного полипептида, например, от приблизительно одной до приблизительно десяти аминокислотных замен, например, от приблизительно одной до приблизительно пяти аминокислотных замен в Fc-области нативной последовательности или в Fc-области исходного полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область по данному документу будет обладать по меньшей мере приблизительно 80% гомологией с Fc-областью нативной последовательности и/или с Fc-областью исходного полипептида, например, по меньшей мере приблизительно 85% гомологией с ними, например, по меньшей мере приблизительно 90% гомологией с ними, например, по меньшей мере приблизительно 95% гомологией с ними, например, по меньшей мере приблизительно 99% гомологией с ними.

[407] Как используется в данном документе, "гетеродимеризующие изменения" относятся к изменениям в А- и В-цепях Fc-области (т. е. в двух цепях, составляющих Fc-область, где одна цепь обозначается в данном документе как "А"-цепь, а другая обозначается в данном документе как "В"-цепь), которые способствуют образованию гетеродимерных Fc-областей, т. е. Fc-областей, в которых А-цепь и В-цепь Fc-области не характеризуются наличием идентичных аминокислотных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления гетеродимеризующие изменения могут быть асимметричными, т. е. А-цепь, характеризующаяся определенным изменением, может спариваться с В-цепью, характеризующейся другим изменением. Такие изменения способствуют гетеродимеризации и препятствуют гомодимеризации. Оценку того, образовались ли гетеро- или гомодимеры, можно проводить, например, по различиям в размерах, определяемым посредством электрофореза в полиакриламидном геле в тех ситуациях, когда одна полипептидная цепь представляет собой нефункциональную Fc, а другая представляет собой scFv-Fc. Одним из неограничивающих примеров таких парных обеспечивающих гетеродимеризацию изменений являются так называемые замены "выступы и впадины". См., например, патент США № 7695936 и публикацию заявки на патент США № 2003/0078385. Как используется в данном документе, Fc-область, которая содержит одну пару замен "выступы" и "впадины", содержит одну замену в А-цепи, а другую - в В-цепи. Например, было обнаружено, что следующие замены "выступы" и "впадины" в А- и В-цепях Fc-области IgG1 увеличивают образование гетеродимеров по сравнению с таковым, обнаруживаемым в случае немодифицированных А- и В-цепей, и могут быть использованы в неограничивающих вариантах осуществления настоящего изобретения: 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и

T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой и 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом. В качестве альтернативы или дополнения к таким изменениям образованию гетеродимера могут способствовать замены, обеспечивающие создание новых дисульфидных мостиков. См., например, публикацию заявки на патент США № 2003/0078385. Такие изменения в Fc-области IgG1 включают без ограничения следующие замены: Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой. В качестве альтернативы или дополнения, замены, изменяющие заряд одного или нескольких остатков, например, на поверхности границы взаимодействия CH3-CH3, могут усиливать образование гетеродимеров, как описано, например, в WO 2009/089004, которая включена в данный документ посредством ссылки. Такие замены в данном документе называются "заменами заряженных пар", а Fc-область, содержащая одну пару замен заряженных пар, содержит одну замену в А-цепи и другую замену в В-цепи. Неограничивающие примеры замен заряженных пар включают следующие: 1) K409D или K409E в одной цепи плюс D399K или D399R в другой; 2) K392D или K392E в одной цепи плюс D399K или D399R в другой; 3) K439D или K439E в одной цепи плюс E356K или E356R в другой и 4) K370D или K370E в одной цепи плюс E357K или E357R в другой. Кроме того, замены R355D, R355E, K360D или K360R в обеих цепях могут стабилизировать гетеродимеры при использовании с другими обеспечивающими гетеродимеризацию изменениями. Специфические замены заряженных пар могут использоваться либо самостоятельно, либо вместе с другими заменами заряженных пар. Конкретные примеры одиночных пар замен заряженных пар и их комбинаций включают следующие: 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой и 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой. Любое из этих гетеродимеризующих изменений может быть использовано в полипептидах, содержащих варианты Fc-области, как описано в данном документе.

[408] В некоторых неограничивающих вариантах осуществления варианты

последовательностей Fc могут включать три аминокислотные замены в области CH2 для уменьшения связывания FcγRI в положениях 234, 235 и 237 согласно EU-индексу (см. Duncan et al., (1988) Nature 332:563). Две аминокислотные замены в сайте связывания комплемента C1q в положениях 330 и 331 согласно EU-индекса обеспечивают уменьшение фиксации комплемента (см. Tao et al., J. Exp. Med. 178:661 (1993) и Canfield and Morrison, J. Exp. Med. 173:1483 (1991)). Замена остатков человеческого IgG1 или IgG2 в положениях 233-236 и остатков IgG4 в положениях 327, 330 и 331 обеспечивает значительное уменьшение ADCC и CDC (см., например, Armor KL. et al., 1999 Eur J Immunol. 29(8):2613-24; и Shields R.L. et al., 2001. J Biol Chem. 276(9):6591-604). Аминокислотная последовательность Fc человеческого IgG4 (UniProtKB № P01861) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 76. Подвергнутый сайленсингу IgG1 описан, например, в Boesch, A.W., et al., "Highly parallel characterization of IgG Fc binding interactions." MAbs, 2014. 6(4): p. 915-27, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[409] Возможны и другие варианты Fc, в том числе без ограничения вариант, в котором подвергнута делеции область, способная образовывать дисульфидную связь, или в котором удалены определенные аминокислотные остатки на N-конце нативного Fc, или к нему добавлен остаток метионина. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления одна или несколько Fc-частей антитела могут характеризоваться одной или несколькими мутациями в шарнирной области с устранением дисульфидной связи. В еще одном варианте осуществления шарнирная область Fc может быть полностью удалена. В еще одном варианте осуществления антитело может содержать вариант Fc.

[410] Кроме того, можно сконструировать вариант Fc для удаления или значительного снижения эффекторных функций посредством замены (мутирования), делеции или добавления аминокислотных остатков для воздействия на связывание комплемента или связывание Fc-рецептора. Например и без ограничения, делеция может происходить в сайте связывания комплемента, таком как сайт связывания C1q. Методики получения таких производных последовательностей Fc-фрагмента иммуноглобулина раскрыты в международных публикациях заявки на патент №№ WO 97/34631 и WO 96/32478. Кроме того, Fc-домен может быть модифицирован посредством фосфорилирования, сульфатирования, ацилирования, гликозилирования, метилирования, фарнезилирования, ацетилирования, амидирования и т. п.

[411] Антитела с пониженной эффекторной функцией включают без ограничения антитела с заменой в Fc-области одного или нескольких остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 в соответствии с системой нумерации согласно EU (см., например, патент США № 6737056). В некоторых вариантах осуществления вариантные Fc-области с пониженной эффекторной функцией содержат замены в двух или более аминокислотных положениях 265, 269, 270, 297 и 327 в соответствии с системой нумерации согласно EU, включая так называемый мутант Fc "DANA" с заменой остатков 265 и 297 на аланин в соответствии с системой нумерации согласно EU (т. е. D265A и N297A в соответствии с системой

нумерации согласно EU) (см., например, патент США № 7332581). В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область с пониженной эффекторной функцией содержит следующие две аминокислотные замены: D265A и N297A.

[412] В некоторых вариантах осуществления эффекторная функция снижается за счет мутации в константной области, которая устраняет гликозилирование, например, "мутация, ослабляющая эффекторную функцию". В некоторых вариантах осуществления мутация, ослабляющая эффекторную функцию, представляет собой мутацию N297A или DANA (D265A+N297A) в области CH2. Shields et al., *J. Biol. Chem.* 276 (9): 6591-6604 (2001). В некоторых вариантах осуществления мутация, ослабляющая эффекторную функцию, представляет собой мутацию N297G или DANG (D265A+N297G) в области CH2. В некоторых вариантах осуществления в вариантной Fc-области отсутствует гликозилирование по N297, например, вариантная Fc-область представляет собой вариантную Fc-область, в которой отсутствует гликозилирование по N297, как описано в международной патентной публикации № WO 2014/153063, которая включена в данный документ посредством ссылки. В качестве альтернативы, дополнительные мутации, приводящие к снижению или устранению эффекторной функции, включают K322A и L234A/L235A (LALA). В качестве альтернативы, эффекторную функцию можно уменьшить или устранить посредством методик продуцирования, таких как экспрессия в клетках-хозяевах, в которых не происходит гликозилирование (например, *E. coli*), или в клетках-хозяевах, которые в результате обеспечивают получение измененного профиля гликозилирования, который является неэффективным или менее эффективным в отношении способствования эффекторной функции (например, Shinkawa et al., *J. Biol. Chem.* 278(5): 3466-3473 (2003)).

[413] В некоторых вариантах осуществления пролин в положении 329 (система нумерации согласно EU) (P329) человеческой Fc-области дикого типа заменен на глицин, или аргинин, или аминокислотный остаток, имеющий достаточно большой размер для разрушения пролинового сэндвича на поверхности границы взаимодействия Fc/Fc γ -рецептора, который образуется между P329 в Fc и триптофановыми остатками W87 и W110 в Fc γ RIII (Sondermann et al., *Nature* 406, 267-273 (20 Jul. 2000)). В некоторых других вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная аминокислотная замена в варианте Fc-области представляет собой S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D или P331S. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная аминокислотная замена представляет собой L234A и L235A Fc-области человеческого IgG1 или S228P и L235E Fc-области человеческого IgG4 в соответствии с системой нумерации согласно EU (см., например, патент США № 8969526, который включен посредством ссылки во всей своей полноте).

[414] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область характеризуется тем, что P329 Fc-области человеческого IgG заменен на глицин, при этом вариантная Fc-область содержит по меньшей мере две дополнительные аминокислотные замены L234A и L235A Fc-области человеческого IgG1 или S228P и L235E Fc-области

человеческого IgG4, и при этом остатки нумеруются в соответствии с системой нумерации согласно EU (см., например, патент США № 8969526). В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область, содержащая замены P329G, L234A и L235A (система нумерации согласно EU) обладает пониженной аффинностью в отношении человеческих FcγRIIIA и FcγRIIA.

[415] В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит тройную мутацию: аминокислотную замену в положении P329, мутации L234A и L235A в соответствии с системой нумерации согласно EU (P329/LALA) (см., например, патент США № 8969526). В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит следующие аминокислотные замены: P329G, L234A и L235A в соответствии с системой нумерации согласно EU.

[416] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариант человеческой последовательности домена CH3 IgG4, характеризующийся мутацией T366W, которая необязательно может называться в данном документе последовательностью с "выступом" CH3 IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит вариант человеческой последовательности домена CH3 IgG4, характеризующийся мутацией T366S, мутацией L368A и мутацией Y407V, которая необязательно может называться в данном документе последовательностью с впадиной CH3 IgG4. Мутации CH3 IgG4, описанные в данном документе, можно использовать любым подходящим способом, чтобы поместить "выступ" на первой константной области тяжелой цепи первого мономера в димере антитела и "впадину" на второй константной области тяжелой цепи второго мономера в димере антитела, за счет чего облегчается соответствующее спаривание (гетеродимеризация) требуемой пары полипептидных субъединиц тяжелой цепи в антителе.

[417] В некоторых вариантах осуществления антитело содержит полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариант Fc-области человеческого IgG4, содержащий мутацию S228P, мутацию F234A, мутацию L235A и мутацию T366W ("выступ"). В некоторых вариантах осуществления антитело содержит полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариант Fc-области человеческого IgG4, содержащий мутацию S228P, мутацию F234A, мутацию L235A, мутацию T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V ("впадина").

[418] Термин "антитело, содержащее Fc-область" относится к антителу, которое содержит Fc-область. С-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации согласно EU) Fc-области может быть удален, например, во время очистки антитела или посредством рекомбинантной инженерии нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело. Соответственно, антитело, содержащее Fc-область в соответствии с настоящим изобретением, может предусматривать антитело с или без K447.

[419] Аспекты настоящего изобретения предусматривают антитела, содержащие переменную область, представленную только тяжелыми цепями, в моновалентной или бивалентной конфигурации. Применяемый в данном документе термин "моновалентная

конфигурация", используемый в отношении домена варибельной области, представленной только тяжелыми цепями, означает, что присутствует только один домен варибельной области, представленной только тяжелыми цепями, характеризующийся единственным сайтом связывания. В отличие от этого, термин "бивалентная конфигурация", применяемый в отношении домена варибельной области, представленной только тяжелыми цепями, означает, что присутствуют два домена варибельной области, представленной только тяжелыми цепями (каждый из которых характеризуется единственным сайтом связывания), и они соединены линкерной последовательностью. Неограничивающие примеры линкерных последовательностей обсуждаются далее в данном документе и включают без ограничения линкерные последовательности GS различной длины. Когда варибельная область, представленная только тяжелыми цепями, находится в бивалентной конфигурации, каждый из двух доменов варибельной области, представленной только тяжелыми цепями, может связываться с одним и тем же антигеном или с разными антигенами (например, с разными эпитопами на одном и том же белке; двух разных белках и т. д.). Однако, если конкретно не указано иное, варибельная область, представленная только тяжелыми цепями, обозначенная как находящаяся в "бивалентной конфигурации", подразумевается как содержащая два идентичных домена варибельной области, представленной только тяжелыми цепями, соединенных линкерной последовательностью, где каждый из двух идентичных доменов варибельной области, представленной только тяжелыми цепями, связывается с одним и тем же антигеном-мишенью.

[420] Аспекты настоящего изобретения включают антитела, имеющие мультиспецифические конфигурации, которые включают без ограничения биспецифические, триспецифические и т. п. конфигурации. Известно большое разнообразие способов и конфигураций белков и их применяют в биспецифических моноклональных антителах (BsMAB), триспецифических антителах и т. п.

[421] Были разработаны различные способы получения мультивалентных искусственных антител посредством рекомбинантного слияния варибельных доменов двух или более антител. В некоторых вариантах осуществления первый и второй антигенсвязывающие домены в полипептиде соединены полипептидным линкером. Один неограничивающий пример такого полипептидного линкера представляет собой линкер GS, содержащий аминокислотную последовательность из четырех остатков глицина, за которыми следует один остаток серина, и где последовательность повторяется n раз, где n представляет собой целое число в диапазоне от 1 до приблизительно 10 (SEQ ID NO: 68), такое как 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9. Неограничивающие примеры таких линкеров предусматривают GGGGS (SEQ ID NO: 49) ($n=1$) и GGGSGGGGS (SEQ ID NO: 50) ($n=2$). Также могут быть применены другие подходящие линкеры, которые описаны, например, в Chen et al., Adv Drug Deliv Rev. 2013 October 15; 65(10): 1357-69, раскрытие которого включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[422] Термин "трехпочечная антителоподобная молекула" или "ТСА"

применяется в данном документе для обозначения антителоподобных молекул, содержащих три полипептидные субъединицы, состоящих по сути из них или состоящих из них, две из которых содержат одну тяжелую и одну легкую цепь моноклонального антитела или функциональные антигенсвязывающие фрагменты таких цепей антител, содержащие антигенсвязывающую область и по меньшей мере один домен СН, состоят по сути из них или состоят из них. Эта пара тяжелая цепь/легкая цепь характеризуется специфичностью связывания с первым антигеном. Третья полипептидная субъединица содержит антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержащее Fc-часть, содержащую домены СН2 и/или СН3, и/или СН4 в отсутствие домена СН1, и один или несколько антигенсвязывающих доменов (например, два антигенсвязывающих домена), который связывает эпитоп второго антигена или другой эпитоп первого антигена, состоит по сути из них или состоит из них, где такой связывающий домен получен из вариабельной области тяжелой или легкой цепи антитела или характеризуется идентичностью последовательности с ней. Части такой вариабельной области могут кодироваться генными сегментами V_H и/или V_L , генными сегментами D и J_H или генными сегментами J_L . Вариабельная область может кодироваться реаранжированными генными сегментами V_HDJ_H , V_LDJ_H , V_HJ_L или V_LJ_L .

[423] В качестве соединения, связывающего ТСА, используется "антитело, содержащее только тяжелые цепи", или "антитело на основе тяжелых цепей", или "полипептид на основе тяжелых цепей", которые, как применяется в данном документе, означают одноцепочечное антитело, содержащее константные области тяжелой цепи СН2, и/или СН3, и/или СН4, но без домена СН1. В одном варианте осуществления антитело на основе тяжелых цепей состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и доменов СН2 и СН3. В другом варианте осуществления антитело на основе тяжелых цепей состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена СН2. В дополнительном варианте осуществления антитело на основе тяжелых цепей состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена СН3. В данном документе также предусмотрены антитела на основе тяжелых цепей, в которых домен СН2 и/или СН3 является усеченным. В дополнительном варианте осуществления тяжелая цепь состоит из антигенсвязывающего домена и по меньшей мере одного домена СН (СН1, СН2, СН3 или СН4), но не содержит шарнирной области. Антитело, содержащее только тяжелые цепи, может быть в форме димера, в котором две тяжелые цепи связаны дисульфидной связью или иным образом ковалентно или нековалентно присоединены друг к другу, и может необязательно характеризоваться асимметричной поверхностью границы взаимодействия (например, поверхностью границы взаимодействия "выступы-во-впадины" (КiH)) между одним или несколькими доменами СН для облегчения правильного спаривания между полипептидными цепями. Антитело, содержащее тяжелые цепи, может принадлежать к подклассу IgG, но в данном документе также предусмотрены антитела, принадлежащие к другим подклассам, таким как подклассы IgM, IgA, IgD и IgE. В конкретном варианте

осуществления антитело на основе тяжелых цепей относится к подтипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, в частности, к подтипу IgG1 или подтипу IgG4. Неограничивающие примеры соединения, связывающего ТСА, описаны, например, в WO 2017/223111 и WO 2018/052503, описание которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[424] Аспекты настоящего изобретения включают антитела, которые содержат переменную область, представленную только тяжелыми цепями, которая спарена с переменной областью легкой цепи (VL). В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи, которая спарена с переменной областью, представленной только тяжелыми цепями, называется переменной областью "фиксированной легкой цепи". В определенных вариантах осуществления антитело содержит две переменные области, представленные только тяжелыми цепями, каждая из которых спарена с переменной областью фиксированной легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления последовательность переменной области фиксированной легкой цепи соединена с последовательностью константной области легкой цепи с образованием полноразмерного полипептида легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит два полипептида полноразмерной тяжелой цепи и два полипептида полноразмерной легкой цепи. В определенных вариантах осуществления полипептиды полноразмерной тяжелой цепи содержат разные последовательности, а полипептиды полноразмерной легкой цепи содержат одну и ту же последовательность (например, два полипептида полноразмерной легкой цепи являются идентичными).

[425] Антитела, содержащие тяжелые цепи, составляют приблизительно четверть антител IgG, продуцируемых верблюдовыми, например, верблюдами и ламами (Hamers-Casterman C., et al. *Nature*. 363, 446-448 (1993)). Данные антитела образованы двумя тяжелыми цепями, но не содержат легкие цепи. Как следствие, переменная антигенсвязывающая часть обозначается как домен VHH, и она представляет собой наименьший встречающийся в природе интактный антигенсвязывающий сайт длиной всего около 120 аминокислот (Desmyter, A., et al. *J. Biol. Chem.* 276, 26285-26290 (2001)). Антитела на основе тяжелых цепей с высокой специфичностью и аффинностью могут быть получены к различным антигенам посредством иммунизации (van der Linden, R.H., et al. *Biochim. Biophys. Acta.* 1431, 37-46 (1999)), и часть VHH можно легко клонировать и экспрессировать в дрожжах (Frenken, L. G. J., et al. *J. Biotechnol.* 78, 11-21 (2000)). Их уровни экспрессии, растворимости и стабильности значительно выше, чем у классических фрагментов F(ab) или Fv (Ghahroudi, M.A. et al. *FEBS Lett.* 414, 521-526 (1997)). Также было показано, что у акул имеется единственный VH-подобный домен в их антителах, называемый VNAR. (Nuttall et al. *Eur. J. Biochem.* 270, 3543-3554 (2003); Nuttall et al. *Function and Bioinformatics* 55, 187-197 (2004); Dooley et al., *Molecular Immunology* 40, 25-33 (2003).)

[426] Термины "IL2" и "IL-2", используемые в данном документе как

взаимозаменяемые, относятся к интерлейкину-2, который представляет собой цитокиновую сигнальную белковую молекулу размером 15,5-16 кДа, которая регулирует активность некоторых иммунных клеток путем связывания с комплексами рецептора IL2, экспрессируемыми лимфоцитами. Термин "IL2" включает любой белок IL2 человека и отличных от человека видов животных и, в частности, включает человеческий IL2, а также IL2 отличных от человека млекопитающих. Последовательность человеческого IL-2 (UniProtKB № P60568) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 41. Применяемый в данном документе термин "человеческий IL2" предусматривает любые варианты, изоформы и видовые гомологи человеческого IL2, независимо от его источника или способа получения. Таким образом, "человеческий IL2" включает человеческий IL2, естественно экспрессируемый клетками, и IL2, экспрессируемый на клетках, трансфицированных с помощью человеческого гена IL2.

[427] Термины "IL2R", "IL-2R", "рецептор IL2" и "рецептор IL-2", используемые в данном документе как взаимозаменяемые, относятся в целом к комплексу рецептора IL2, который состоит из трех полипептидных субъединиц или цепей, обозначаемых как альфа-, А- или α -цепь, бета-, В- или β -цепь и гамма-, G- или γ -цепь. Термин "IL2R" включает любой белок IL2R или любую субъединицу комплекса рецептора IL2 от любых человека и отличных от человека видов животных и, в частности, включает человеческий IL2R, а также IL2R отличных от человека млекопитающих. Применяемый в данном документе термин "человеческий IL2R" предусматривает любые варианты, изоформы и видовые гомологи человеческого IL2R, независимо от его источника или способа получения. Таким образом, "человеческий IL2R" включает человеческий IL2R, естественно экспрессируемый клетками, и IL2R, экспрессируемый на клетках, трансфицированных с помощью человеческого гена IL2R.

[428] Термин "IL2RA" также обозначается как CD25, а последовательность человеческого IL2RA (UniProtKB № P01589) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 38.

[429] Термины "IL2RB", "IL-2RB" также обозначаются как CD122, а последовательность человеческого IL2RB (UniProtKB № P14784) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 39.

[430] Термины "IL2RG", "IL-2RG" также обозначаются как CD132, а последовательность человеческого IL2RG (UniProtKB № P31785) представлена в данном документе под SEQ ID NO: 40.

[431] Термины "антитело к IL2R, содержащее только тяжелые цепи", "антитело к IL2R только с тяжелыми цепями", "антитело к IL2R с тяжелыми цепями" и "антитело к IL2R на основе тяжелых цепей" применяются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения антитела, содержащего только тяжелые цепи, как определено выше, иммуноспецифически связывающегося с IL2R, в том числе с человеческим IL2R, как определено выше. Определение включает без ограничения человеческие антитела на основе тяжелых цепей, продуцируемые трансгенными животными, такими как

трансгенные крысы или трансгенные мыши, экспрессирующие иммуноглобулин человека, в том числе UniRatsTM, продуцирующие человеческие антитела к IL2R UniAbTM, как определено выше в данном документе.

[432] Используемый в данном документе термин "агонист" относится к молекуле, которая вызывает усиление функции или активности по сравнению с той же функцией или активностью в отсутствие молекулы. Таким образом, "агонист" сигнального пути представляет собой молекулу, присутствие которой вызывает усиление функции или активности сигнального пути. Термин "агонизировать", как используется в данном документе, означает обеспечение усиления функции или активности. В некоторых вариантах осуществления агонистическая функция антитела может быть определена с использованием описанного в данном документе анализа.

[433] Используемый в данном документе термин "антагонист" относится к молекуле, которая вызывает снижение функции или активности по сравнению с той же функцией или активностью в отсутствие молекулы. Таким образом, "антагонист" сигнального пути представляет собой молекулу, присутствие которой вызывает снижение функции или активности сигнального пути. Термин "антагонизировать" в данном документе означает обеспечение снижения функции или активности.

[434] "Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности" в отношении последовательности референтного полипептида определяется в виде процентного значения аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в последовательности контрольного полипептида, после выравнивания последовательностей и введения гэпов при необходимости для достижения максимального процента идентичности последовательности и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательности. Выравнивание для целей определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, которые находятся в пределах компетенции специалиста в данной области техники, например, с применением общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить подходящие параметры для выравнивания последовательностей, в том числе любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине последовательностей, подлежащих сравнению. Однако для целей настоящего изобретения значения % идентичности аминокислотной последовательности генерируют с применением компьютерной программы для сравнения последовательностей ALIGN-2.

[435] "Выделенное" антитело представляет собой антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или извлечено из компонента своего естественного окружения. Загрязняющими компонентами природной среды антитела являются материалы, которые будут мешать диагностическим или терапевтическим вариантам применения антитела и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или

небелковые растворенные вещества. В некоторых вариантах осуществления антитело будет очищено (1) до более чем 95% по весу антитела согласно методу Лоури, например, до более чем 99% по весу, (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с помощью секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности согласно SDS-PAGE в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с применением кумасси синего или, например, красителя на основе серебра. Выделенное антитело предусматривает антитело *in situ* в рекомбинантных клетках, поскольку по меньшей мере один компонент природного окружения антитела не будет присутствовать. Однако, обычно выделенное антитело будет получено посредством по меньшей мере одной стадии очистки.

[436] Антитела по настоящему изобретению предусматривают мультиспецифические антитела. Мультиспецифические антитела характеризуются более одной специфичностью связывания. Термин "мультиспецифический" конкретно включает "биспецифический" и "триспецифический", а также аффинности независимого специфического связывания более высокого порядка, такие как полиэпитопная специфичность более высокого порядка, а также четырехвалентные антитела и фрагменты антител. Термины "мультиспецифическое антитело", "мультиспецифическое антитело, содержащее только тяжелые цепи", "мультиспецифическое антитело на основе тяжелых цепей" и "мультиспецифическое UniAbTM" применяются в данном документе в наиболее широком смысле, и они охватывают все антитела с более чем одной специфичностью связывания. Мультиспецифические антитела на основе тяжелых цепей к IL2R по настоящему изобретению, в частности, включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с двумя или более неперекрывающимися эпитопами на белке IL2R, как например человеческие белки IL2RA, IL2RB и/или IL2RG. Мультиспецифические антитела на основе тяжелых цепей к IL2R по настоящему изобретению также, в частности, включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с эпитопом на белке IL2R, таком как человеческий IL2RB, и с эпитопом на другом белке, таком как, например, белок IL2RG, такой как человеческий IL2RG.

[437] Антитела по настоящему изобретению предусматривают моноспецифические антитела, характеризующиеся одной специфичностью связывания. Моноспецифические антитела конкретно предусматривают антитела, предусматривающие единственную специфичность связывания, а также антитела, содержащие более одной связывающей единицы, характеризующейся одинаковой специфичностью связывания. Термины "моноспецифическое антитело", "моноспецифическое антитело, содержащее только тяжелые цепи", "моноспецифическое антитело на основе тяжелых цепей" и "моноспецифическое UniAbTM" применяются в данном документе в наиболее широком смысле и охватывают все антитела с одной специфичностью связывания. Моноспецифические антитела на основе тяжелых цепей к IL2R по настоящему изобретению, в частности, включают антитела, иммуноспецифически связывающиеся с одним эпитопом на белке IL2R, таком как человеческий белок IL2R или его субъединица

(например, человеческие белки IL2RA, IL2RB или IL2RG). Моноспецифические антитела на основе тяжелых цепей к IL2R по настоящему изобретению также, в частности, включают антитела, имеющие более чем одну связывающую единицу (например, мультивалентные антитела), иммуноспецифически связывающиеся с эпитопом на белке IL2R, таком как человеческий IL2R. Например, моноспецифическое антитело в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения может включать переменную область тяжелой цепи, содержащую два антигенсвязывающих домена, где каждый антигенсвязывающий домен связывается с одним и тем же эпитопом на белке IL2R (т. е. на белках IL2RA, IL2RB или IL2RG).

[438] "Эпитоп" представляет собой сайт на поверхности молекулы антигена, с которым связывается единственная молекула антитела. Обычно антиген имеет несколько или множество разных эпитопов и реагирует со многими различными антителами. Термин конкретно предусматривает линейные эпитопы и конформационные эпитопы.

[439] "Картирование эпитопов" представляет собой процесс идентификации сайтов связывания или эпитопов антител на их антигенах-мишенях. Эпитопы антител могут представлять собой линейные эпитопы или конформационные эпитопы. Линейные эпитопы образованы непрерывной последовательностью аминокислот в белке. Конформационные эпитопы образованы аминокислотами, которые являются прерывистыми в белковой последовательности, но которые объединяются при сворачивании белка в его трехмерную структуру.

[440] "Полиэпитопная специфичность" обозначает способность специфически связываться с двумя или более разными эпитопами на одной или разных мишенях. Как отмечалось выше, настоящее изобретение, в частности, предусматривает антитела на основе тяжелых цепей к IL2R с видами полиэпитопной специфичности, т. е. антитела на основе тяжелых цепей к IL2R, связывающиеся с одним или несколькими неперекрывающимися эпитопами на первом белке IL2R, таком как человеческий IL2RB; и антитела на основе тяжелых цепей к IL2R, связывающиеся с одним или несколькими эпитопами на первом белке IL2R (например, белке IL2RB) и с эпитопом на другом белке IL2R, таком как, например, белок IL2RG. Термин "неперекрывающийся(-щиеся) эпитоп(ы)" или "неконкурентный(-е) эпитоп(ы)" антигена определяется в данном документе как означающий(-е) эпитоп(ы), который(ые) распознается(ются) одним представителем пары антигенспецифических антител, но не другим представителем. Пары антител или антигенсвязывающие области, нацеливающиеся на один и тот же антиген на мультиспецифическом антителе, распознающие неперекрывающиеся эпитопы, не конкурируют за связывание с этим антигеном и способны связывать этот антиген одновременно.

[441] Антитело связывается "по сути с тем же эпитопом", что и референтное антитело, если два антитела распознают идентичные или стерически перекрывающиеся эпитопы. Наиболее широко применяемыми и быстрыми способами определения того, связываются ли два эпитопа с идентичными или стерически перекрывающимися

эпитопами, являются конкурентные анализы, которые могут быть сконфигурированы во множестве разных форматов с применением либо меченого антигена, либо меченого антитела. Обычно антиген иммобилизуют на 96-луночном планшете, и способность немеченых антител блокировать связывание меченых антител измеряют с применением радиоактивных или ферментных меток.

[442] Применяемый в данном документе термин "валентный" относится к конкретному количеству сайтов связывания в молекуле антитела.

[443] "Моновалентное" антитело имеет один сайт связывания. Таким образом, моновалентное антитело также является моноспецифическим.

[444] "Мультивалентное" антитело имеет два или более сайтов связывания. Таким образом, термины "бивалентный", "трехвалентный" и "четыревалентный" относятся к наличию двух сайтов связывания, трех сайтов связывания и четырех сайтов связывания соответственно. Таким образом, биспецифическое антитело в соответствии с настоящим изобретением является по меньшей мере бивалентным и может быть трехвалентным, четырехвалентным или иным образом мультивалентным. Бивалентное антитело в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения может иметь два сайта связывания с одним и тем же эпитопом (т. е. бивалентное, монопаратопное) или с двумя разными эпитопами (т. е. бивалентное, бипаратопное).

[445] Известно большое разнообразие способов и конфигураций белков, которые применяются для получения биспецифических моноклональных антител (BsMAB), триспецифических антител и т. п.

[446] Термин "человеческое антитело" применяется в данном документе для обозначения антител, содержащих переменные и константные области, полученные из человеческих последовательностей иммуноглобулина линии зародышевого типа. Человеческие антитела в данном документе могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими последовательностями иммуноглобулина линии зародышевого типа, например, мутации, введенные посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или соматической мутации *in vivo*. Термин "человеческое антитело" конкретно включает антитела, представленные только тяжелыми цепями, содержащие последовательности переменных областей тяжелых цепей человека, продуцируемые трансгенными животными, такими как трансгенные крысы или мыши, в частности, UniAbsTM, продуцируемые с помощью UniRatTM, как определено в данном документе выше.

[447] Под "химерным антителом" или "химерным иммуноглобулином" подразумевают молекулу иммуноглобулина, содержащую аминокислотные последовательности из по меньшей мере двух разных локусов Ig, например, трансгенное антитело, содержащее часть, кодируемую локусом человеческого Ig, и часть, кодируемую локусом крысиного Ig. Химерные антитела предусматривают трансгенные антитела с отличными от человеческих Fc-областями или искусственными Fc-областями и человеческие идиотипы. Такие иммуноглобулины могут быть выделены из животных по

настоящему изобретению, которые были сконструированы таким образом, чтобы продуцировать такие химерные антитела.

[448] Применяемый в данном документе термин "эффекторная клетка" относится к иммунной клетке, которая участвует в эффекторной фазе иммунного ответа, в отличие от фазы распознавания и фазы активации иммунного ответа. Некоторые эффекторные клетки экспрессируют специфические Fc-рецепторы и выполняют специфические иммунные функции. В некоторых вариантах осуществления эффекторная клетка, такая как естественная клетка-киллер, способна индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC). Например, моноциты и макрофаги, которые экспрессируют FcR, участвуют в специфическом цитолизе клеток-мишеней и презентировании антигенов другим компонентам иммунной системы или связывании с клетками, которые презентруют антигены. В некоторых вариантах осуществления эффекторная клетка может фагоцитировать антиген-мишень или клетку-мишень.

[449] "Человеческие эффекторные клетки" представляют собой лейкоциты, которые экспрессируют рецепторы, такие как Т-клеточные рецепторы или FcR, и выполняют эффекторные функции. Например, в некоторых вариантах осуществления клетки экспрессируют по меньшей мере FcγRIII и выполняют эффекторную функцию ADCC. Примеры человеческих лейкоцитов, которые опосредуют ADCC, включают естественные клетки-киллеры (NK), моноциты, цитотоксические Т-клетки и нейтрофилы. Эффекторные клетки могут быть выделены из их естественного источника, например, из крови или РВМС, как описано в данном документе.

[450] Термин "иммунная клетка" используется в данном документе в наиболее широком смысле, включая без ограничения клетки миелоидного или лимфоидного происхождения, например, лимфоциты (такие как В-клетки и Т-клетки, в том числе цитолитические Т-клетки (CTL)), клетки-киллеры, естественные клетки-киллеры (NK), макрофаги, моноциты, эозинофилы, полиморфноядерные клетки, такие как нейтрофилы, гранулоциты, тучные клетки и базофилы.

[451] "Эффекторные функции" антитела относятся к тем видам биологической активности, которые приписываются Fc-области (Fc-области нативной последовательности или варианта аминокислотной последовательности Fc-области) антитела. Примеры эффекторных функций антител включают связывание C1q; комплементзависимую цитотоксичность (CDC); связывание Fc-рецептора; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; снижение экспрессии рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора; BCR) и т. п.

[452] "Антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность" и "ADCC" относятся к клеточно-опосредованной реакции, при которой неспецифические цитотоксические клетки, экспрессирующие Fc-рецепторы (FcR) (например, естественные клетки-киллеры (NK), нейтрофилы и макрофаги), распознают связанное антитело на клетке-мишени и впоследствии вызывают лизис клетки-мишени. Первичные клетки для

опосредования ADCC, NK-клетки, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Экспрессия FcR на гемопоэтических клетках обобщена в таблице 3 на странице 464 Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991). Для оценки активности ADCC молекулы, представляющей интерес, может быть выполнен *in vitro* анализ ADCC, такой как описанный в патентах США №№ 5500362 или 5821337. Применимые эффекторные клетки для таких анализов включают моноклеарные клетки периферической крови (PBMC) и естественные клетки-киллеры (NK). В качестве альтернативы или в качестве дополнения активность ADCC молекулы, представляющей интерес, может быть оценена *in vivo*, например, в модели животного, такой как, которая раскрыта в Clynes et al. *PNAS (USA)* 95:652-656 (1998).

[453] "Комплементзависимая цитотоксичность" или "CDC" относится к способности молекулы лизировать мишень в присутствии комплемента. Путь активации комплемента инициируется связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с молекулой (например, антителом), образующей комплекс с когнатным антигеном. Для оценки активации комплемента может быть выполнен анализ CDC, например, как описано в Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996).

[454] "Аффинность связывания" относится к силе итоговой суммы нековалентных взаимодействий между единственным сайтом связывания молекулы (например, антитела) и ее партнером по связыванию (например, антигеном). Если не указано иное, применяемый в данном документе термин "аффинность связывания" относится к истинной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между представителями пары связывания (например, антителом и антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно может быть представлена константой диссоциации (Kd). Аффинность можно измерить обычными способами, известными из уровня техники. Низкоаффинные антитела обычно медленно связывают антиген и характеризуются тенденцией к легкой диссоциации, тогда как высокоаффинные антитела обычно быстрее связывают антиген и характеризуются тенденцией к поддержанию связанного состояния.

[455] Применяемый в данном документе "Kd" или "значение Kd" относится к константе диссоциации, определенной посредством биослойной интерферометрии BioLayer с применением прибора Octet QK384 (Fortebio Inc., Менло-Парк, Калифорния) в кинетическом режиме. Например, сенсоры на основе антитела к мышинной Fc нагружают слитым антигеном на основе мышинной Fc и затем погружают в лунки, содержащие антитела, для измерения скоростей ассоциации (kon), зависящих от концентрации. Скорости диссоциации антител (koff) измеряют на последней стадии, когда сенсоры погружают в лунки, содержащие только буфер. Kd представляет собой отношение koff/kon (для получения дополнительной подробной информации см. Consercion, J, et al., *Comb Chem High Throughput Screen*, 12(8), 791-800, 2009).

[456] Термины "лечение", "осуществление лечения" и т. п. применяются в данном документе для общего обозначения достижения требуемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Эффект может быть профилактическим с точки зрения

полного или частичного предупреждения заболевания или его симптома и/или может быть терапевтическим с точки зрения частичного или полного излечения заболевания и/или неблагоприятного эффекта, связанного с заболеванием. "Лечение", применяемое в данном документе, охватывает любое лечение заболевания у млекопитающего и включает: (а) предупреждение возникновения заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но еще у которого оно не диагностировано; (b) подавление заболевания, т. е. остановку его развития; или (с) облегчение заболевания, т. е. обеспечение регрессии заболевания. Терапевтическое средство можно вводить до, во время или после начала заболевания или повреждения. Особый интерес представляет лечение продолжающегося заболевания, когда лечение приводит к стабилизации или уменьшению нежелательных клинических симптомов у пациента. Такое лечение желательно проводить до полной потери функции у пораженных тканей. Рассматриваемое средство терапии можно вводить во время симптоматической стадии заболевания и в некоторых случаях после симптоматической стадии заболевания.

[457] "Терапевтически эффективное количество" означает количество активного средства, которое необходимо для обеспечения терапевтического эффекта у субъекта. Например, "терапевтически эффективное количество" представляет собой количество, которое приводит к индуцированию, облегчению или иному улучшению патологических симптомов, прогрессирования заболевания или физиологических состояний, ассоциированных с заболеванием, или которое улучшает устойчивость к нарушению.

[458] Термин "опосредованный активацией передачи сигнала IL2R в иммунных клетках" в широком смысле относится к любому заболеванию или нарушению, при которых сигнальный путь IL2/IL2R ассоциирован с одним или несколькими патологическими процессами, характерными для данного заболевания или нарушения, или вовлечен в них. Такие нарушения включают без ограничения инфекционные заболевания, аутоиммунные нарушения (например, болезнь Крона, рассеянный склероз), рак, воспалительные заболевания (например, артрит) или заболевания или нарушения, ассоциированные с дефицитом IL-2-опосредованной передачи сигнала, дефицитом пролиферации Т-клеток или дисфункцией Т-клеток.

[459] Термины "субъект", "индивидуум" и "пациент" применяются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения млекопитающего, подлежащего оценке в отношении лечения и/или подлежащего лечению. В одном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека. Термины "субъект", "индивидуум" и "пациент" охватывают без ограничения индивидуумов, у которых имеется рак, индивидуумов с аутоиммунными заболеваниями, с патогенными инфекциями и т. п. Субъекты могут представлять собой людей, но также могут предусматривать других млекопитающих, в частности, тех млекопитающих, которые могут быть применимы в качестве лабораторных моделей заболеваний человека, например, мыши, крысы и т. п.

[460] Термин "фармацевтический состав" относится к препарату, который представлен в такой форме, которая обеспечивает эффективную биологическую

активность активного ингредиента, и который не содержит дополнительных компонентов, неприемлемо токсичных для субъекта, которому будут вводить состав. Такой состав является стерильным. "Фармацевтически приемлемые" вспомогательные вещества (например, среды-носители, добавки) представляют собой вспомогательные вещества, которые целесообразно вводить субъекту-млекопитающему для обеспечения эффективной дозы используемого активного ингредиента.

[461] "Стерильный" состав является асептическим или не содержит или по сути не содержит каких-либо живых микроорганизмов и их спор. "Замороженный" состав представляет собой состав, находящийся при температуре ниже 0°C.

[462] "Стабильный" состав представляет собой состав, в котором содержащийся белок по сути сохраняет свою физическую стабильность, и/или химическую стабильность, и/или биологическую активность при хранении. В некоторых вариантах осуществления состав по сути сохраняет свою физическую и химическую стабильность, а также свою биологическую активность при хранении. Срок хранения обычно выбирают исходя из предполагаемого срока годности состава. В данной области техники доступны различные аналитические методики для измерения стабильности белка, и они описаны, например, в Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301. Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) and Jones. A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993). Стабильность можно измерить при выбранной температуре в течение выбранного периода времени. Стабильность можно оценить качественно и/или количественно с помощью множества разных способов, включая оценку образования агрегатов (например, с применением эксклюзионной хроматографии, посредством измерения мутности и/или посредством визуального осмотра); посредством оценки неоднородности заряда с применением катионообменной хроматографии, изображения капиллярного изоэлектрического фокусирования (icIEF) или капиллярного зонного электрофореза; анализа аминоконцевой или карбоксиконцевой последовательности; масс-спектрометрического анализа; анализа SDS-PAGE для сравнения восстановленного и интактного антитела; анализа пептидных карт (например, триптического или LYS-C); оценки биологической активности или антигенсвязывающей функции антитела и т. п. Нестабильность может предусматривать любой из следующих факторов: агрегация, дезамидирование (например, дезамидирование Asn), окисление (например, окисление Met), изомеризация (например, изомеризация Asp), отсечение/гидролиз/фрагментация (например, фрагментация шарнирной области), образование сукцинимиды, неспаренный(ые) цистеин(ы), удлинение N-конца, процессинг C-конца, различия в гликозилировании и т. п.

Антитела к IL2R

[463] В настоящем изобретении представлены различные семейства антител, которые связываются с человеческим IL2R. Аспекты настоящего изобретения включают близкородственные семейства антител, представители которых связываются с определенной субъединицей или цепью IL2R, например, которые связываются с IL2RB или IL2RG, или их комбинацией.

[464] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит последовательности CDR, характеризующиеся следующими формулами последовательностей. X обозначает переменную аминокислоту, которая в некоторых вариантах осуществления может представлять собой конкретную аминокислоту, приведенную ниже:

CDR1 (IL2RB_F09)

G G S I S S S X1 W (SEQ ID NO: 26),

где X1 представляет собой D или N;

CDR2 (IL2RB_F09)

I X2 H S G S T (SEQ ID NO: 27),

где X2 представляет собой D или S, и

CDR3 (IL2RB_F09)

X3 R G X4 W E L X5 D A F D I (SEQ ID NO: 28),

где:

X3 представляет собой G или A;

X4 представляет собой S или Q, и

X5 представляет собой S или T.

[465] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит любую комбинацию последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3, предусматривающих формулы последовательностей под SEQ ID NO: 26, 27 и 28 соответственно. Антитела из этого семейства могут обозначаться в данном документе как антитела IL2RB_F09.

[466] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит последовательности CDR, характеризующиеся следующими формулами последовательностей. X обозначает переменную аминокислоту, которая в некоторых вариантах осуществления может представлять собой конкретную аминокислоту, приведенную ниже:

CDR1 (IL2RB_F18)

G F T F S X1 Y G (SEQ ID NO: 29),

где X1 представляет собой S или T;

CDR2 (IL2RB_F18)

I S Y D G S N X2 (SEQ ID NO: 30),

где X2 представляет собой K или R, и

CDR3 (IL2RB_F18)

A R D L D Y D X3 L T G D P V G G F D I (SEQ ID NO: 31),

где X3 представляет собой V или I.

[467] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит любую комбинацию последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3, предусматривающих формулы последовательностей под SEQ ID NO: 29, 30 и 31 соответственно. Антитела из этого семейства могут обозначаться в данном документе как антитела IL2RB_F18.

[468] Антитела в соответствии с вариантами осуществления настоящего

изобретения, которые связываются с IL2RB, могут содержать набор последовательностей CDR, как определено в данном документе и проиллюстрировано представленными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, изложенными в таблице 1, и последовательностями варибельной области тяжелой цепи (VH), изложенными в таблице 2. Эти антитела обеспечивают ряд преимуществ, которые способствуют их применению в качестве терапевтического(их) средства(средств) с клинической точки зрения. Антитела предусматривают представителей с рядом значений аффинности связывания, что позволяет выбрать конкретную последовательность с требуемой аффинностью связывания.

Таблица 1. Уникальные аминокислотные последовательности CDR антитела на основе тяжелых цепей к IL2RB

№ ID клона	№ ID семейства	CDR1	CDR2	CDR3
387205	IL2RB_F09C	GGSISSSDW (SEQ ID NO: 1)	IDHSGST (SEQ ID NO: 4)	GRGSWELSDAFDI (SEQ ID NO: 7)
387172	IL2RB_F09G	GGSISSSDW (SEQ ID NO: 1)	IDHSGST (SEQ ID NO: 4)	ARGSWELTDAFDI (SEQ ID NO: 8)
387111	IL2RB_F09K	GGSISSSNW (SEQ ID NO: 2)	ISHSGST (SEQ ID NO: 5)	GRGSWELTDAFDI (SEQ ID NO: 9)
388252	IL2RB_F18E	GFTFSSYG (SEQ ID NO: 3)	ISYDGSNK (SEQ ID NO: 6)	ARLDYDVLTDGDPVGGF DI (SEQ ID NO: 10)

Таблица 2. Аминокислотные последовательности варибельной области антитела на основе тяжелых цепей к IL2RB

№ ID клона	№ ID семейства	Последовательность VH
387205	IL2RB_F09C	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGSISSSDWWSWVR QPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYPNPSLMSRVTISVDKSKNQF SLKLSSVTAADTAVYFCGRGSWELSDAFDIRGQGLVTV SS (SEQ ID NO: 11)
387172	IL2RB_F09G	QVQLQESGPGLVKSSETLSLTCTVSGSISSSDWWSWVR QPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYPNPSLMSRVTISVDKSKNQF SLKLSSVTAADTAVYFCARGSWELTDAFDIRGQGLVTV SS (SEQ ID NO: 12)
387111	IL2RB_F09K	QVQLQESSPGLVKPSETLSLTCTVSGSISSSNWWSWVR QPPGKGLEWIGEISHSGSTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFS

		LRLSSVTAADTAVYFCGRGSWELTDAFDIRGQGTLVTVS S (SEQ ID NO: 13)
388252	IL2RB_F18E	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKEREWVAVISYDGSNKYYTDSVKGRFTISRDN SKN TLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDLDYDVL TGDPVGGFDI WGQGT LVT VSS (SEQ ID NO: 14)

[469] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG содержит последовательности CDR, характеризующиеся следующими формулами последовательностей. X обозначает переменную аминокислоту, которая в некоторых вариантах осуществления может представлять собой конкретную аминокислоту, приведенную ниже:

CDR1 (IL2RG_F16)

G F X1 X2 X3 X4 Y Y (SEQ ID NO: 32),

где:

X1 представляет собой T или I;

X2 представляет собой F или V;

X3 представляет собой S, N или G, и

X4 представляет собой D или N;

CDR2 (IL2RG_F16)

I S X5 S G X6 X7 I (SEQ ID NO: 33),

где:

X5 представляет собой S или N;

X6 представляет собой D, S, G или N, и

X7 представляет собой T или I, и

CDR3 (IL2RG_F16)

ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20).

[470] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG содержит любую комбинацию последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3, предусматривающих формулы последовательностей под SEQ ID NO: 32, 33 и 34 соответственно. Антитела из этого семейства могут обозначаться в данном документе как антитела IL2RG_F16.

[471] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность CDR1, содержащую GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 (IL2RG_F18), содержащую ISSSGTTT (SEQ ID NO: 19), и последовательность CDR3 (IL2RG_F18), содержащую ARGAAVAPGFDS (SEQ ID NO: 21). Антитела из этого семейства могут обозначаться в данном документе как антитела IL2RG_F18.

[472] Антитела в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, которые связываются с IL2RG, содержат набор последовательностей CDR, как определено в данном документе и проиллюстрировано представленными

последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, изложенными в таблице 3, и последовательностями варибельной области тяжелой цепи (VH), изложенными в таблице 4. Это семейство антител обеспечивает ряд преимуществ, которые способствуют их применению в качестве терапевтического(их) средства(средств) с клинической точки зрения. Антитела предусматривают представителей с рядом значений аффинности связывания, что позволяет выбрать конкретную последовательность с требуемой аффинностью связывания.

Таблица 3. Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2, CDR3 антитела на основе тяжелых цепей к IL2RG

№ ID клона	№ ID семейства	CDR1	CDR2	CDR3
363256	IL2RG_F16A	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGDTI (SEQ ID NO: 17)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
363544	IL2RG_F16B	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGSTI (SEQ ID NO: 18)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
388582	IL2RG_F16C	GFTFNDYY (SEQ ID NO: 16)	ISSSGSTI (SEQ ID NO: 18)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
363435	IL2RG_F18A	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGTTT (SEQ ID NO: 19)	ARGAAVAPGFDS (SEQ ID NO: 21)

Таблица 4. Аминокислотные последовательности варибельной области антитела на основе тяжелых цепей к IL2RG

№ ID клона	№ ID семейства	Последовательность VH
363256	IL2RG_F16A	QVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CA} ASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSSISSSGDTIYYADSVQGRFTLSRDNAENSLF LQMNSLRAEDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 22)
363544	IL2RG_F16B	QVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CA} ASGFTFSDYYMSWIRQ APGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 23)
388582	IL2RG_F16C	QVQLVESGGGLV ^K PGGSLRLS ^{CA} ASGFTFNDYYMSWIRQ APGKGLEWVSHISSSGSTIYYADSVKGRFTVSRDNANNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 24)

363435	IL2RG_F18A	QVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWLRQ APGKELEWVSHISSSGTTTTYADSV EGRFTITRDNAKNSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARGAAVAPGFDSRGQGTLVTV SS (SEQ ID NO: 25)
--------	------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[473] Подходящее антитело может быть выбрано из антител, представленных в данном документе для разработки и терапевтического или другого применения, включая без ограничения применение в качестве мультиспецифического антитела, такого как биспецифическое антитело.

[474] Определение аффинности к кандидатному белку можно выполнять с применением способов, известных из уровня техники, таких как измерения с помощью *Viacore*. Представители семейств антител, описанных в данном документе, могут обладать аффинностью в отношении IL2R с K_d , составляющей от приблизительно 10^{-6} до около приблизительно 10^{-11} , включая без ограничения от приблизительно 10^{-6} до около приблизительно 10^{-10} ; от приблизительно 10^{-6} до около приблизительно 10^{-9} ; от приблизительно 10^{-6} до около приблизительно 10^{-8} ; от приблизительно 10^{-8} до около приблизительно 10^{-11} ; от приблизительно 10^{-8} до около приблизительно 10^{-10} ; от приблизительно 10^{-8} до около приблизительно 10^{-9} ; от приблизительно 10^{-9} до около приблизительно 10^{-11} ; от приблизительно 10^{-9} до около приблизительно 10^{-10} ; или любое значение в пределах этих диапазонов. Выбор аффинности может быть подтвержден посредством биологической оценки модуляции, например, агонизирования биологической активности IL2R, включая анализы *in vitro*, доклинические модели и клинические испытания, а также оценку потенциальной токсичности.

[475] Представители описанных в данном документе семейств антител перекрестно реагируют с белком IL2R макака *Cynomolgus*, что облегчает использование макака *Cynomolgus* в качестве животной модели для валидации, например, механизма действия, фармакокинетики, токсикологии и других характеристик описанных в данном документе антител.

[476] В некоторых вариантах осуществления специфичные к IL2R антитела в данном документе содержат домен VH, содержащий последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в каркасной области человеческой VH. Последовательности CDR могут быть расположены, например, в области аминокислотных остатков около 26-33; 51-58 и 97-116 для CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, иллюстративных последовательностей варибельной области, изложенных под SEQ ID NO: 11-14 и 22-25. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что последовательности CDR могут находиться в разных положениях, если выбрана другая последовательность каркасной области, хотя обычно порядок последовательностей остается одинаковым.

[477] В конкретном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность CDR1 под любым из SEQ ID NO: 1-3. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR1 предусматривает SEQ ID NO: 1. В конкретном

варианте осуществления последовательность CDR1 предусматривает SEQ ID NO: 2. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR1 предусматривает SEQ ID NO: 3.

[478] В конкретном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность CDR2 под любым из SEQ ID NO: 4-6. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 4. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 5. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 6.

[479] В конкретном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность CDR3 под любым из SEQ ID NO: 7-10. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR3 предусматривает SEQ ID NO: 7. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 8. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 9. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 10.

[480] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB, содержащее только тяжелые цепи, содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7.

[481] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8.

[482] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9.

[483] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10.

[484] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит любую из аминокислотных последовательностей вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 11-14 (таблица 2).

[485] В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 11. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 12. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 13. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 14.

[486] В некоторых вариантах осуществления последовательность CDR в антителе к IL2RB по настоящему изобретению содержит одну или две аминокислотные замены относительно последовательности CDR1, CDR2 и/или CDR3 или набора последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 в любой из последовательностей под SEQ ID NO: 1-10 (таблица 1).

[487] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), в котором последовательность CDR3 характеризуется более чем или равной 80%, например, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности на уровне аминокислот с последовательностью CDR3 любого из антител, чьи последовательности CDR3 представлены в таблице 1, и связывается с IL2RB.

[488] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), в котором полный набор CDR 1, 2 и 3 (в совокупности) имеет последовательность с более чем восьмидесятью пяти процентной (85%) (например, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$, $\geq 98\%$, $\geq 99\%$) идентичностью или равной ей на уровне аминокислот с CDR 1, 2 и 3 (в совокупности) антител, последовательности CDR которых представлены в таблице 1, и связывается с IL2RB.

[489] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80% идентичностью, по меньшей мере 85% идентичностью, по меньшей мере 90% идентичностью, по меньшей мере 95% идентичностью, по меньшей мере 98% идентичностью или по меньшей мере 99% идентичностью с любой из последовательностей переменной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 11-14 (показанными в таблице 2), и связывается с IL2RB.

[490] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность переменной области тяжелой цепи, как описано в данном документе, спаренную с последовательностью фиксированной легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 44, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 45 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 46 в каркасной области человеческой VL. Область VH и переменная область фиксированной легкой цепи антитела к IL2RB вместе характеризуются аффинностью связывания в отношении IL2RB. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность переменной области легкой цепи под SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95% или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью с последовательностью переменной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь дополнительно содержит последовательность константной области легкой

цепи (CL). В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность под SEQ ID NO: 48.

[491] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RB представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи, как описано в данном документе, которая не спаривается с последовательностью легкой цепи.

[492] В конкретном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность CDR1 под любым из SEQ ID NO: 15-16. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR1 предусматривает SEQ ID NO: 15. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR1 предусматривает SEQ ID NO: 16.

[493] В конкретном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность CDR2 под любым из SEQ ID NO: 17-19. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 17. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 18. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 19.

[494] В конкретном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность CDR3 под любым из SEQ ID NO: 20-21. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR3 предусматривает SEQ ID NO: 20. В конкретном варианте осуществления последовательность CDR2 предусматривает SEQ ID NO: 21.

[495] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RG, содержащее только тяжелые цепи, содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[496] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[497] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[498] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15; последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

[499] В дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит любую из аминокислотных последовательностей вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 22-25 (таблица 4).

[500] В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 22. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 23. В еще одном

дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 24. В еще одном дополнительном варианте осуществления антитело к IL2RB содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 25.

[501] В некоторых вариантах осуществления последовательность CDR в антителе к IL2RG по настоящему изобретению содержит одну или две аминокислотные замены относительно последовательности CDR1, CDR2 и/или CDR3 или набора последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 в любой из последовательностей под SEQ ID NO: 15-21 (таблица 3).

[502] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG содержит вариабельный домен тяжелой цепи (VH), в котором последовательность CDR3 характеризуется более чем или равной 80%, например, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности на уровне аминокислот с последовательностью CDR3 любого из антител, чьи последовательности CDR3 представлены в таблице 3, и связывается с IL2RG.

[503] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG содержит вариабельный домен тяжелой цепи (VH), в котором полный набор CDR 1, 2 и 3 (в совокупности) имеет последовательность с более чем восьмидесятью пяти процентной (85%) (например, $\geq 90\%$, $\geq 95\%$, $\geq 98\%$, $\geq 99\%$) идентичностью или равной ей на уровне аминокислот с CDR 1, 2 и 3 (в совокупности) антител, последовательности CDR которых представлены в таблице 3, и связывается с IL2RG.

[504] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80% идентичностью, по меньшей мере 85% идентичностью, по меньшей мере 90% идентичностью, по меньшей мере 95% идентичностью, по меньшей мере 98% идентичностью или по меньшей мере 99% идентичностью с любой из последовательностей вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 22-25 (показанными в таблице 4), и связывается с IL2RG.

[505] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG содержит последовательность вариабельной области тяжелой цепи, как описано в данном документе, спаренную с последовательностью фиксированной легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 44, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 45 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 46 в каркасной области человеческой VL. Область VH и вариабельная область фиксированной легкой цепи антитела к IL2RG вместе характеризуются аффинностью связывания в отношении IL2RG. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность вариабельной области легкой цепи под SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность, характеризующуюся по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей

мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95% или по меньшей мере приблизительно 99% идентичностью с последовательностью вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь дополнительно содержит последовательность константной области легкой цепи (CL). В некоторых вариантах осуществления фиксированная легкая цепь содержит последовательность под SEQ ID NO: 48.

[506] В некоторых вариантах осуществления антитело к IL2RG представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи, как описано в данном документе, которая не спаривается с последовательностью легкой цепи.

Мультиспецифические антитела

[507] Аспекты настоящего изобретения включают мультиспецифические, например биспецифические, антитела, которые могут иметь любую из конфигураций, обсуждаемых в данном документе, включая без ограничения биспецифическое бивалентное антитело на основе тяжелых цепей, содержащее две неидентичные полипептидные субъединицы тяжелой цепи, которые связаны друг с другом через асимметричную поверхность границы взаимодействия (например, "выступы-во-впадины" (КiH)). В определенных вариантах осуществления биспецифическое бивалентное антитело на основе тяжелых цепей может содержать две неидентичные полипептидные субъединицы тяжелой цепи, которые связаны друг с другом через асимметричную поверхность границы взаимодействия, и необязательно может дополнительно включать две идентичные полипептидные субъединицы фиксированной легкой цепи, каждая из которых связывается с одной из двух полипептидных субъединиц тяжелой цепи.

[508] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с первой субъединицей IL2R, и по меньшей мере одну вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается со второй субъединицей IL2R. В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, и по меньшей мере одну вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифические антитела дополнительно содержат Fc-часть, содержащую домены CH2, и/или CH3, и/или CH4, в отсутствие домена CH1.

[509] В объем настоящего изобретения входят различные форматы мультиспецифических антител, включая без ограничения одноцепочечные полипептиды, двухцепочечные полипептиды, трехцепочечные полипептиды, четырехцепочечные полипептиды и их кратные формы. Мультиспецифические антитела в данном документе, в частности, включают антитела, связывающиеся с IL2RB и IL2RG.

[510] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, предусматривающую представителя семейства IL2RB_F09, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO:

26, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 27, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 28, и вторую переменную область, предусматривающую представителя семейства IL2RG_F16, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO: 32, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 33, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 20.

[511] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело содержит первую переменную область, предусматривающую представителя семейства IL2RB_F09, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO: 26, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 27, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 28, и вторую переменную область, предусматривающую представителя семейства IL2RG_F18, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 19, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 21.

[512] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело содержит первую переменную область, предусматривающую представителя семейства IL2RB_F18, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO: 29, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 30, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 31, и вторую переменную область, предусматривающую представителя семейства IL2RG_F16, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO: 32, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 33, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 20.

[513] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело содержит первую переменную область, предусматривающую представителя семейства IL2RB_F18, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO: 29, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 30, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 31, и вторую переменную область, предусматривающую представителя семейства IL2RG_F18, содержащую последовательность CDR1, предусматривающую SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2, предусматривающую SEQ ID NO: 19, и последовательность CDR3, предусматривающую SEQ ID NO: 21.

[514] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую переменную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7, и вторую переменную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[515] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[516] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[517] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[518] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

[519] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

[520] В таблице 5 представлено краткое описание комбинаций разных CDR биспецифических антител к IL2RB x IL2RG согласно вариантам осуществления настоящего изобретения.

Таблица 5. Биспецифические антитела к IL2RB x IL2RG, комбинации последовательностей CDR

Комбинация № ID семейства	CDR1	CDR2	CDR3
IL2RB_F09C **	GGSISSSDW (SEQ ID NO: 1)	IDHSGST (SEQ ID NO: 4)	GRGSWELSDAFDI (SEQ ID NO: 7)
IL2RG_F16A	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGDTI (SEQ ID NO: 17)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
IL2RB_F09G **	GGSISSSDW (SEQ ID NO: 1)	IDHSGST (SEQ ID NO: 4)	ARGSWELTDAFDI (SEQ ID NO: 8)
IL2RG_F16B	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGSTI (SEQ ID NO: 18)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
IL2RB_F09K **	GGSISSSNW (SEQ ID NO: 2)	ISHSGST (SEQ ID NO: 5)	GRGSWELTDAFDI (SEQ ID NO: 9)
IL2RG_F16B	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGSTI (SEQ ID NO: 18)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
IL2RB_F18E **	GFTFSSYG (SEQ ID NO: 3)	ISYDGSNK (SEQ ID NO: 6)	ARLDYDVLGTGDPVGGFDI (SEQ ID NO: 10)
IL2RG_F16A	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGDTI (SEQ ID NO: 17)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
IL2RB_F09G **	GGSISSSDW (SEQ ID NO: 1)	IDHSGST (SEQ ID NO: 4)	ARGSWELTDAFDI (SEQ ID NO: 8)
IL2RG_F16C	GFTFNDYY (SEQ ID NO: 16)	ISSSGSTI (SEQ ID NO: 18)	ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20)
IL2RB_F09G **	GGSISSSDW (SEQ ID NO: 1)	IDHSGST (SEQ ID NO: 4)	ARGSWELTDAFDI (SEQ ID NO: 8)
IL2RG_F18A	GFTFSDYY (SEQ ID NO: 15)	ISSSGTTT (SEQ ID NO: 19)	ARGAAVAPGFDS (SEQ ID NO: 21)

[521] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 11, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 22.

[522] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 12, и вторую

вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 23.

[523] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 13, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 23.

[524] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 14, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 22.

[525] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 12, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 24.

[526] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 12, и вторую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, содержащую последовательность вариабельной области тяжелой цепи под SEQ ID NO: 25.

[527] В таблице 6 представлено краткое описание комбинаций разных вариабельных областей тяжелой цепи биспецифических антител к IL2RB x IL2RG согласно вариантам осуществления настоящего изобретения.

Таблица 6. Биспецифические антитела к IL2RB x IL2RG, комбинации последовательностей VH

Комбинация № ID семейства	Последовательность VH
IL2RB_F09C **	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSDWWSWVRQPPGK GLEWIGEIDHSGSTNYNPSLMSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYFCGRGSWELSDAFDIRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 11)
IL2RG_F16A	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGK GLEWVSSISSSGDTIYYADSVQGRFTLSRDNAENSLFLQMNSLRA EDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 22)
IL2RB_F09G **	QVQLQESGPGLVKSSETLSLTCTVSGGSISSSDWWSWVRQPPGK GLEWIGEIDHSGSTNYNPSLMSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAA DTAVYFCARGSWELTDAFDIRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 12)

	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGK GLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 23)
IL2RB_F09K **	QVQLQESSPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSNWWSWVRQPPGK GLEWIGEISHSGSTNYNPSLKSRTISVDKSKNQFSLRLSSVTAAD TAVYFCGRGSWELTDAFDIRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 13)
IL2RG_F16B	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGK GLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 23)
IL2RB_F18E **	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGK EREWVAVISYDGSNKYYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLEMNSLR AEDTAVYYCARDLDYDVLTDGDPVGGFDIWDGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 14)
IL2RG_F16A	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGK GLEWVSSISSSGDTIYYADSVQGRFTLSRDNAENSLFLQMNSLRA EDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 22)
IL2RB_F09G **	QVQLQESGPGLVKSSETLSLTCTVSGGSISSSDWWSWVRQPPGK GLEWIGEIDHSGSTNYNPSLMSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAAD DTAVYFCARGSWELTDAFDIRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 12)
IL2RG_F16C	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFNDYYMSWIRQAPGK GLEWVSHISSSGSTIYYADSVKGRFTVSRDNANNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGDAVSITGDYRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 24)
IL2RB_F09G **	QVQLQESGPGLVKSSETLSLTCTVSGGSISSSDWWSWVRQPPGK GLEWIGEIDHSGSTNYNPSLMSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAAD DTAVYFCARGSWELTDAFDIRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 12)
IL2RG_F18A	QVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWLRQAPGK ELEWVSHISSSGTTTYADSVVEGRFTITRDNKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARGAAVAPGFDSRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 25)

[528] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическое антитело содержит первый и второй полипептиды, т. е. первую и вторую полипептидные субъединицы, при этом каждый полипептид содержит антигенсвязывающий домен антитела на основе тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления каждый из первого и второго полипептидов дополнительно содержит шарнирную область или по меньшей мере часть шарнирной области, которая может способствовать образованию по меньшей мере одной дисульфидной связи между первым и вторым полипептидами. В

некоторых вариантах осуществления каждый из первого и второго полипептидов дополнительно содержит по меньшей мере один домен константной области тяжелой цепи (CH), такой как домен CH2, и/или домен CH3, и/или домен CH4. В определенных вариантах осуществления в домене CH отсутствует домен CH1. Антигенсвязывающий домен каждого из первого и второго полипептидов может содержать любую из последовательностей CDR и/или последовательностей вариабельной области, описанных в данном документе, в целях придания мультиспецифическому антителу способности связывать антиген. Таким образом, в определенных вариантах осуществления каждая полипептидная субъединица в мультиспецифическом антителе может содержать антигенсвязывающий домен, который связывается с другой субъединицей или цепью IL2R (например, IL2RB и IL2RG).

[529] В некоторых вариантах осуществления мультиспецифические антитела содержат вариант Fc-домена человеческого IgG4, содержащий первую последовательность константной области тяжелой цепи, содержащую мутацию S228P, мутацию F234A, мутацию L235A и мутацию T366W ("выступ"), и вторую последовательность константной области тяжелой цепи, содержащую мутацию S228P, мутацию F234A, мутацию L235A, мутацию T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V ("впадину"). Этот вариант или модифицированный Fc-домен IgG4 предупреждает нежелательный обмен Fab, снижает эффекторную функцию антитела, а также облегчает гетеродимеризацию полипептидных субъединиц тяжелой цепи с образованием мультиспецифического (например, биспецифического) антитела.

[530] Компоненты мультиспецифических антител, описанных в данном документе (т. е. последовательности CDR, последовательности вариабельной области и последовательности Fc-домена (например, последовательности шарнирного участка, доменов CH2 и CH3)) могут быть объединены различными способами для создания мультиспецифических антител, которые связываются с IL2R, например, с IL2RB и IL2RG, и которые характеризуются полезными свойствами, например, сниженной активностью эффекторной функции, повышенной агонистической активностью IL2R и т. д.

[531] В таблице 7 представлены последовательности для последовательностей Fc-области человеческих IgG1 и IgG4, а также версии этих последовательностей, которые включают дополнительные мутации (варианты), придающие дополнительные требуемые свойства.

Таблица 7. Последовательности Fc-областей человеческих IgG1 и IgG4 и их варианты

Название полипептида	Аминокислотная последовательность
Человеческий IgG1 (UniProt № P01857)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW

	<p>YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK</p> <p>EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO: 42)</p>
Человеческий IgG4 (UniProt № P01861)	<p>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPKDITLMSISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 43)</p>
Человеческий IgG1 с сайленсинговыми мутациями (Fc-область)	<p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDITLMSISRTPEVTCVVDVVSHPEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 51)</p>
Человеческий IgG4 с сайленсинговыми мутациями (Fc-область)	<p>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPKDITLMSISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 52)</p>

Шарнирная область человеческого IgG4 (дикого типа)	ESKYGPPCPCPA (SEQ ID NO: 54)
Шарнирная область человеческого IgG4 (S228P)	ESKYGPPCPPCPA (SEQ ID NO: 55)
Последовательность домена CH2 человеческого IgG4 (дикого типа)	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO: 56)
Последовательность домена CH2 человеческого IgG4 (F234A, L235A)	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO: 57)
Последовательность домена CH3 человеческого IgG4 (дикого типа)	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 58)
Последовательность домена CH3 человеческого IgG4 ("выступ", T366W)	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 59)
Последовательность домена CH3 человеческого IgG4 ("впадина", T366S, L368A, Y407V)	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSRSLTVDKSRWQE GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 60)

[532] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую варибельную область, которая связывается с IL2RB, при этом первая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 53, и вторую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую варибельную область, которая связывается с IL2RG, при этом вторая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 61.

[533] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую варибельную область,

которая связывается с IL2RB, при этом первая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 62, и вторую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, при этом вторая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 63.

[534] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, при этом первая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 64, и вторую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, при этом вторая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 65.

[535] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, при этом первая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 66, и вторую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, при этом вторая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 67.

[536] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, при этом первая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 34, и вторую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, при этом вторая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 35.

[537] В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело содержит первую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RB, при этом первая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 36, и вторую полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариабельную область, которая связывается с IL2RG, при этом вторая полипептидная субъединица тяжелой цепи содержит последовательность под SEQ ID NO: 37.

[538] В таблице 8 представлено краткое описание комбинаций разных последовательностей полипептидных субъединиц тяжелой цепи биспецифических антител к IL2RB x IL2RG согласно вариантам осуществления настоящего изобретения.

Таблица 8. Биспецифические антитела к IL2RB x IL2RG, комбинации полноразмерных полипептидных последовательностей

Комбинация № ID семейства	Название полипептида	Полноразмерные последовательности
"Впадина" IL2RB_F09C **	"Впадина" IL2RB_F09C IgG4	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSDW WSWVRQPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYNPSLMSRV TISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCGRGSWE LSDAFDIRGQGTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL VSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO: 53)
"Выступ" IL2RG_F16A	"Выступ" IL2RG_F16A IgG4	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYM SWIRQAPGKGLEWVSSISSGDTIYYADSVQGRFT LSRDNAENSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARGDAV SITGDYRGQGTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO: 61)

<p>"Впадина" IL2RB_F09G **</p>	<p>"Впадина" IL2RB_F09G IgG4</p>	<p>QVQLQESGPGGLVKSSSETLSLTCTVSGGSISSSDWW SWVRQPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYNPSLMSRVTI SVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARGSWELT DAFDIRGQGTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLVS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK (SEQ ID NO: 62)</p>
<p>"Выступ" IL2RG_F16B</p>	<p>"Выступ" IL2RG_F16B IgG4</p>	<p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYM SWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDAV SITGDYRGQGTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO: 63)</p>
<p>"Впадина" IL2RB_F09K ** "Выступ" IL2RG_F16B</p>	<p>"Впадина" IL2RB_F09K IgG4</p>	<p>QVQLQESSPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSNWW SWVRQPPGKGLEWIGEISHSGSTNYNPSLKSRVTI SVDKSKNQFSLRLSSVTAADTAVYFCGRGSWELT DAFDIRGQGTLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLVS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK (SEQ ID NO: 64)</p>
	<p>"Выступ" IL2RG_F16B</p>	<p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYM SWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFT</p>

	IgG4	ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDAV SITGDYRGQGLTVTVSSESKYGPPCPPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO: 65)
"Впадина" IL2RB_F18E ** "Выступ" IL2RG_F16A	"Впадина" IL2RB_F18E IgG4	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGM HWVRQAPGKEREWVAVISYDGSNKYYTDSVKGR FTISRDNSKNTLYLEMNSLRAEDTAVYYCARDLD YDVLTVGDPVGGFDIWGQGLTVTVSSESKYGPPCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ FNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFLLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 66)
	"Выступ" IL2RG_F16A IgG4	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYM SWIRQAPGKGLEWVSSISSSGDTIYYADSVQGRFT LSRDNAENSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARGDAV SITGDYRGQGLTVTVSSESKYGPPCPPAPEAAG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO: 67)
"Впадина" IL2RB_F09G ** "Выступ"	"Впадина" IL2RB_F09G IgG4	QVQLQESGPGLVKSSSETLSLTCTVSGGSISSSDWW SWVRQPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYPNPSLMSRVTI SVDKSKNQFSLKLSVTAADTAVYFCARGSWELT DAFDIRGQGLTVTVSSESKYGPPCPPAPEAAGG

IL2RG_F16C		<p>PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK (SEQ ID NO: 34)</p>
	<p>"Выступ" IL2RG_F16C IgG4</p>	<p>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFNDYY MSWIRQAPGKGLEWVSHISSSGSTIYYADSVKGR FTVSRDNANNSLYLQMHSRAEDTAVYYCARGD AVSITGDYRGQGTLLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKLSLSLGK (SEQ ID NO: 35)</p>
<p>"Впадина" IL2RB_F09G **</p>	<p>"Впадина" IL2RB_F09G IgG4</p>	<p>QVQLQESGPGLVKSSSETLSLTCTVSGGSISSDWW SWVRQPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYPNPSLMSRVTI SVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARGSWELT DAFDIRGQGTLLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK (SEQ ID NO: 36)</p>
<p>"Выступ" IL2RG_F18A</p>	<p>"Выступ" IL2RG_F18A IgG4</p>	<p>QVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYM SWLRQAPGKELEWVSHISSSGTTTYADSVVEGRF TITRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAA VAPGFDSRGQGTLLVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV</p>

		SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 37)
--	--	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

[539] Дополнительные последовательности, упоминаемые в данном документе, представлены в таблицах 9 и 10 для справки.

Таблица 9. Дополнительные последовательности

Название белка	№ UniProt KB	Аминокислотная последовательность
Человеческий IL2RA	P01589	MDSYLLMWGLLTFIMVPGCQAELCDDDPPEIPHATF KAMAYKEGTMLNCECKRGFRRIKSGSLYMLCTGNS SHSSWDNQCQCTSSATRNTTKQVTPQPEEQKERKTT EMQSPMQPVDQASLPGHCREPPPWENEATERIYHFV VGQMVYYQCVQGYRALHRGPAESVCKMTHGKTR WTQPQLICTGEMETSQFPGEEKPQASPEGRPESETSC LVTTTDFQIQTEMAATMETSIFTTEYQVAVAGCVFL LISVLLSGLTWQRRQRKSRRTI (SEQ ID NO: 38)
Человеческий IL2RB	P14784	MAAPALSWRLPLLILLPLATSWASAAVNGTSQFTC FYNSRANISCVWSQDGALQDTSCQVHAWPDRRRW NQTCELLPVSQASWACNLILGAPDSQKLTTVDIVTL RVLCREGVRWRVMAIQDFKPFENLRMAPISLQVV HVETHRCNISWEISQASHYFERHLEFEARTLSPGHTW EEAPLLTLKQKQEWICLETLTPDTQYEFQVRVKPLQ GEFTTWSPWSQPLAFRTKPAALGKDTIPWLGHLLVG LSGAFGFILVYLLINCRNTGPWLKKVLCNTPDPSK FFSQLSSEHGGDVQKWLSSPFPSSSFSPGGLAPEISPL EVLERDKVTQLLLQQDKVPEPASLSSNHSLTSCFTN QGYFFFHLPDALEIEACQVYFTYDPYSEEDPDEGVA GAPTGSSPQLPLSGEDDAYCTFPSRDDLLLFSPSLL GGPSPSTAPGGSGAGEERMPPSLQERVPRDWDQPQ LGPPTPGVPDLVDFQPPPELVREAGEEVPDAGPREG VSFPWSRPPGQGEFRALNARLPLNTDAYLSLQELQG QDPHTLV (SEQ ID NO: 39)
Человеческий	P31785	MLKPSLPFTSLLFLQLPLLGVGLNTTILTPNGNEDTT

IL2RG		ADFFLTTPMPTDSLVSSTLPLPEVQCFVFNVEYMNCT WNSSEPPQPTNLTLYHYWYKNSDNDKVQKCSHYLFS EEITSGCQLQKKEIHL YQTFVVQLQDPREPRRQATQ MLKLQNLVIPWAPENLTLHKLSSESQLELNWNNRFLN HCLEHLVQYRTDWDHSWTEQSVDIRHKFSLPSVDG QKRYTFRVRSRFNPLCGSAQHWSEWSHPIHWGSNTS KENPFLFALEAVVISV GSMGLIISLLCVYFWLERTMP RIPTLKNLEDLVTEYHGNFSAWSGVSKGLAESLQPD YSERLCLVSEIPPKGGALGEGPGASPCNQHSPYWAPP CYTLKPET (SEQ ID NO: 40)
Человеческий IL2	P60568	MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEH LLLDLQMLNGINNYKNPKLTRMLTFK FYMPKKATE LKHLQCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNI NVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQ SIISTLT (SEQ ID NO: 41)

Таблица 10. Дополнительные последовательности

Название белка	Аминокислотная последовательность
Фиксированная легкая цепь, последовательность CDR1	QSVSSN (SEQ ID NO: 44)
Фиксированная легкая цепь, последовательность CDR2	GAS (SEQ ID NO: 45)
Фиксированная легкая цепь, последовательность CDR3	QQYNNWPWT (SEQ ID NO: 46)
Фиксированная легкая цепь, последовательность VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QQYNNWPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 47)

Название белка	Аминокислотная последовательность
Фиксированная легкая цепь, полноразмерная последовательность (VL+CL)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQA PRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYC QQYNNWPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSST YSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 48)

Клеточная интернализация

[540] В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему изобретению после связывания с мишенью связывания (например, IL2R) интернализуются в клетки, при этом уровень интернализации составляет по меньшей мере приблизительно 10%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80% или по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 100%, по меньшей мере приблизительно 110%, по меньшей мере приблизительно 120%, по меньшей мере приблизительно 130%, по меньшей мере приблизительно 140%, по меньшей мере приблизительно 150%, по меньшей мере приблизительно 160%, по меньшей мере приблизительно 170%, по меньшей мере приблизительно 180%, по меньшей мере приблизительно 190% или по меньшей мере приблизительно 200% или больше по сравнению с одним или несколькими контрольными антителами, которые не интернализуются. В некоторых вариантах осуществления аспекты способов, описанных в данном документе, включают интернализацию антитела, как описано в данном документе, в клетку для достижения требуемого эффекта, например, для действия в качестве агониста IL2R.

[541] Результаты клеточной интернализации представлены на **фиг. 7**, панели А-В. На панели А показана интернализация указанных антител к IL2R β/γ UniAbs™, осуществляемая CD8⁺ Т-клетками из PBMC человека, в зависимости от времени. На панели В эти данные приведены изображены в табличном формате. Поверхностные уровни UniAb™ определяли посредством проточной цитометрии и представляли относительно клеток, которым не предоставляли возможности осуществления интернализации. Наблюдаемые периоды полужизни варьировались от 0,27 часа до 0,81 часа. Как наблюдалось в данном случае, интернализация потенциально частично зависела от специфического плеча к IL2RG биспецифического антитела, поскольку молекулы, содержащие связывающую последовательность IL2RG_F16B, интернализировались быстрее и в большей степени, чем молекулы, содержащие различные связывающие последовательности антитела к IL2RG.

Получение антител к IL2R

[542] Антитела по настоящему изобретению могут быть получены посредством

способов, известных из уровня техники. В некоторых вариантах осуществления антитела по данному документу продуцируются трансгенными животными, в том числе трансгенными мышами и крысами, например, трансгенными крысами, у которых нокаутированы или блокированы гены эндогенного иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления антитела на основе тяжелых цепей по данному документу продуцируются в UniRat™. UniRat™ характеризуются подвергнутыми сайленсингу эндогенными генами иммуноглобулина и в них используется транслокус тяжелой цепи иммуноглобулина человека для экспрессии разнообразного, оптимизированного естественным путем спектра полностью человеческих HCAb. В то время как локусы эндогенных иммуноглобулинов у крыс можно нокаутировать или подвергать сайленсингу с применением различных технологий, в UniRat™ для инактивации эндогенного крысиного J-локуса тяжелой цепи, Сκ-локуса легкой цепи и Сλ-локуса легкой цепи применяли технологии с использованием (эндо)нуклеазы цинковых пальцев (ZNF). Конструкции ZNF для микроинъекций в ооциты могут продуцировать линии IgH и IgL, характеризующиеся нокаутом (KO). Подробнее см., например, Geurts et al., 2009, Science 325:433. Определение характеристик крыс с нокаутом тяжелой цепи Ig описано у Menoret et al., 2010, Eur. J. Immunol. 40:2932-2941. Преимущества технологии с использованием ZNF заключаются в том, что негомологичное соединение концов для сайленсинга гена или локуса посредством делеций до нескольких т. о. также может обеспечить сайт-мишень для гомологичной интеграции (Cui et al., 2011, Nat Biotechnol 29:64-67). Человеческие антитела на основе тяжелых цепей, продуцируемые в UniRat™, называются UniAbs™ и могут связывать эпитопы, которые не могут быть атакованы обычными антителами. Их высокая специфичность, аффинность и небольшой размер делают их идеальными для моно- и мультиспецифических вариантов применения.

[543] В дополнение к UniAbs™, в данный документ конкретно включены антитела, содержащие только тяжелые цепи, без каркасной области и мутаций VHH верблюдовых и их функциональные области VH. Такие антитела, содержащие только тяжелые цепи, могут продуцироваться, например, в трансгенных крысах или мышах, которые содержат полностью человеческие локусы генов, предусматривающие только тяжелые цепи, как описано, например, в WO 2006/008548, однако также могут быть использованы другие трансгенные млекопитающие, такие как кролик, морская свинка и крыса. Антитела, содержащие только тяжелые цепи, в том числе их функциональные фрагменты VHH или VH, также могут продуцироваться с помощью технологии рекомбинантной ДНК посредством экспрессии кодирующей нуклеиновой кислоты в подходящем эукариотическом или прокариотическом хозяине, в том числе, например, клетках млекопитающих (например, клетках CHO), E. coli или дрожжах.

[544] Домены антител, содержащие только тяжелые цепи, сочетают в себе преимущества антител и низкомолекулярных лекарственных средств: могут быть моно- или поливалентными; характеризуются низкой токсичностью; и рентабельны в изготовлении. Благодаря небольшому размеру эти домены легко вводятся, включая

пероральное или местное введение, характеризуются высокой стабильностью, включая стабильность в желудочно-кишечном тракте, и их период полувыведения можно адаптировать к требуемому применению или показанию. Кроме того, домены VH и VHH HCAb могут быть изготовлены посредством рентабельного способа.

[545] В конкретном варианте осуществления антитела на основе тяжелых цепей по настоящему изобретению, в том числе UniAbsTM, характеризуются нативным аминокислотным остатком в первом положении области FR4 (аминокислотное положение 101 в соответствии с системой нумерации согласно Kabat), замещенным другим аминокислотным остатком, который способен нарушить экспонированный на поверхности гидрофобный участок, содержащий нативный аминокислотный остаток в этом положении или ассоциированный с ним. Такие гидрофобные участки обычно скрыты на поверхности границы с константной областью легкой цепи антитела, однако проявляются на поверхности в HCAb и по меньшей мере частично служат для нежелательной агрегации и ассоциации легких цепей HCAb. В некоторых вариантах осуществления замещенный аминокислотный остаток является заряженным. В некоторых вариантах осуществления замещенный аминокислотный остаток является положительно заряженным, как например лизин (Lys, K), аргинин (Arg, R) или гистидин (His, H), например, аргинин (R). В некоторых вариантах осуществления антитела, содержащие только тяжелые цепи, полученные от трансгенных животных, содержат мутацию в виде замены Trp на Arg в положении 101. В некоторых вариантах осуществления полученные HCAb характеризуются высокой антигенсвязывающей аффинностью и растворимостью в физиологических условиях при отсутствии агрегации.

[546] В качестве части настоящего изобретения были идентифицированы человеческие антитела IgG на основе тяжелых цепей к IL2R с уникальными последовательностями от животных UniRatTM (UniAbTM), которые связываются с человеческим IL2R в анализах связывания белка и клеток на основе ELISA. Идентифицированные последовательности вариабельной области тяжелой цепи (VH) являются положительными в отношении связывания человеческого белка IL2R и/или в отношении связывания с IL2R+ клетками, и все они являются отрицательными в отношении связывания с клетками, которые не экспрессируют IL2R.

[547] Антитела на основе тяжелых цепей, связывающиеся с неперекрывающимися эпитопами на белке IL2R, например UniAbTM, можно идентифицировать посредством анализов конкурентного связывания, таких как иммуноферментные анализы (анализы ELISA) или анализы конкурентного связывания на основе проточной цитометрии. Например, можно применять конкуренцию между известными антителами, связывающимися с антигеном-мишенью, и антителом, представляющим интерес. С применением этого подхода можно разделить набор антител на те, которые конкурируют с референтным антителом, и те, которые не конкурируют с ним. Неконкурирующие антитела идентифицируют как связывающиеся с отдельным эпитопом, который не перекрывается с эпитопом, связанным с референтным антителом. Часто одно антитело

иммобилизуют, антиген связывают и второе меченое (например, биотинилированное) антитело исследуют в анализе ELISA в отношении способности связывать захваченный антиген. Это также может быть выполнено с применением платформ поверхностного плазмонного резонанса (SPR), в том числе ProteOn XPR36 (BioRad, Inc), Biacore 2000 и Biacore T200 (GE Healthcare Life Sciences) и сканера изображений MX96 SPR (Ibis Technologies B.V.), а также на платформах биослойной интерферометрии, таких как Octet Red384 и Octet HTX (ForteBio, Pall Inc). Для получения дополнительной подробной информации см. примеры в данном документе.

[548] Как правило, антитело "конкурирует" с референтным антителом, если оно вызывает приблизительно 15-100% уменьшение связывания референтного антитела с антигеном-мишенью, что определяется стандартными методиками, такими как описанные выше анализы конкурентного связывания. В некоторых вариантах осуществления конкурентное связывание измеряют с использованием иммуноферментного анализа (анализа ELISA). В некоторых вариантах осуществления одно антитело иммобилизуют, антиген связывают и второе меченое (например, биотинилированное) антитело тестируют в анализе ELISA в отношении способности связывать захваченный антиген. Это может быть выполнено, например, с применением платформы поверхностного плазмонного резонанса (SPR), такой как, например, ProteOn XPR36 (BioRad, Inc), Biacore 2000 и Biacore T200 (GE Healthcare Life Sciences), и сканера изображений MX96 SPR (Ibis Technologies B.V.), а также на платформах биослойной интерферометрии, таких как Octet Red384 и Octet HTX (ForteBio, Pall Inc). В некоторых вариантах осуществления конкурентное связывание измеряют с применением анализа конкурентного связывания с использованием проточной цитометрии.

[549] В различных вариантах осуществления относительное подавление составляет по меньшей мере приблизительно 15%, по меньшей мере приблизительно 20%, по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95% или больше.

Фармацевтические композиции

[550] В другом аспекте настоящего изобретения представлены фармацевтические композиции, содержащие одно или несколько антител по настоящему изобретению в смеси с подходящим фармацевтически приемлемым носителем. Примерами фармацевтически приемлемых носителей, применяемых в данном документе, являются без ограничения адьюванты, твердые носители, вода, буферы или другие носители, применяемые в данной области техники для хранения терапевтических компонентов или

их комбинации.

[551] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит антитело на основе тяжелых цепей (например, UniAbTM), которое связывается с IL2R. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит мультиспецифическое (в том числе биспецифическое) антитело на основе тяжелых цепей (например, UniAbTM), которое связывается с двумя или более неперекрывающимися эпитопами на белке IL2R (например, с первым эпитопом на первой полипептидной цепи IL2R (например, IL2RB) и вторым эпитопом на второй полипептидной цепи IL2R (например, IL2RG)). В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит мультиспецифическое (в том числе биспецифическое) антитело на основе тяжелых цепей (например, UniAbTM), которое связывается с IL2RB и IL2RG.

[552] Фармацевтические композиции на основе антител, применяемых в соответствии с настоящим изобретением, получают для хранения путем смешивания белков, характеризующихся требуемой степенью чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), например, в форме лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфатный, цитратный и буферы на основе других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецилдиметилбензиламмония хлорид, гексаметония хлорид, бензалкония хлорид, бензетония хлорид, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехин, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные полипептиды (менее чем приблизительно 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие средства, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок) и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEENTM, PLURONICTM или полиэтиленгликоль (PEG).

[553] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции для парентерального введения являются стерильными и по сути изотоническими и изготавливаются в соответствии с условиями надлежащей производственной практики (GMP). Фармацевтические композиции могут быть предусмотрены в виде стандартной лекарственной формы (т. е. дозировки для однократного введения). Состав зависит от выбранного пути введения. Антитела по данному документу можно вводить посредством внутривенной инъекции или инфузии или подкожно. Для инъекционного введения

антитела по данному документу могут быть составлены в виде водных растворов, например, в физиологически совместимых буферах для уменьшения дискомфорта в месте инъекции. Раствор может содержать носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы, как обсуждается выше. В качестве альтернативы антитела могут находиться в лиофилизированной форме для разбавления с подходящим носителем, например, стерильной апиrogenной водой, перед применением.

[554] Составы на основе антител раскрыты, например, в патенте США № 9034324. Подобные составы можно применять в случае антител на основе тяжелых цепей, включая UniAbs™, по настоящему изобретению. Составы на основе антител для подкожного применения введения, описаны, например, в US20160355591 и US20160166689.

Способы применения

[555] Антитела к IL2R и фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть использованы для лечения заболеваний и состояний, опосредованных активацией передачи сигнала IL2R в иммунных клетках, таких как иммунные эффекторный клетки, такие как эффекторные Т-клетки и естественные клетки-киллеры (NK). В некоторых вариантах осуществления заболевание или состояние может представлять собой инфекционное заболевание, аутоиммунное нарушение (например, болезнь Крона, рассеянный склероз), рак, воспалительное заболевание (например, артрит), а также заболевание или нарушение, связанное с дефицитом IL-2-опосредованной передачи сигнала, дефицитом пролиферации Т-клеток или дисфункцией Т-клеток.

[556] В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой заболевание или нарушение, при котором усиление IL-2-опосредованной передачи сигнала является терапевтическим для пациента. В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение связано с дефицитом ответа Т-клеток, например, с дефицитом ответа CD8+ Т-клеток.

[557] В некоторых вариантах осуществления лечение направлено на предупреждение или лечение заболевания или нарушения путем увеличения количества CD3+ Т-клеток, увеличения количества CD4+ Т-клеток, увеличения количества CD8+ Т-клеток, увеличения количества эффекторных CD8+ Т-клеток (например, CTL), увеличения количества NK-клеток, увеличения соотношения CD8+ Т-клеток и CD4+ Т-клеток, уменьшения доли Treg или любой их комбинации.

[558] В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение может проявляться в виде инфекции или неспособности обеспечить эффективный иммунный ответ против инфекции. Инфекция может быть хронической, персистирующей, латентной или медленной и может быть результатом бактериальной, вирусной, грибковой или паразитарной инфекции. Таким образом, лечение может быть предоставлено пациентам, у которых имеется бактериальная, вирусная или грибковая инфекция. Неограничивающие примеры бактериальных инфекций включают инфекцию, вызываемую *Helicobacter pylori*. Неограничивающие примеры вирусных инфекций включают инфекцию, вызываемую вирусами EBV, HIV, гепатита В или гепатита С.

[559] В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение может быть ассоциировано с раком, например, ускользание опухоли от иммунного ответа. Многие опухоли человека экспрессируют опухолеассоциированные антигены, распознаваемые Т-клетками и способные индуцировать иммунный ответ. Виды рака также можно лечить в тех случаях, когда не имеется признаков нарушения функции Т-клеток, но применение антител, описанных в данном документе, способствует эффективному иммунному ответу.

[560] В некоторых вариантах осуществления лечение направлено на предупреждение заболевания или нарушения, ассоциированных с дефицитом и/или снижением IL-2-опосредованной передачи сигнала. Таким образом, описанные в данном документе антитела могут быть использованы для составления фармацевтических композиций или лекарственных препаратов, и субъекты могут получать профилактическое лечение, направленное против развития болезненного состояния. Это может происходить до появления симптомов болезненного состояния, и/или такое лечение может быть назначено субъектам, которые, как считается, подвергаются большому риску заболевания или нарушения.

[561] В определенных вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, предусматривают индуцирование активации иммунных эффекторных клеток без преимущественной активации регуляторных Т-клеток (Treg). Без ограничения теорией, авторы настоящего изобретения обнаружили, что мультиспецифические антитела, которые одновременно нацеливаются как на бета-, так и на гамма-субъединицы рецептора IL2 с индуцированием активации (т. е. действуют как агонисты) передачи сигнала IL2R в иммунных эффекторных клетках человека без преимущественной активации Treg, сдвигая равновесие в сторону активации Т-эффекторных и NK-клеток, приводили к улучшению результатов лечения заболеваний и нарушений, которые опосредованы активацией передачи сигнала IL2R.

[562] Соответственно, аспекты настоящего изобретения включают способы лечения, при которых иммунный ответ субъекта усиливается или поддерживается путем введения терапевтически эффективного количества одного или нескольких антител, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение антитела, описанного в данном документе, для достижения иммунного ответа, обеспечивающего разрушение раковых клеток. В определенных вариантах осуществления антитела, описанные в данном документе, действуют как агонисты пути передачи сигнала IL2R для достижения таких результатов. Способы согласно вариантам осуществления настоящего изобретения также включают комбинированную терапию, при которой субъекту вводят антитело, описанное в данном документе, в сочетании с другим курсом терапии, например, режимом химиотерапии.

[563] В одном аспекте мультиспецифическое (например, биспецифическое) антитело, описанное в данном документе, обладающее агонистической активностью в отношении пути передачи сигнала IL2R, используют для лечения рака. Виды рака,

поддающиеся такому лечению, включают без ограничения распространенные или метастатические виды рака. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак в виде солидной опухоли. Рак в виде солидной опухоли согласно вариантам осуществления настоящего изобретения включает без ограничения почечноклеточную карциному, меланому, уротелиальный рак, трижды негативный рак молочной железы, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), колоректальный рак, саркому, плоскоклеточную карциному головы и шеи, а также метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

[564] Аспекты настоящего изобретения также включают способы стимуляции передачи сигнала IL2R в иммунной клетке, при этом способы включают приведение иммунной клетки в контакт с описанным в данном документе антителом (например, с агонистическим биспецифическим антителом, описанным в данном документе). В определенных вариантах осуществления способы включают стимуляцию димерного рецепторного комплекса IL2RB/IL2RG на иммунной клетке путем приведения иммунной клетки в контакт с мультиспецифическим (например, биспецифическим) антителом, которое связывается как с IL2RB, так и с IL2RG, и действует как агонист комплекса IL2R. В рассматриваемых способах могут быть предусмотрены любые из ряда различных иммунных клеток, которые экспрессируют IL2R, в том числе без ограничения CD4+ Т-клетки, CD8+ Т-клетки и естественные клетки-киллеры (NK).

[565] Эффективные дозы композиций по настоящему изобретению для лечения заболевания варьируются в зависимости от многих разных факторов, в том числе средств введения, целевого участка, физиологического состояния пациента, того, является ли пациент человеком или животным, других вводимых лекарственных препаратов и того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Обычно пациентом является человек, но также можно лечить отличных от человека млекопитающих, например, домашних животных, таких как собаки, кошки, лошади и т. д., лабораторных млекопитающих, таких как кролики, мыши, крысы и т. д., и т. п. Лечебные дозировки можно подбирать для оптимизации безопасности и эффективности.

[566] Уровни дозировки могут быть легко определены обычным квалифицированным клиницистом и могут быть модифицированы по мере необходимости, например, по мере необходимости для модифицирования ответа субъекта на средство терапии. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалами-носителями для получения единичной лекарственной формы, варьируется в зависимости от хозяина, подлежащего лечению, и конкретного способа введения. Стандартные лекарственные формы обычно содержат от приблизительно 1 мг до приблизительно 500 мг активного ингредиента.

[567] В некоторых вариантах осуществления терапевтическая дозировка средства может находиться в диапазоне от приблизительно 0,0001 до 100 мг/кг и чаще от 0,01 до 5 мг/кг массы тела хозяина. Например, дозировки могут составлять 1 мг/кг массы тела или 10 мг/кг массы тела или находиться в диапазоне, составляющем 1-10 мг/кг.

Иллюстративная схема лечения предусматривает введение один раз в две недели, или один раз в месяц, или один раз каждые 3-6 месяцев. Терапевтические средства по настоящему изобретению обычно вводят многократно. Интервалы между однократными дозировками могут составлять неделю, месяц или год. Интервалы также могут быть нерегулярными, на что указывает измерение уровня терапевтического средства в крови пациента. В качестве альтернативы терапевтические средства по настоящему изобретению можно вводить в виде состава с замедленным высвобождением, и в этом случае требуется менее частое введение. Дозировка и частота варьируют в зависимости от периода полувыведения полипептида у пациента.

[568] Обычно композиции получают в виде инъекций, либо в виде жидких растворов, либо в виде суспензий; также могут быть получены твердые формы, подходящие для растворения или суспендирования в жидких носителях перед инъекцией. Фармацевтические композиции по данному документу являются подходящими для внутривенного или подкожного введения, непосредственно или после растворения твердых (например, лиофилизированных) композиций. Препарат также может быть эмульгирован или инкапсулирован в липосомы или микрочастицы, такие как полилактид, полигликолид или сополимер, для усиления адьювантного эффекта, как обсуждается выше. Langer, Science 249: 1527, 1990 и Hanes, Advanced Drug Delivery Reviews 28: 97-119, 1997. Средства по настоящему изобретению можно вводить в форме препарата для депонирования инъекций или препарата для имплантации, который может быть составлен таким образом, чтобы обеспечить замедленное или пульсирующее высвобождение активного ингредиента. Фармацевтические композиции обычно составляют стерильными, по сути изотоническими и в полном соответствии со всеми правилами надлежащей производственной практики (GMP) Управления США по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов.

[569] Токсичность антител и структур антител, описанных в данном документе, можно определить стандартными фармацевтическими процедурами в культурах клеток или с помощью экспериментальных животных, например, посредством определения LD50 (дозы, летальной для 50% популяции) или LD100 (дозы, летальной для 100% популяции). Соотношение доз между токсическим и терапевтическим эффектом представляет собой терапевтический индекс. Данные, полученные в результате этих анализов культур клеток и исследований с применением животных, можно применять для определения диапазона дозировок, который является нетоксичным для применения у людей. В некоторых вариантах осуществления дозировка антител, описанных в данном документе, находится в диапазоне циркулирующих концентраций, который предусматривает эффективную дозу с незначительной токсичностью или без нее. Дозировка может варьироваться в пределах этого диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы и используемого пути введения. Точный состав, путь введения и дозировка могут быть выбраны лечащим врачом, принимая во внимание состояние пациента.

[570] Композиции для введения обычно будут содержать антитело или другое

аблятивное средство, растворенное в фармацевтически приемлемом носителе, например, водном носителе. Можно применять различные водные носители, например, забуференный солевой раствор и т. п. Эти растворы являются стерильными и обычно не содержат нежелательных веществ. Эти композиции можно стерилизовать посредством обычных, хорошо известных методик стерилизации. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, необходимые для приближения к физиологическим условиям, такие как средства, регулирующие pH и буферные средства, средства, регулирующие токсичность, и т. п., например, ацетат натрия, хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, лактат натрия и т. п. Концентрация активного средства в этих составах может варьироваться в широких пределах и будет выбрана в первую очередь на основе объемов жидкости, вязкости, массы тела и т. п. в соответствии с выбранным конкретным способом введения и потребностями пациента (например, Remington's Pharmaceutical Science (15th ed., 1980) and Goodman & Gillman, The Pharmacological Basis of Therapeutics (Hardman et al., eds., 1996)).

[571] Также в объем настоящего изобретения входят наборы, содержащие активные средства и содержащие их составы по настоящему изобретению, а также инструкции по применению. Набор может дополнительно содержать по меньшей мере один дополнительный реагент, например, химиотерапевтическое лекарственное средство и т. п. Наборы обычно включают этикетку, указывающую на целевое применение содержимого набора. Термин "этикетка", используемый в данном документе, предусматривает любой письменный или записанный материал, поставляемый вместе с набором или иным образом сопровождающий набор.

[572]

[573] Теперь, когда иллюстративные варианты осуществления полностью описаны, рядовому специалисту в данной области техники будет очевидно, что могут быть выполнены различные изменения и модификации без отклонения от сути или объема изобретения.

ПРИМЕРЫ

Материалы и способы

Названия конструкций на основе антитела

[574] В следующей таблице (таблица 11) представлена сокращенная номенклатура для шести конструкций на основе биспецифических антител, оцениваемых в данном документе.

Таблица 11. Сокращенная номенклатура

Сокращенное название	Название последовательности
BsAb-1	IL2RB_F09C**IL2RG_F16A
BsAb-2	IL2RB_F09G**IL2RG_F16B
BsAb-3	IL2RB_F09G**IL2RG_F16C
BsAb-4	IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

BsAb-5	IL2RB_F09K**IL2RG_F16B
BsAb-6	IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

Процедуры иммунизации, секвенирование следующего поколения, анализ клонотипов и клонирование

[575] Способы по существу являются такими же, как описано в Harris et al. *Front Immunol.* 2018 Apr 24; 9:889(60). Вкратце, животных UniRat иммунизировали с использованием стандартных адъювантов (полный адъювант Фрейнда или Titermax/Риб) вместе с рекомбинантными белковыми антигенами в рамках 48-дневного протокола или процедур ДНК-иммунизации. Для процедур белковой иммунизации процедуры бустерной иммунизации заключались в введении путем инъекции 10 мкг рекомбинантного белка в каждую ногу каждого животного с соответствующим адъювантом. В случае процедур ДНК-иммунизации частицы золота покрывали векторами, содержащими cDNA антигенами-мишени, которые затем вводили подкожно каждые 7 дней с использованием генной пушки. Образцы плазмы крови собирали после иммунизации для оценки титров направленных против антигена иммуноглобулинов в сыворотке крови посредством ELISA.

[576] Через примерно 7 недель (белковый антиген) или 10 недель (ДНК-антиген) иммунизации собирали дренирующие лимфатические узлы и выделяли общую РНК. Последовательности тяжелой цепи Ig амплифицировали с использованием синтеза первой цепи cDNA и 5'-RACE посредством ПЦР, следуя способам, аналогичным тем, которые ранее были описаны в Harris et al. *Front Immunol.* 2018 Apr 24; 9:889, а затем очищали посредством гель-экстракции.

[577] Секвенирование следующего поколения выполняли с использованием платформы MiSeq (Illumina) с 2×300 парно-концевыми считываниями. Чтобы обеспечить мультиплексирование образцов, добавляли индексирующие метки путем достройки праймера. Каждый образец покрывали примерно 100000 парных считываний, а те, которые показали выравнивание по менее чем 20 нуклеотидам с локусом человеческого Ig, исключали. Объединенные прямые и обратные считывания областей VH транслировали в открытые рамки считывания, а каркасные области и CDR-области, идентифицировали с помощью IGBLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>). Клонотипы (определяемые последовательностями белка CDR3 с по меньшей мере 80% сходством последовательностей) определяли для образцов с использованием агломеративной кластеризации. Клонотипы CDR3 ранжировали по проценту общего количества считываний в выборке, определенной этим клонотипом. Тех, которые характеризовались наибольшей численностью, относили к приоритетным для высокоэффективного клонирования в вектор экспрессии, содержащий характеризующуюся удаленным CH1 Fc-область человеческого IgG1, а валидирование проводили посредством секвенирования по Сэнгеру. Плазмидами трансформировали *E. coli*, выращиваемую в культуральной среде LB, а затем проводили очистку для обеспечения временной трансфекции клеток НЕК 293 в 96-луночном формате. После

нескольких дней экспрессии надосадочные жидкости, содержащие антитело, собирали и осветляли центрифугированием.

Высокоэффективный ELISA

[578] Способы по существу являются такими же, как описано в Harris et al. Front Immunol. 2018 Apr 24; 9:889. Вкратце, рекомбинантными белками на ночь при 4°C покрывали 96-луночные планшеты с использованием карбонат-бикарбонатного буфера VupH (человеческий IL-2R β , Acrobiosystems; IL-2R β яванского макака, Sino Biological). Затем планшеты промывали с помощью TBST (20 mM Трис, 150 mM NaCl, 0,05% Твин-20, pH 7,6) и блокировали блокирующим буфером (TBST с 1% сухого молока). Надосадочные жидкости НЕК 293, содержащие антитела, разбавляли 1:100 блокирующим буфером и добавляли в покрытые антигеном планшеты. Выявление связанных антител осуществляли с использованием меченого HRP вторичного антитела к человеческому Ig вместе с хемилюминесцентным субстратом.

[579] Люминесценцию определяли количественно (SpectraMax i3X, Molecular devices) и сигнал для каждой лунки нормализовали путем деления на среднюю фоновую люминесценцию лунок, покрытых антигеном, которые инкубировали с надосадочной жидкостью нетрансфицированных клеток НЕК 293.

Клеточные линии и PBMC

[580] Клетки M07e получали из DSMZ и выращивали в среде RPMI, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS), 1% пенициллина/стрептомицина и 10 нг/мл rhGM-CSF. Клетки HSC-F получали из The Nonhuman Primate Reagent Resource и культивировали в среде RPMI, дополненной 20% FBS, 1% пенициллина/стрептомицина и 55 мкМ β -меркаптоэтанола. 293-F получали из Gibco и выращивали в соответствии с их рекомендациями.

[581] Для создания стабильных клеточных линий, экспрессирующих человеческий IL-2R β или IL-2R β яванского макака, экспрессионные конструкции несли полноразмерную cDNA для антигена и селективную кассету NeoR. Затем каждую экспрессионную конструкцию линейаризовывали и использовали для электропорации клеток CHO. Через три дня после трансфекции клетки подвергали селекции в течение 3-6 недель с использованием обработок генетицином. В конце периода селекции все клеточные линии, являющиеся нетрансфицированными и относящиеся к отрицательному контролю, были уничтожены, в то время как в случае всех трансфицированных пулов наблюдали повторный рост, как и ожидалось для успешно трансфицированных пулов. Затем четыре пула каждой мишени анализировали посредством проточной цитометрии на связывание с антителом положительного контроля. Культуральной средой для клеток CHO являлась среда EX-CELL® 325 PF CHO, содержащая 8 mM L-глутамин, 0,1 мкг/л IGF-1, 5% диализированного FBS, 0,45 мг/мл генетицина и 0,45 мг/мл гигромицина. Клетки выращивали в суспензии и поддерживали при концентрации от $0,5 \times 10^6$ /мл до 2×10^6 /мл.

[582] PBMC человека выделяли самостоятельно из свежих лейкоферезных масс

(StemCell) посредством центрифугирования в градиенте плотности Ficoll® Paque Premium (GE Healthcare Life Sciences).

Связывание клеток посредством проточной цитометрии

[583] Все процедуры промывки и разведения клеток, антител и реагентов проводили с использованием проточного буфера (1X PBS, 1% BSA, 0,1% NaN₃, pH 7,4). Окрашивание проводили в круглодонном 96-луночном планшете (Corning), засеянном из расчета 100000 клеток/лунка, и все процедуры инкубации проводили при 4°C или на льду. Для процедур первичного и вторичного скрининга клетки инкубировали в течение 30 минут с предварительно разведенными тестируемыми антителами (вторичный скрининг и дозовые кривые) или с разведенными 1:5 надосадочными жидкостями НЕК 293, содержащими антитела (для процедур первичного скрининга и процедур скрининга в отношении разнообразия), в общем объеме, составляющем 50 мкл. Клетки дважды промывали проточным буфером по 200 мкл. Затем клетки инкубировали в течение 30 минут с детекторным антителом (PE-конъюгированный козий F(ab')₂ к человеческому IgG, Southern Biotech) при 0,625 мкг/мл в проточном буфере. После еще 2 промывок клетки ресуспендировали в конечном объеме 150 мкл проточного буфера. Клетки анализировали на проточном цитометре BD FACSCelesta или Guava easyCyte 8-HT. Собирали по меньшей мере 3000 событий и для средней геометрической интенсивности флуоресценции PE строили график, представленный кратностью относительно фона (клетки, инкубированные только со вторичным детекторным антителом). В некоторые процедуры вторичного скрининга, предусматривающие PBMC человека или яванского макака, включали дополнительное антитело к CD4 (BioLegend) и/или антитело к CD8 (BioLegend) для дальнейшей характеристики связывания клеток.

Выявление pSTAT5 посредством проточной цитометрии

[584] Для выявления pSTAT5 посредством проточной цитометрии PBMC получали либо из замороженной цельной крови (яванского макака), либо из замороженной LeukoPak (человека). Клетки размораживали, дважды промывали полной средой RPMI и ресуспендировали при 5×10^6 клеток/мл. Затем 100 мкл/лунка этих клеток переносили в стерильный 96-луночный круглодонный планшет (Corning) и его запечатывали с помощью AeraSeal™ (Excel Scientific). Затем планшет инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 1 часа. После инкубации в соответствующие лунки добавляли по 100 мкл предварительно разведенных антител (или IL-2/варианта IL-2). Конечную концентрацию IL-2 10 нМ (R&D Systems) использовали в контрольных лунках для обеспечения возможности выявления pSTAT5. Затем планшет повторно закрывали и возвращали в инкубатор на дополнительный 1 час. После инкубации клетки центрифугировали и дважды промывали с помощью PBS, предварительно охлажденного до 4°C. Затем клетки блокировали с помощью Human TruStain FcX (BioLegend), а затем окрашивали в течение 30 минут с помощью фиксируемого красителя для определения жизнеспособности (Invitrogen) и антител к CD3, CD4, CD8, CD25 и/или CD56. После окрашивания клетки снова центрифугировали и дважды промывали предварительно охлажденным PBS. Затем

клетки фиксировали добавлением 200 мкл/лунка буфера для фиксации (BioLegend) и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. После фиксации клетки центрифугировали и дважды промывали проточным буфером (1X PBS, 1% BSA, 0,1% NaN₃, pH 7,4). Затем клетки пермеабилizировали путем ресуспендирования в 200 мкл/лунка буфера True-Phos (BioLegend), предварительно охлажденного до -20°C, и переносили в морозильную камеру при -20°C на ночь. На следующее утро клетки центрифугировали, дважды промывали проточным буфером и затем окрашивали в течение 30 минут антителом к pSTAT5 (BD Biosciences). После двух дополнительных промывок клетки ресуспендировали в проточном буфере в количестве 125 мкл/лунка и данные получали на BD FACSCelesta.

Выявление Ki67 посредством проточной цитометрии

[585] Для выявления Ki67 посредством проточной цитометрии замороженные PBMC человека (ранее выделенные самостоятельно из LeukoPak) размораживали и выдерживали в состоянии покоя в течение ночи в полной среде RPMI при 1×10^6 клеток/мл. Утром в день анализа PBMC промывали полной RPMI и ресуспендировали при 1×10^6 клеток/мл. Затем в каждую лунку стерильного 96-луночного планшета добавляли 100 мкл PBMC, 50 мкл 0,16X ImmunoCult (StemCellTech) и 50 мкл разведенного антитела или rhIL-2 (R&D Systems). 0,5X ImmunoCult использовали для контролей окрашивания, чтобы обеспечить выявляемый сигнал Ki67 и CD25 для компенсации. Затем планшет закрывали и инкубировали при 37°C и 5% CO₂. Через 3 дня среду обновляли с помощью 100 мкл/лунка антитела соответствующей концентрации и ImmunoCult, а затем возвращали в инкубатор. Еще через 3 дня (всего 6 дней) клетки центрифугировали и дважды промывали с помощью PBS, предварительно охлажденного до 4°C. Затем клетки блокировали с помощью Human TruStain FcX (BioLegend), а затем окрашивали в течение 30 минут с помощью фиксируемого красителя для определения жизнеспособности (Invitrogen) и антител к CD3, CD4, CD8, CD25 и/или CD56. После окрашивания клетки снова центрифугировали и дважды промывали предварительно охлажденным PBS. Затем клетки фиксировали и пермеабилizировали в течение 1 часа с помощью 200 мкл/лунка рабочего раствора буфера для окрашивания FoxP3/транскрипционных факторов (Invitrogen). После пермеабилизации клетки центрифугировали, дважды промывали пермеабилizующим буфером, а затем окрашивали в течение 30 минут с помощью антитела к FoxP3 (BioLegend) и антитела к Ki67 (BioLegend). После двух дополнительных промывок клетки ресуспендировали в проточном буфере в количестве 125 мкл/лунка и данные получали на BD FACSCelesta.

Анализ высвобождения цитокинов в цельной крови

[586] Секрецию цитокинов выявляли с использованием свежей цельной человеческой крови (гепаринизированной), полученной из AllCells. Следующий способ адаптировали из В. Wolf et al. Cytokine 60 (2012) 828-837(61). 12,5 мкл 20X концентрированного (разбавленного в 1X PBS) тестируемого образца добавляли в каждую лунку стерильного круглодонного 96-луночного планшета. К полученному в каждую

лунку добавляли 237,5 мкл свежей цельной крови человека с минимальным пипетированием, чтобы уменьшить неспецифическую активацию. Затем планшет закрывали и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение ночи. На следующее утро планшет центрифугировали при 1800 g в течение 10 минут, а затем 50 мкл сыворотки крови переносили в 96-луночный микропланшет. Затем сыворотку незамедлительно тестировали с помощью MSD (№ K15010K-1 или специальный планшет U-Plex) или замораживали при -80°C для последующего тестирования.

Оценивание фармакокинетики (ПК) на мышах

[587] ПК каждого из BsAb-1 и BsAb-2 оценивали на 6 самцах мышей BALB/c после однократной инъекции 1 мг/кг в хвостовую вену (n=3 * 6 групп, Aragen Biosciences, Морган Хилл, Калифорния). Образцы сыворотки крови собирали в выбранные моменты времени на протяжении 14 дней после введения дозы.

[588] ПК BsAb-5 оценивали в двух группах из девяти самок мышей BALB/c после однократной инъекции в хвостовую вену 1 мг/кг или 10 мг/кг (9 мышей на группу с введением дозы, CrownBio, Сан-Диего, Калифорния). Образцы сыворотки крови собирали в выбранные моменты времени на протяжении 14 дней после введения дозы.

Исследование ускоренной GVHD на мышах

[589] Каждую мышь NSG с ослабленным иммунитетом (в возрасте 8-9 недель из Charles River, Франция) облучали 1,5 Гр в день -1 исследования. Мышей делили на 4 группы (n=5) и выполняли 2 независимых эксперимента с использованием 2 разных доноров РВМС. В день 0 исследования каждой мыши адоптивно переносили IV 20 миллионов РВМС человека от одного из 2 доноров и каждую мышь обрабатывали либо контролем в виде среды-носителя (100 мкл), 22 мкг rhIL-2 (350000 МЕ/мышь, Proleukin, Novartis) ежедневно, 1 мг/кг BsAb-1 два раза в неделю, либо 1 мг/кг BsAb-2 два раза в неделю. GVHD оценивали путем измерения потери массы с течением времени у всех животных. Животных подвергали эвтаназии, когда наблюдалась потеря массы тела на 20%.

[590] Во втором эксперименте мышей NSG (в возрасте 8-9 недель из Charles River, Франция) облучали 1,5 Гр в день -1 исследования. Мышей делили на 4 группы и выполняли 2 независимых эксперимента с использованием 2 разных доноров РВМС. В день 0 исследования каждой мыши адоптивно переносили IV 20 миллионов CSFE-меченных РВМС человека от одного из 2 доноров и каждую мышь обрабатывали либо контролем в виде среды-носителя (100 мкл) (n=7), 22 мкг rhIL-2 (350000 МЕ/мышь) ежедневно (n=6), 1 мг/кг BsAb-1 два раза в неделю (n=6), либо 1 мг/кг BsAb-2 два раза в неделю (n=6). Всех животных умерщвляли в день 5 исследования.

[591] Иммунофенотипирование привитых РВМС посредством проточной цитометрии проводили на суспензиях отдельных клеток, приготовленных из селезенки мыши в день умерщвления. Способ выявления был во многом таким же, как описанный выше способ выявления Ki67 посредством проточной цитометрии, но с использованием других панелей антител, чтобы лучше отличать РВМС человека от клеток-хозяев.

Поверхность клеток окрашивали с помощью антител к человеческим CD45, CD3, CD4, CD8, CD25, CD16, CD19 и/или CD69. После фиксации и пермеабиллизации некоторые клетки окрашивали антителом к человеческому FoxP3. Затем образцы собирали на проточном цитометре и анализировали с использованием программного обеспечения для анализа FlowJo.

[592] В случае BsAb-5 переносили 10 миллионов РВМС вместо 20 миллионов и мышей делили на 3 группы.

Фармакодинамическое (PD) исследование на яванских макаках

[593] Профили PD для BsAb-1 и BsAb-2 оценивали у двенадцати 2-4-летних яванских макак, ранее не подвергавшихся воздействию, после однократной вводимой IV (медленной болюсной) дозы, составляющей 0,03, 0,1 или 0,3 мг/кг. Каждая группа лечения содержала 1 самца и 1 самку яванского макака (Charles River Lab, США, Рино, Невада). Образцы крови собирали в выбранные моменты времени в течение 21 дня после введения дозы для анализов гематологических показателей, биохимических показателей сыворотки крови, цитокинов и конечных точек PD. После окончания исследования животных из исследования возвращали в общую колонию. Все процедуры были одобрены CRL IACUC и проводились в соответствии с Законом о защите животных, Руководством по уходу и использованию лабораторных животных и Управлением по защите лабораторных животных.

Иммунофенотипирование крови яванского макака

[594] Порцию крови в каждый момент времени сбора использовали для иммунофенотипирования и количественного определения посредством проточной цитометрии. Способ выявления Ki67 посредством проточной цитометрии был в основном таким же, как описано выше, но с использованием другой панели антител, реактивных по отношению к яванскому макаку. Поверхность клеток окрашивали с помощью антител к CD3, CD4, CD8, CD20, CD25 и CD159a. После фиксации и пермеабиллизации клетки окрашивали с помощью антител к FoxP3 и Ki67. Затем образцы собирали на проточном цитометре и анализировали с использованием программного обеспечения для анализа FlowJo.

[595] Одновременно часть каждого образца крови переносили в пробирки BD TruCount и осуществляли окрашивание CD45 для количественного определения абсолютного количества клеток периферической крови в режиме реального времени. Значения процентных долей подпопуляций клеток, полученные из результатов приведенного выше анализа крови, применяли к общему числу клеток из соответствующей пробирки TruCount.

ELISA α IgG4

[596] Сывороточные концентрации BsAb-1 и BsAb-2 в сыворотке крови мышей определяли с использованием ELISA с захватом антигена. Все процедуры промывки и разведения выполняли с использованием свежеприготовленного TBS-T (Accuris). Все объемы следует принимать равными 100 мкл/лунка, за исключением предусматриваемых

процедурами покрытия, блокирования и промывки, которые составляют 200 мкл/лунка. В ночь перед анализом планшеты с плоским дном Nunc MaxiSorp™ (Invitrogen) покрывали рекомбинантным человеческим белком IL2R γ , разведенным до 1 мкг/мл в карбонат-бикарбонатном буфере (Thermo Scientific) и оставляли при 4°C. На следующий день планшеты промывали 5 раз, а затем блокировали с помощью 1% BSA в течение 30 минут. Планшеты промывали один раз, а затем добавляли несколько разведений образцов сыворотки крови вместе с эталонным стандартом. Для построения стандартной кривой использовали исходные растворы известных концентраций BsAb-1 и BsAb-2. Через 1 час при комнатной температуре планшет промывали 8 раз, а затем добавляли биотинилированное антитело к человеческому IgG4-Fc (MABTECH), разведенное до 3 мкг/мл. Планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение дополнительных 30 минут, а затем снова промывали 8 раз. Затем планшеты инкубировали в течение 30 минут с HRP-стрептавидином (Thermo Scientific), разведенным 1:4000. После дополнительных 8 промываний планшеты инкубировали в темноте в течение 6 минут с 1-Step Ultra TMB (Thermo Scientific) при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением 100 мкл/лунка 2 н. серной кислоты. Поглощение оценивали при 450 нм и 570 нм.

Экспрессия и очистка белка

[597] Моноспецифические UniAb экспрессировали в клетках ExpiCHO в соответствии с инструкциями производителя (ThermoFisher A29133, стандартный протокол). Осветленные надосадочные жидкости собирали в день 7 и очищали с помощью магнитных гранул с белком А на платформе KingFisher Flex Platform (ThermoFisher). Антитела элюировали в 0,1 М цитрате, 0,1 М NaCl, 10% глицерине, 10% сахарозе, pH 3,5.

[598] Для экспрессии биспецифических UniAb клетки ExpiCHO трансфицировали двумя векторами экспрессии (векторы с "выступами и впадинами", векторы с "выступами" содержат С-концевую His-метку) и экспрессировали в клетках ExpiCHO в соответствии с инструкциями производителя с использованием протокола с высоким титром. Осветленные надосадочные жидкости собирали и антитела очищали с помощью IMAC (Ni Sepharose® Excel, Cytive Life Sciences), используя для элюирования градиент имидазола. Фракции, содержащие биспецифические UniAb к IL-2R $\beta\gamma$, объединяли, концентрировали и дополнительно очищали посредством катионного обмена с удалением любых примесей, связанных с продуктом (колонка Mono S® 10/100 GL (Cytiva Life Sciences)). Все антитела анализировали посредством SEC-UPLC и SDS-PAGE для подтверждения их размера и чистоты.

[599] Последовательность IL-2R γ яванского макака получали с сайта Uniprot.org (ID доступа UniProt: G7Q2Z6) и внеклеточный домен (аминокислоты Met1-Asn254) клонировали в патентованный вектор, содержащий эндогенную лидерную последовательность и С-концевую His-метку. Реагент IL-2R γ экспрессировали в клетках ExpiCHO в соответствии с инструкциями производителей (протокол высокого титра, ThermoFisher). Клетки собирали в день 8 и надосадочную жидкость подвергали SDS-

PAGE (NuPAGE 4-12% Bis Tris Gel) для проверки на наличие экспрессии целевого белка. Осветленный собранный материал очищали посредством ИМАС с использованием смолы Ni-Sepharose Excel (Cytiva Life Sciences), используя градиент имидазола для элюирования. Пики объединяли и количественно оценивали с помощью QiaXpert (Qiagen).

[600] Клонирование, экспрессию и очистку мутантного белка IL-2 (Т3А, F42А, Y45А, L72G, С125А) выполняли в Lake Pharma. С-концевую His-метку добавляли для обеспечения очистки посредством ИМАС с использованием стандартных процедур и элюирования градиентом имидазола.

Измерения скорости диссоциации на основе Octet

[601] Все измерения скорости диссоциации проводили на приборе Octet Qk384 (ForteBio) в 96-луночных микропланшетах при 25⁰ С с использованием сенсоров для захвата на основе Fc-специфичного антитела к IgG человека (АНС, 18-5005) со скоростью встряхивания 1000 оборотов в минуту. Для определения скорости диссоциации антитела загружали на сенсоры АНС при 5 мкг/мл. Затем следовало непродолжительное установление исходного уровня в буфере для кинетического анализа (0,02% Твин 20, 0,1% BSA, 0,05% азида натрия, 1X PBS). Выполняли измерения скорости диссоциации для следующего: человеческого IL-2R β (AcroBiosystems), человеческого IL-2R γ (Sino Biological), IL-2R β яванского макака (Sino Biological), IL-2R γ яванского макака (экспрессированного и очищенного самостоятельно с использованием системы экспрессии ExpiCHO с последующей очисткой Ni-NTA с использованием His-метки), мышинового IL-2R γ (Sino Biological), мышинового IL-2R β (Sino Biological), человеческого IL-2R α (Sino Biological), IL-4R (Sino Biological), IL-7R (Sino Biological), IL-9R (R&D Systems) и IL-21R (Sino Biological). Следующие антитела использовали в качестве положительных контролей для проверки связывания с мишенью и качества реагентов: антитело к человеческому IL-9R (R&D Systems), антитело к человеческому IL-21R (R&D Systems), антитело к человеческому IL-7R (R&D Systems) и антитело к человеческому IL-4Ra (R&D Systems). Затем загруженные сенсоры погружали в лунки, содержащие антиген при концентрации 100 нМ, для стадии ассоциации. Мониторинг диссоциации осуществляли в буфере для кинетического анализа. Поверхности для захвата регенерировали в течение 60 с. Программное обеспечение для анализа данных ForteBio использовали для сопоставления данных с моделью связывания 1:1 для определения скорости ассоциации и скорости диссоциации.

Кинетические измерения на основе Octet

[602] Все эксперименты по кинетическим измерениям проводили на приборе ForteBio Octet Qk384 с использованием сенсора для захвата на основе антитела к человеческому Fc (АНС, 18-5005). Биспецифические UniAb и антигены разбавляли до конечных концентраций буфером для кинетического анализа (0,02% Твин 20, 0,1% BSA, 0,05% азида натрия, 1X PBS). Кинетические измерения проводились в отношении следующих антигенов: человеческий IL-2RB (AcroBiosystems), человеческий IL-2RG (AcroBiosystems), IL-2RB яванского макака (Sino Biological), IL-2RG яванского макака

(экспрессированный и очищенный самостоятельно с использованием системы экспрессии ExpiCHO с последующей очисткой Ni-NTA с использованием His-метки). Антитела загружали на сенсоры АНС при 5 мкг/мл для максимальной загрузки. После короткой базовой линии в буфере для кинетического анализа сенсоры подвергали воздействию ряда концентраций аналита (от 7,8 нМ до 500 нМ) для стадии ассоциации, а для коррекции дрейфа сенсора использовали вычитание фона. Мониторинг диссоциации осуществляли в буфере для кинетического анализа. Поверхности для захвата регенерировали в течение 60 с. Все эксперименты проводили со встряхиванием при 1000 оборотах в минуту. Программное обеспечение для анализа данных ForteBio использовали для сопоставления данных с моделью связывания 1:1 для определения скорости ассоциации и скорости диссоциации. KD рассчитывали с использованием соотношения kd/ka . Кинетические данные для шести конструкций на основе биспецифических антител представлены на **фиг. 1**.

Анализ для определения биофизических характеристик (T_m , $Tagg$)

[603] T_m и $Tagg$ измеряли на платформе UNcle. Вкратце, 9 мкл каждого образца загружали в двух повторностях в Uni (кассету UNcle) и обрабатывали с температурным изменением от 20°C до 70°C с постоянной скоростью 1°C/мин. Программное обеспечение UNcle Analysis 3.1 использовали для расчета T_m каждого образца с использованием первой производной барицентрического среднего значения (BCM) интенсивности флуоресценции. $Tagg$ для каждого образца рассчитывали с использованием интенсивности рассеянного света при 266 нм.

Определение характеристик при температурном стрессе и характеристик стабильности

[604] Биспецифические молекулы UniAb концентрировали до 10 мг/мл в 20 мМ цитрате и 0,1 М NaCl, pH 6,2. Присутствие высокомолекулярных и низкомолекулярных частиц (% HMW и % LMW) определяли до и после температурного стресса в течение 1 месяца при 2-8°C и 37°C посредством SEC на аналитическом приборе ThermoFisher UltiMate™ 3000 UPLC.

Пример 1. Идентификация комбинаций биспецифических антител к IL-2R β с агонистической активностью

[605] Активация рецепторного комплекса IL-2 запускает каскад передачи сигнала, который приводит к фосфорилированию STAT5 (pSTAT5), транслокации димеров pSTAT5 в ядро и транскрипции генов, регулируемых STAT5 (M. Rickert, et al., Science 308, 1477-1480 (2005); G. C. Sim, et al., Cytokine Growth F R 25, 377-390 (2014)). В качестве первичного анализа для определения того, могут ли биспецифические антитела, нацеливающиеся на бета- и гамма-субъединицы IL-2R, индуцировать активацию передачи сигнала IL-2R, 5 связывающих плеч антитела к IL-2R β из уникальных семейств CDR3 и 5 связывающих плеч антитела к IL-2R γ из уникальных семейств CDR3 объединяли с получением 25 биспецифических UniAb для проведения комплексного скрининга в отношении агонистической активности. Биспецифические UniAb экспрессировали на

подвергнутом сайленсингу и стабилизированном Fc IgG4 человека (удаленный домен СН1) с использованием технологии "выступы-во-впадины" для облегчения образования гетеродимера тяжелых цепей с одной VH к IL-2R β на плече с "выступом" и одной VH к IL-2R γ на плече с "впадиной" (J. B. B. Ridgway et al., *Protein Eng Des Sel* 9, 617-621 (1996); S. M. Canfield, et al., *J Exp Medicine* 173, 1483-1491 (1991); D. Xu et al., *Cell Immunol* 200, 16-26 (2000); J. W. Bloom et al., *Protein Sci* 6, 407-415 (1997); M. P. Reddy et al., *J Immunol* 164, 1925-1933 (2000); A. M. Merchant et al., *Nat Biotechnol* 16, 677-681 (1998)).

[606] Анализ фосфо-проточной цитометрии использовали для измерения и сравнения фосфорилирования STAT5 с помощью 25 комбинаций UniAb к IL-2R β γ по сравнению с rhIL-2 на CD8⁺ Т-клетках человека. Фосфорилирование STAT5 не наблюдали ни для одного из моноспецифических UniAb к IL-2R β или к IL-2R γ . Аналогичным образом, фосфорилирование STAT5 также не наблюдали, когда моноспецифические UniAb к IL-2R β и к IL-2R γ тестировали в виде смеси в анализе pSTAT5 (**фиг. 2**, панель В). Напротив, биспецифические UniAb с одним плечом антитела к IL-2R β и одним плечом антитела к IL-2R γ демонстрировали различные уровни агонистической активности, кратко описанные на **фиг. 2**, панель А. Интересно отметить, что способность индуцировать агонистическую активность в отношении фосфорилирования STAT5, по-видимому, сильно зависела от плеча антитела к IL-2R β , присутствующего в биспецифической комбинации, тогда как степень агонизма, по-видимому, зависела от плеча антитела к IL-2R γ . Данные по контролю показаны на **фиг. 2**, панель С.

[607] Чтобы идентифицировать антитела с более широким диапазоном агонистической активности, иницировали вторичный скрининг в отношении разнообразия для изучения других уникальных последовательностей VH в 3 из 4 ведущих семейств клонотипов CDR3, идентифицированных в ходе биспецифического скрининга в отношении активности STAT5. Эти дополнительные последовательности VH были выбраны из ведущих семейств клонотипов CDR3 и содержат вариации последовательностей в CDR1, CDR2 и каркасных областях. В общей сложности дополнительные 157 уникальных представителей семейства прошли второй цикл высокоэффективной сборки генов, экспрессии и были оценены на предмет связывания с клетками, экспрессирующими IL-2R. В случае IL-2R β в ходе скрининга в отношении разнообразия идентифицировали дополнительные 33 представителя семейства F09 IL-2R β и дополнительные 22 представителя семейства F18 IL-2R β , которые связывались с клетками, экспрессирующими IL-2R β человека и яванского макака. Идентифицировали дополнительные 29 представителей семейства F16 IL-2R γ , которые связывались с рекомбинантным белком IL-2R γ человека и яванского макака и на клетках при скрининге в отношении разнообразия. Этот большой и разнообразный набор новых IL-2R-связывающих UniAb позволил впоследствии осуществить идентификацию ряда ведущих биспецифических комбинаций применительно к IL-2R β γ с диапазоном функциональной активности.

Пример 2. In vitro характеристика биспецифических UniAb к IL-2R $\beta\gamma$

[608] На основании результатов первичного и вторичного скрининга в отношении связывания, а также фосфорилирования STAT5, наблюдаемого при комплексном скрининге биспецифических UniAb, 6 биспецифических молекул UniAb к IL-2R $\beta\gamma$ были выбраны для дополнительной in vitro характеристики. 6 биспецифических UniAb к IL-2R $\beta\gamma$ эффективно связывались с Т-клетками как человека, так и яванского макака при диапазоне значений EC50 (**фиг. 3**). Ни одно из 6 биспецифических UniAb не связывалось с другими общими партнерами применительно к гамма-цепи (IL-4R, IL-7R, IL-9R или IL-21R) или IL-2R α по данным скорости диссоциации согласно Octet.

[609] Способность биспецифических UniAb к IL-2R $\beta\gamma$ стимулировать передачу сигналов IL-2R в CD4+ Т-, CD8+ Т- и NK-клетках человека подтверждали зависимым от дозы увеличением фосфорилирования STAT5 по сравнению с rhIL-2 и вариантом rhIL-2, который содержит мутации (F42A, Y45A, L72G), которые, как было показано, нарушают связывание с IL-2R α с сохранением при этом способности связывать и активировать рецептор IL-2R $\beta\gamma$ с промежуточной аффинностью (**фиг. 4**, панели А-С) (С. Klein et al., Oncoimmunology 6:3 e1277306 (2017)). На CD8+ Т-клетках биспецифические UniAb демонстрируют диапазон значений EC50 в анализе pSTAT5, при этом несколько конструкций (BsAb-1, BsAb-3, BsAb-4) демонстрируют активность, почти эквивалентную активности rhIL-2 и варианта rhIL-2 (**фиг. 4**, панель А). Однако это резко контрастирует с уровнем pSTAT5 в CD4+CD25+FoxP3+ Т-регуляторных клетках, где биспецифические UniAb демонстрируют значительно более низкую эффективность по сравнению с rhIL-2 на клетках, которые экспрессируют высокие уровни IL-2R α (**фиг. 4**, панели С-Д). Таким образом, биспецифические UniAb к IL-2R $\beta\gamma$ избегают преимущественной активации Т-reg, что является ключевым функциональным критерием для этих молекул. Также было подтверждено, что все 6 биспецифических UniAb активируют передачу сигнала IL-2R на Т-клетках яванского макака, что сделало яванских макаков подходящей моделью на основе отличных от человека приматов в последующих исследованиях (**фиг. 4**, панель Е).

[610] Для дальнейшего сравнения функциональной активности 6 биспецифических UniAb и rhIL-2 проводили анализ клеточной пролиферации. В ответ на обработку биспецифическими агонистами IL-2R UniAb или контрольными цитокинами IL-2 иммунные эффекторские клетки (Т- и NK-клетки, полученные из РВМС здорового донора) демонстрировали зависимость от дозы пролиферацию (**фиг. 5**, панели А-Д). В то время как наблюдали диапазон эффективностей пролиферации CD8+ Т-клеток и NK-клеток в РВМС, обработанных биспецифическими UniAb к IL-2R $\beta\gamma$, некоторые (BsAb-1, BsAb-3, BsAb-4) показали индукцию пролиферации на уровнях, аналогичных rhIL-2 и контрольному варианту rhIL-2, при этом для всех молекул достигались одинаковые уровни максимальной пролиферации (**фиг. 5**, панели А-В). Напротив, rhIL-2 характеризовался большей активностью, чем биспецифические агонисты UniAb и контрольный вариант rhIL-2, по отношению к клеткам CD4+ (включая Т-reg) (**фиг. 5**, панели С-Д).

[611] Профили высвобождения цитокинов биспецифических агонистов IL-2R UniAb по сравнению с rhIL-2 оценивали в *ex vivo* анализе цельной крови человека. После 24-часовой инкубации в присутствии биспецифических UniAb к IL-2R $\beta\gamma$ или rhIL-2 для всех тестируемых образцов наблюдали зависимое от дозы повышение уровней IFN- γ , TNF- α , IL-6 и IL-8 (**фиг. 6**, панели A-D). Два из биспецифических UniAb (BsAb-3 и BsAb-4) индуцировали уровни цитокинов (максимальная концентрация или EC50), являющиеся такими же или превышающие уровни rhIL-2, в случае всех тестируемых цитокинов, но остальные четыре индуцировали уровни ниже, чем в случае контрольного цитокина.

[612] В целом, идентифицировали шесть биспецифических антител к IL-2R $\beta\gamma$, характеризующихся диапазоном агонистической активности. BsAb-1 демонстрирует агонистическую активность на аналогичном уровне, что и в случае rhIL-2 в иммунных эффекторных клетках, измеренную по фосфорилированию STAT5 и в анализе пролиферации. Напротив, в тех же *in vitro* анализах BsAb-2 демонстрирует пониженную эффективность по сравнению с rhIL-2 и BsAb-1. Оба антитела демонстрировали низкую агрегацию, измеренную посредством SEC, характеризовались благоприятными температурами плавления и являлись стабильными при 37°C в течение одного месяца (**фиг. 9**). Эти результаты в сочетании с благоприятными профилями высвобождения цитокинов у BsAb-1 и BsAb-2 привели к выбору этих двух биспецифических антител для дальнейшей характеристики *in vivo*.

Пример 3. *In vivo* характеристика биспецифических UniAb к IL-2R $\beta\gamma$, представляющих собой BsAb-1 и BsAb-2

[613] Перед проведением функциональных *in vivo* исследований на мышах измеряли *in vivo* стабильность и фармакокинетику биспецифических антител. Наблюдаемый 5-7-дневный период полужизни каждого биспецифического антитела соответствует периоду полужизни человеческого антитела IgG4 у мышей (**фиг. 8**, панель A) (R. Deng et al., *Mabs* 3, 61-66 (2011)). Для оценки функциональной активности биспецифических антител *in vivo* использовали модель ускоренной болезни "трансплантат против хозяина" (GVHD) для сравнения функциональной активности BsAb-1, BsAb-2 и rhIL-2 (**фиг. 10**, панели A-C). В первом эксперименте облученным мышам NSG прививали человеческие РВМС, а затем мышей обрабатывали либо средой-носителем, либо rhIL-2 ежедневно, либо одним из двух биспецифических агонистических антител два раза в неделю до умерщвления. Как и ожидалось, у животных, получавших обработку контролем в виде среды-носителя, наблюдали начало GVHD, измеренное по потере массы тела, около дня 20 и их умерщвляли с 20% потерей массы тела примерно в день 35. Напротив, у животных, обработанных биспецифическими агонистическими антителами к IL-2R $\beta\gamma$ (BsAb-1, BsAb-2), а также rhIL-2, GVHD проявлялась примерно в день 8, и их умерщвляли с 20% потерей массы тела между днями 9 и 13, что указывает на ускорение GVHD по сравнению с контролем в виде среды-носителя, что соответствует усиленной активации иммунных эффекторных клеток у обработанных мышей (**фиг. 10**, панель B).

[614] Второе исследование проводили с целью непосредственного измерения

способности BsAb-1 и BsAb-2 стимулировать пролиферацию иммунных эффекторных клеток *in vivo*. Аналогично первому эксперименту, облученным мышам NSG прививали РВМС человека, которые являлись мечеными с помощью CSFE, и их обрабатывали средой-носителем, rhIL-2, BsAb-1 или BsAb-2. После дня 5 обработки собирали селезенки и сравнивали пролиферацию CD8⁺ Т- и CD4⁺ Т-клеток у 4 групп лечения путем измерения окрашивания CSFE в различных популяциях лимфоцитов. Оба из BsAb-1 и BsAb-2 демонстрировали значительно большее количество пролиферирующих CD8⁺ Т-клеток по сравнению с rhIL-2 и контролем в виде среды-носителя (**фиг. 10**, панель С). CD4⁺ Т-клетки размножались в меньшей степени, однако значительное повышение пролиферации CD4⁺ Т-клеток наблюдали у мышей, которых обрабатывали с помощью BsAb-2, по сравнению с контролем в виде среды-носителя.

[615] Важным аспектом доклинического оценивания агонистов на основе биспецифических антител являлось определение яванских макаков в качестве подходящей *in vivo* модели для измерения фармакодинамики молекул. Для определения функциональной эквивалентности человека и яванского макака подтверждали, что биспецифические антитела активируют передачу сигнала pSTAT5 *ex vivo* в первичных Т-клетках яванского макака на том же уровне, что наблюдали в первичных Т-клетках человека (**фиг. 4**, панели С и Е). После установления функциональной эквивалентности между человеком и яванским макаком проводили исследование на яванских макаках без соблюдения GLP для дальнейшего изучения активности BsAb-1 и BsAb-2 *in vivo* на модели отличного от человека примата. Два биспецифических агонистических антитела вводили яванским макакам в группах по 2 особи, которые получали однократную внутривенную (медленную болюсную) дозу либо BsAb-1, либо BsAb-2, составляющую 0,03, 0,1 или 0,3 мг/кг. При всех дозах обеих молекул наблюдали заметную экспансию периферических CD8⁺ Т- и NK-клеток (**фиг. 11**). После первоначального временного снижения количеств лимфоцитов CD8⁺ Т-, NK-клетки и, в меньшей степени, CD4⁺ Т-клетки демонстрировали зависимые от дозы пролиферацию и экспансию в крови, достигающие пика приблизительно в дни 4-7, а затем около дня 14 возвращающиеся к исходным уровням (**фиг. 11**, панели А-С, F-H). Важно отметить, что не наблюдали выраженной экспансии CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Т-регуляторных клеток, что согласуется с тем, что биспецифические агонистические антитела избегают преимущественной активации тримерного рецептора IL-2 (**фиг. 11**, панели D, I). Этот эффект был дополнительно подтвержден соотношением CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺ Т-клеток, которое было смещено в пользу подпопуляции CD8⁺ Т-клеток (**фиг. 11**, панель K). Более того, агонистические антитела к IL-2Rβγ хорошо переносились обезьянами при всех протестированных уровнях доз без каких-либо признаков синдрома утечки жидкости из сосудов или других явных токсических эффектов.

Пример 4. *In vivo* характеристика BsAb-5, представляющего собой биспецифическое UniAb к IL-2Rβγ

[616] Перед проведением функциональных *in vivo* исследований на мышах

измеряли *in vivo* стабильность и фармакокинетику биспецифических антител при двух уровнях доз: 1 мг/кг и 10 мг/кг. Наблюдаемый 5-дневный период полужизни BsAb-5 (IL2RB_F09K**IL2RG_F16B) соответствует периоду полужизни человеческого антитела IgG4 у мышей (**фиг. 12**, панели А и В) (R. Deng et al., *Mabs* 3, 61-66 (2011)). Для оценки функциональной активности биспецифического антитела *in vivo* использовали модель ускоренной болезни "трансплантат против хозяина" (GVHD) для сравнения функциональной активности BsAb-5 и rhIL-2 (**фиг. 13-14**). В первом эксперименте облученным мышам NSG прививали человеческие PBMC, а затем мышей обрабатывали либо средой-носителем, либо rhIL-2 ежедневно, либо BsAb-5 два раза в неделю до умерщвления. Как и ожидалось, у животных, получавших обработку контролем в виде среды-носителя, наблюдали начало GVHD, измеренное по потере массы тела, около дня 20 и их умерщвляли с 20% потерей массы тела примерно в день 35. Напротив, у животных, обработанных BsAb-5, а также у животных, обработанных rhIL-2, GVHD проявлялась примерно в день 8, и их умерщвляли с 20% потерей массы тела между днями 9 и 13, что указывает на ускорение GVHD по сравнению с контролем в виде среды-носителя, что соответствует усиленной активации иммунных эффекторных клеток у обработанных мышей (**фиг. 14**).

[617] Второе исследование проводили с целью непосредственного измерения способности BsAb-5 стимулировать пролиферацию иммунных эффекторных клеток *in vivo*. Как и в первом эксперименте, облученным мышам NSG прививали PBMC человека, меченные CPD450, и обрабатывали средой-носителем, rhIL-2 или BsAb-5. После дня 5 обработки собирали селезенки и сравнивали пролиферацию CD8⁺ Т-клеток, CD4⁺ Т-клеток и NK-клеток у 3 групп лечения путем измерения разведений CPD450 в различных популяциях. Во всех трех измеренных типах клеток BsAb-5 индуцировало значительно большую пролиферацию, чем rhIL-2 или контроль в виде среды-носителя (**фиг. 15**, панели А-С).

[618] Важным аспектом доклинического оценивания агонистов на основе биспецифических антител являлось определение яванских макаков в качестве подходящей *in vivo* модели для измерения фармакодинамики молекул. Для определения функциональной эквивалентности человека и яванского макака подтверждали, что биспецифические антитела активируют передачу сигнала pSTAT5 *ex vivo* в первичных Т-клетках яванского макака на том же уровне, что наблюдали в первичных Т-клетках человека (**фиг. 4**, панели С и Е). После установления функциональной эквивалентности между человеком и яванским макаком проводили исследование на яванских макаках без соблюдения GLP для дальнейшего изучения активности BsAb-5 *in vivo* на модели отличного от человека примата. BsAb-5 вводили яванским макакам однократной внутривенной (медленной болюсной) дозой, составляющей 0,1, 0,3 или 0,5 мг/кг. Обезьяны получали дозы в группах по 2 особи для первых двух уровней дозы и в группе из 4 особей для уровня дозы 0,5 мг/кг. При всех уровнях дозы наблюдали заметную экспансию периферических CD8⁺ Т-, NK- и NKT-клеток (**фиг. 16**, панели А-Ф). После

первоначального временного снижения количеств лимфоцитов CD8⁺ T-, NK-, NKT-клетки и, в меньшей степени, CD4⁺ T-клетки демонстрировали зависимые от дозы пролиферацию и экспансию в крови, достигающие пика приблизительно в дни 4-7, а затем около дня 14 возвращающиеся к исходным уровням (фиг. 16, панели A-H). Важно отметить, что не наблюдали преимущественной экспансии CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T-регуляторных клеток, что согласуется с тем, что биспецифические агонистические антитела избегают преимущественной активации тримерного рецептора IL-2 (фиг. 16, панели A-J). Кроме того, B-клетки, которые служат применимым отрицательным контролем ввиду отсутствия у них экспрессии рецептора IL-2, не пролиферировали в ответ на BsAb-5 (фиг. 16, панели K-L). Более того, агонистические антитела к IL-2R β γ хорошо переносились обезьянами при дозе до 0,5 мг/кг без каких-либо признаков синдрома утечки жидкости из сосудов или других явных токсических эффектов.

[619] Хотя в данном документе были показаны и описаны неограничивающие иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения, специалистам в данной области техники будет очевидно, что такие варианты осуществления приведены исключительно в качестве примера. Специалистам в данной области техники будут очевидны многочисленные варианты, изменения и замены без отклонения от настоящего изобретения. Следует учитывать, что при практической реализации настоящего изобретения можно использовать различные альтернативы вариантам осуществления настоящего изобретения, описанным в данном документе. Предполагается, что последующая формула изобретения определяет объем настоящего изобретения, и что таким образом охватываются способы и структуры в пределах объема данных пунктов формулы изобретения и их эквивалентов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее варибельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 1-3, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 4-6, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 7-10.

2. Антитело по п. 1, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

3. Антитело по п. 1 или п. 2, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 1-3, и

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 4-6, и

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 7-10.

4. Антитело по любому из пп. 1-3, содержащее:

(a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8; или

(c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10.

5. Антитело по любому из пп. 1-4, содержащее варибельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-14.

6. Антитело по любому из пп. 1-5, содержащее последовательность варибельной области тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 11-14.

7. Антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее варибельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G G S I S S S X1 W (SEQ ID NO: 26),

где X1 представляет собой D или N;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I X2 H S G S T (SEQ ID NO: 27),

где X2 представляет собой D или S, и

(c) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

X3 R G X4 W E L X5 D A F D I (SEQ ID NO: 28),

где X3 представляет собой G или A;

X4 представляет собой S или Q, и

X5 представляет собой S или T.

8. Антитело, которое связывается с IL2RB, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F T F S X1 Y G (SEQ ID NO: 29),

где X1 представляет собой S или T;

(b) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S Y D G S N X2 (SEQ ID NO: 30),

где X2 представляет собой K или R, и

(c) последовательность CDR3, характеризующуюся следующей формулой:

A R D L D Y D X3 L T G D P V G G F D I (SEQ ID NO: 31),

где X3 представляет собой V или I.

9. Антитело, которое связывается с IL2RG, содержащее переменную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) последовательность CDR1, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 15-16, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 17-19, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую две замены или меньше в любой из SEQ ID NO: 20-21.

10. Антитело по п. 9, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и/или

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и/или

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

11. Антитело по п. 9 или п. 10, содержащее:

(a) последовательность CDR1, содержащую любую из SEQ ID NO: 15-16, и

(b) последовательность CDR2, содержащую любую из SEQ ID NO: 17-19, и

(c) последовательность CDR3, содержащую любую из SEQ ID NO: 20-21.

12. Антитело по любому из пп. 9-11, содержащее:

(a) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(b) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(c) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20; или

(d) последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15, последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

13. Антитело по любому из пп. 9-12, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 22-25.

14. Антитело по любому из пп. 9-13, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO: 22-25.

15. Антитело, которое связывается с IL2RG, содержащее вариабельную область тяжелой цепи, содержащую:

(а) последовательность CDR1, характеризующуюся следующей формулой:

G F X1 X2 X3 X4 Y Y (SEQ ID NO: 32),

где X1 представляет собой T или I;

X2 представляет собой F или V;

X3 представляет собой S, N или G, и

X4 представляет собой D или N;

(б) последовательность CDR2, характеризующуюся следующей формулой:

I S X5 S G X6 X7 I (SEQ ID NO: 33),

где X5 представляет собой S или N;

X6 представляет собой D, S, G или N, и

X7 представляет собой T или I, и

(с) последовательность CDR3, содержащую последовательность ARGDAVSITGDY (SEQ ID NO: 20).

16. Антитело по любому из пп. 1-15, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 присутствуют в каркасной области человеческой VH.

17. Антитело по любому из пп. 1-16, где антитело является полиспецифическим.

18. Антитело по любому из пп. 1-17, где антитело является биспецифическим.

19. Антитело по любому из пп. 1-18, где антитело связывается с IL2RB и IL2RG.

20. Антитело, содержащее:

первую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 7, и

вторую вариабельную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

21. Антитело по п. 20, где первая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 11, и вторая вариабельная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22.

22. Антитело по п. 20 или п. 21, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 11, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

23. Антитело по любому из пп. 20-22, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 53, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 61.

24. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

25. Антитело по п. 24, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23.

26. Антитело по п. 24 или п. 25, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

27. Антитело по любому из пп. 24-26, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 62, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 63.

28. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 2;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 5 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 9, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

29. Антитело по п. 28, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 13, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 23.

30. Антитело по п. 28 или п. 29, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 13, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 23.

31. Антитело по любому из пп. 28-30, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 64, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 65.

32. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 3;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 6 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 10, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 17 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

33. Антитело по п. 32, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 22.

34. Антитело по п. 32 или п. 33, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 14, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 22.

35. Антитело по любому из пп. 32-34, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 66, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 67.

36. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 16;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 18 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 20.

37. Антитело по п. 36, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 24.

38. Антитело по п. 36 или п. 37, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 24.

39. Антитело по любому из пп. 36-38, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 34, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 35.

40. Антитело, содержащее:

первую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RB, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 1;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 4 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 8, и

вторую переменную область тяжелой цепи, которая связывается с IL2RG, содержащую:

последовательность CDR1 под SEQ ID NO: 15;

последовательность CDR2 под SEQ ID NO: 19 и

последовательность CDR3 под SEQ ID NO: 21.

41. Антитело по п. 40, где первая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 25.

42. Антитело по п. 40 или п. 41, где первая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 12, и вторая переменная область тяжелой цепи содержит SEQ ID NO: 25.

43. Антитело по любому из пп. 40-42, содержащее первый полипептид, содержащий SEQ ID NO: 36, и второй полипептид, содержащий SEQ ID NO: 37.

44. Антитело по любому из пп. 20, 24, 28, 32, 36 или п. 40, где

последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 в первой переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH, и/или

последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 во второй переменной области тяжелой цепи присутствуют в каркасной области человеческой VH.

45. Антитело по любому из пп. 1-22, 24-26, 28-30, 32-34, 36-38, 40-42 или п. 44, где антитело содержит вариантную Fc-область.

46. Антитело по п. 45, где вариантная Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу.

47. Антитело по любому из пп. 1-22, 24-26, 28-30, 32-34, 36-38, 40-42 или пп. 44-46, где антитело содержит последовательность константной области тяжелой цепи в отсутствие последовательности CH1.

48. Антитело по любому из пп. 1-22, 24-26, 28-30, 32-34, 36-38, 40-42 или пп. 44-47, где антитело содержит константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3.

49. Антитело по п. 48, где шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 54) или вариантную последовательность шарнирной области человеческого IgG4, содержащую мутацию S228P (SEQ ID NO: 55).
50. Антитело по п. 48 или п. 49, где домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 56) или вариантный домен CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A.
51. Антитело по любому из пп. 48-50, где домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 58); вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W, или вариантную последовательность домена CH3 человеческого IgG4, содержащую T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.
52. Антитело по любому из пп. 1-51, где антитело представляет собой человеческое антитело и/или выделенное антитело.
53. Антитело по любому из пп. 1-52, где антитело представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи.
54. Антитело по любому из пп. 1-53, где антитело характеризуется аффинностью к IL2R с Kd от приблизительно 10^{-11} М до около приблизительно 10^{-6} М, и/или антитело характеризуется аффинностью к IL2RB с Kd от приблизительно 10^{-8} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-7}$ М, и/или антитело характеризуется аффинностью к IL2RG с Kd от приблизительно 10^{-9} М до около приблизительно $2,5 \times 10^{-8}$ М.
55. Антитело по любому из пп. 1-54, где антитело функционирует так же, как и агонист бета/гамма-рецептора IL2.
56. Фармацевтическая композиция, содержащая: антитело по любому из пп. 1-55 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
57. Фармацевтическая композиция по п. 56, где фармацевтическая композиция адаптирована для внутривенной или подкожной доставки.
58. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективной дозы антитела по любому из пп. 1-55 или фармацевтической композиции по п. 56 или п. 67.
59. Способ по п. 58, где антитело или фармацевтическую композицию вводят в сочетании со схемой химиотерапии.
60. Способ стимулирования димерного рецепторного комплекса IL2RB/IL2RG на

иммунной клетке и/или стимулирования передачи сигнала П2R в иммунной клетке, при этом способ включает приведение иммунной клетки в контакт с антителом по любому из пп. 1-55 или фармацевтической композицией по п. 56 или п. 57.

По доверенности

Фиг. 1

Название	Кинетика			
	KD IL2RB (M)		KD IL2RG (M)	
	<i>Человек</i>	<i>Яванский макак</i>	<i>Человек</i>	<i>Яванский макак</i>
IL2RB_F09C**IL2RG_F16A	1,85E-08	1,07E-08	1,79E-09	4,87E-09
IL2RB_F09G**IL2RG_F16B	9,34E-08	1,67E-08	1,71E-08	5,02E-08
IL2RB_F09G**IL2RG_F16C	9,67E-08	1,60E-08	1,43E-09	3,58E-09
IL2RB_F09G**IL2RG_F18A	8,24E-08	1,73E-08	2,93E-09	5,81E-09
IL2RB_F09K**IL2RG_F16B	1,82E-07	1,65E-08	2,01E-08	4,15E-08
IL2RB_F18E**IL2RG_F16A	5,38E-08	5,52E-08	1,88E-09	5,42E-09

Фиг. 2А

Биспецифические

pSTAT5 F/B: CD8 Т-клетки					
	IL2RB F09B	IL2RB F17A	IL2RB F18A	IL2RB F20A	IL2RB F21A
IL2RG_F05B					
IL2RG_F16A					
IL2RG_F18A					
IL2RG_F19A					
IL2RG_F20A					

Фиг. 2С

(+) Контроль

	CD8
IL-2 (50 нМ)	

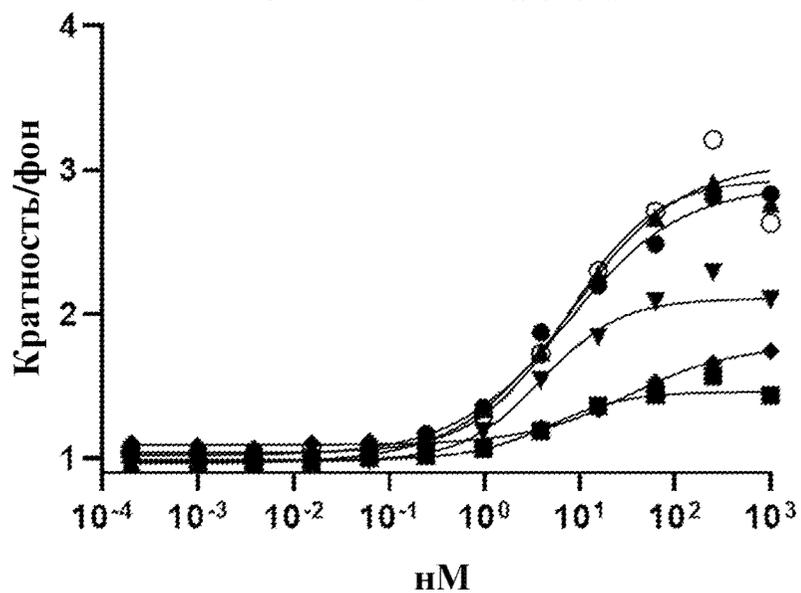
Фиг. 2В

Смесь

pSTAT5 F/B: CD8 Т-клетки						
	IL2RB F09B	IL2RB F17A	IL2RB F18A	IL2RB F20A	IL2RB F21A	-
IL2RG_F05B						
IL2RG_F16A						
IL2RG_F18A						
IL2RG_F19A						
IL2RG_F20A						
-						

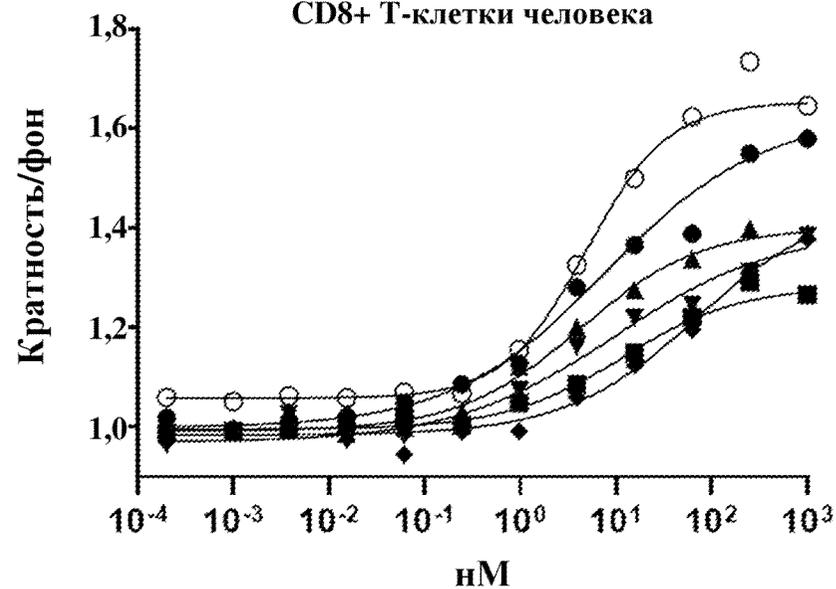
Фиг. 3А

Связывание с
клетками
CD4+ Т-клетки человека



Фиг. 3В

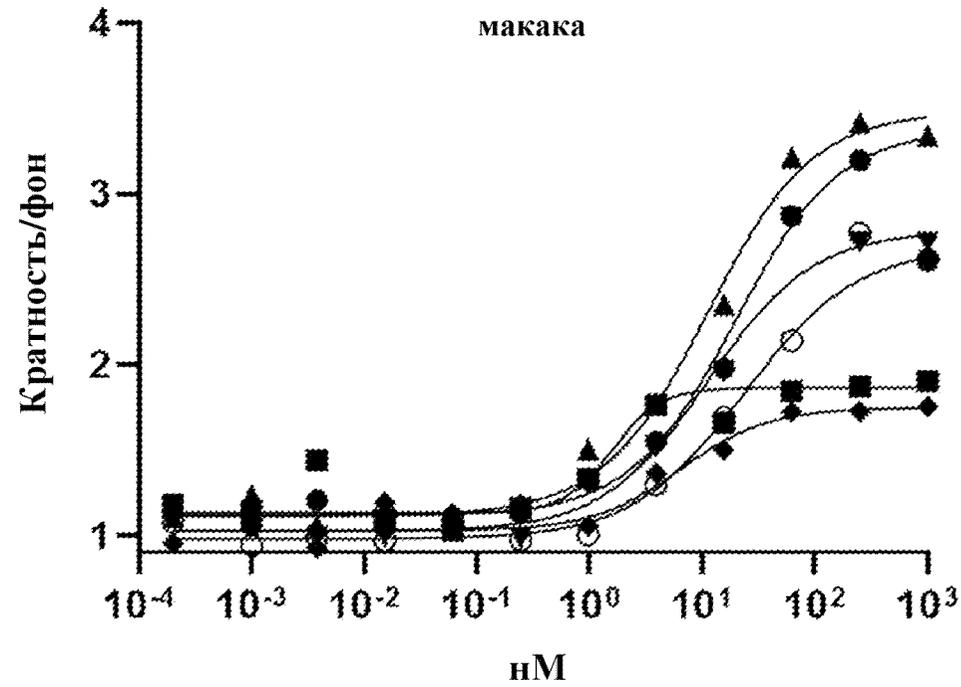
Связывание с
клетками
CD8+ Т-клетки человека



- IL2RB_F09C**IL2RG_F16A ▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B
- IL2RB_F09G**IL2RG_F16B ▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A ○ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

Фиг. 3С

Связывание с
клетками
CD8+ Т-клетки яванского
макака



● IL2RB_F09C**IL2RG_F16A

▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C

◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B

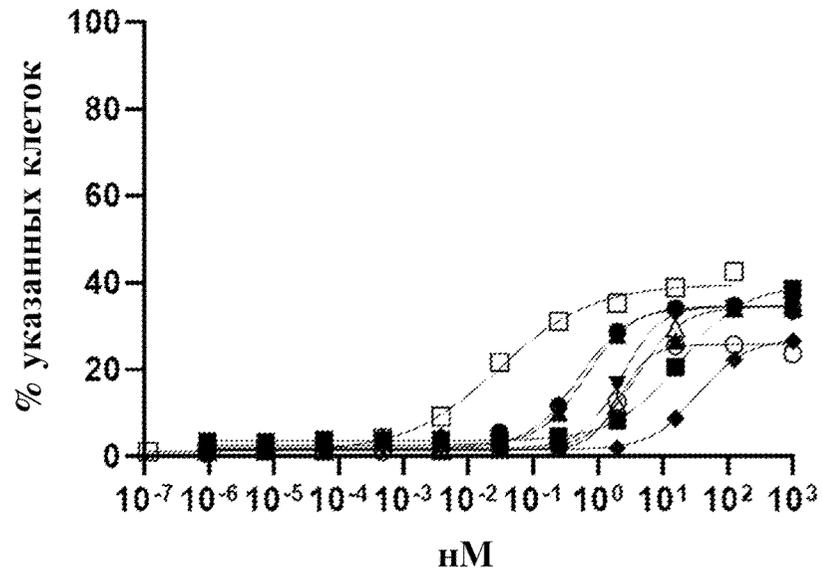
■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B

▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

⊙ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

Фиг. 4А

pSTAT5
CD4+ Т-клетки человека



● IL2RB_F09C**IL2RG_F16A
■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B

▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C
▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B

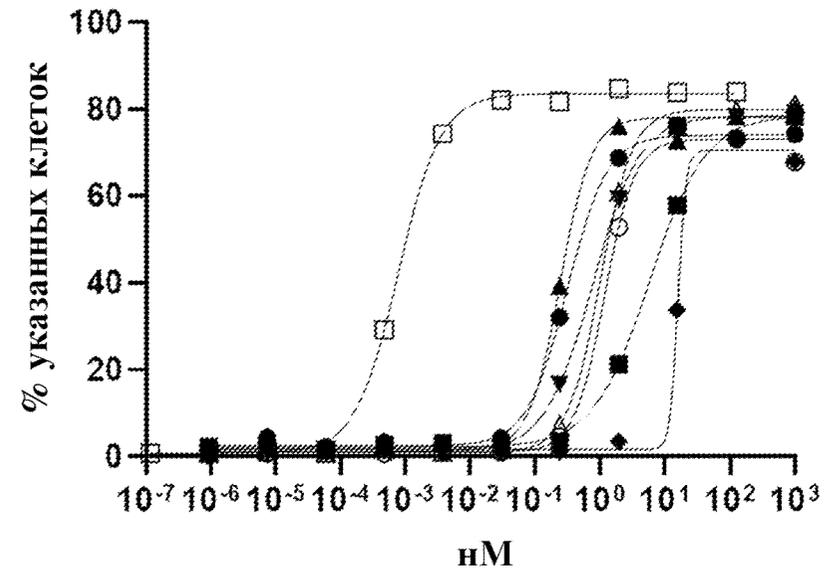
○ IL-2

◇ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

△ Вариант IL-2

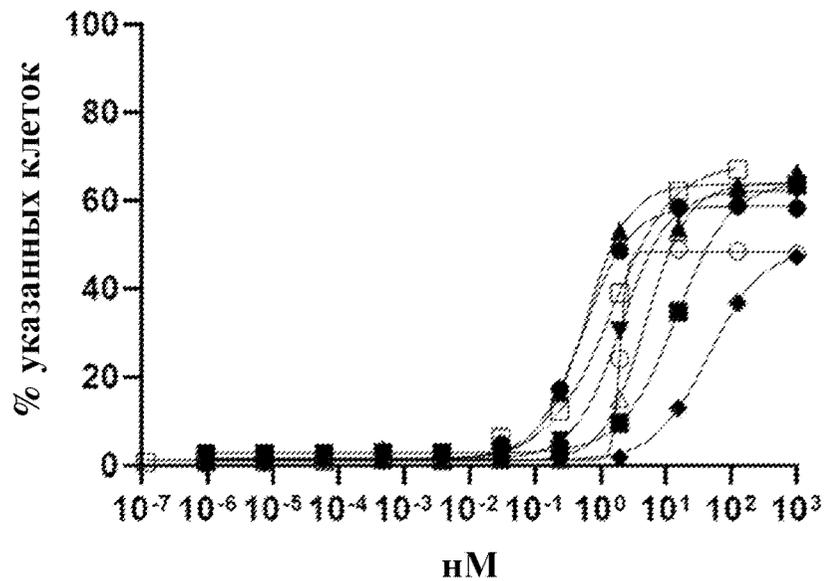
Фиг. 4В

pSTAT5
CD4+CD25+ Т-клетки человека



Фиг. 4С

рSTAT5
CD8+ Т-клетки человека

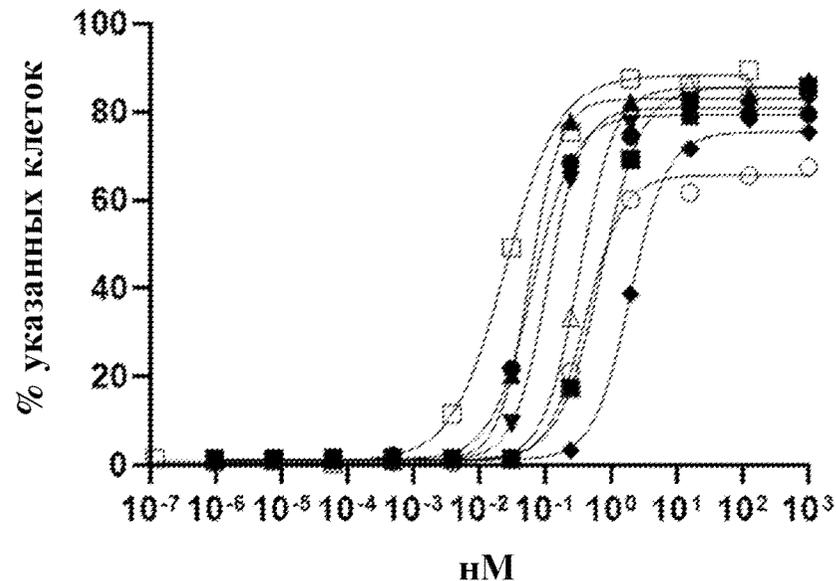


◆ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A
■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B

▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C
▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

Фиг. 4D

рSTAT5
CD56hi NK-клетки человека



◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B

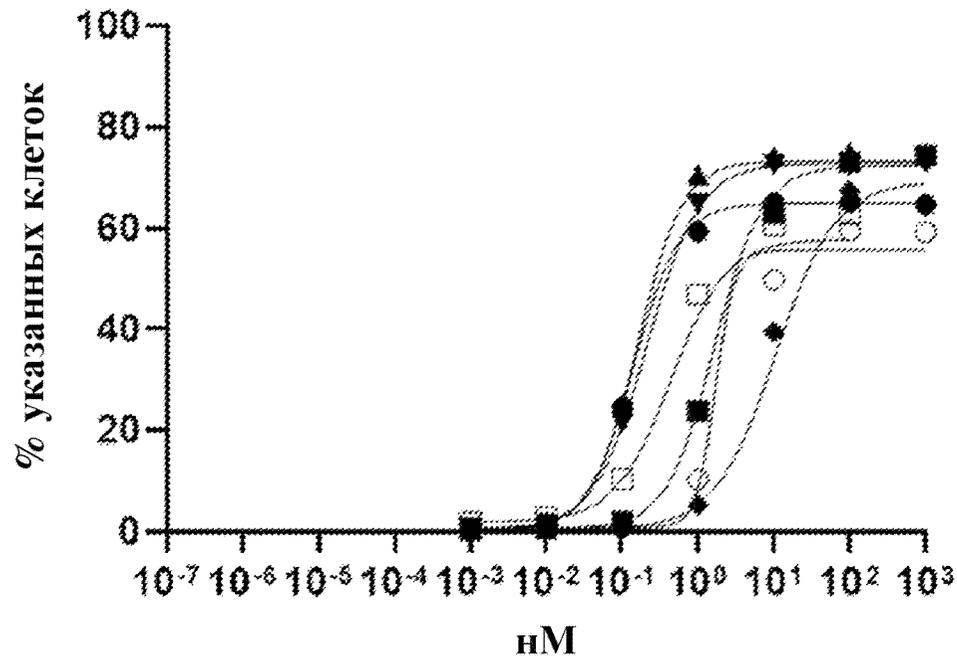
◆ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

□ IL-2

△ Вариант IL-2

Фиг. 4Е

pSTAT5
CD8+ Т-клетки яванского
макака



● IL2RB_F09C**IL2RG_F16A

▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C

◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B

⊞ IL-2

■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B

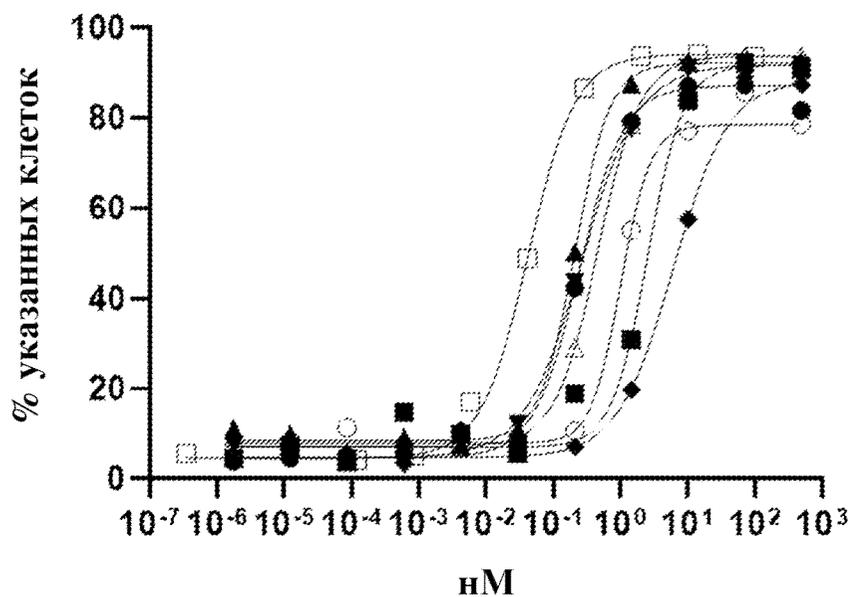
▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

⊞ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

⊞ Вариант IL-2

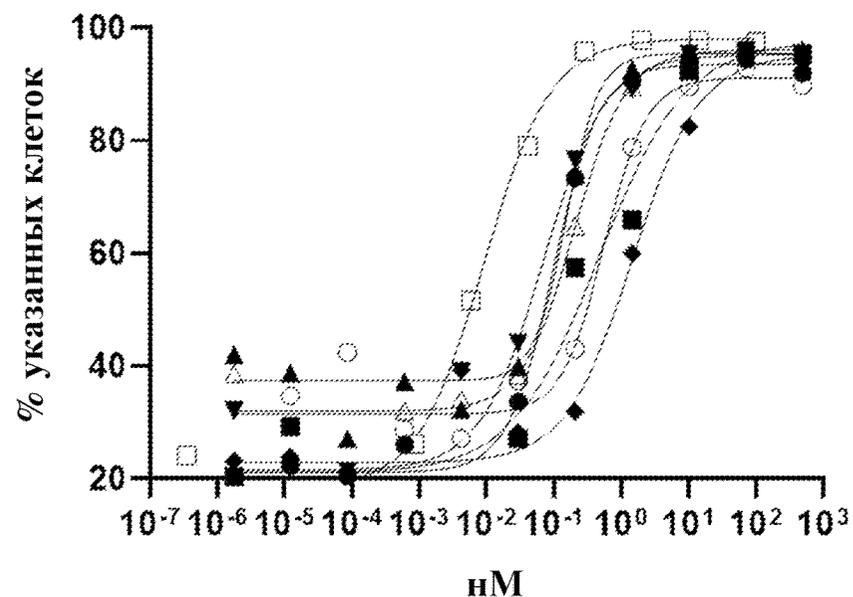
Фиг. 5А

Пролиферация: % Ki67
CD4+ Т-клетки человека



Фиг. 5В

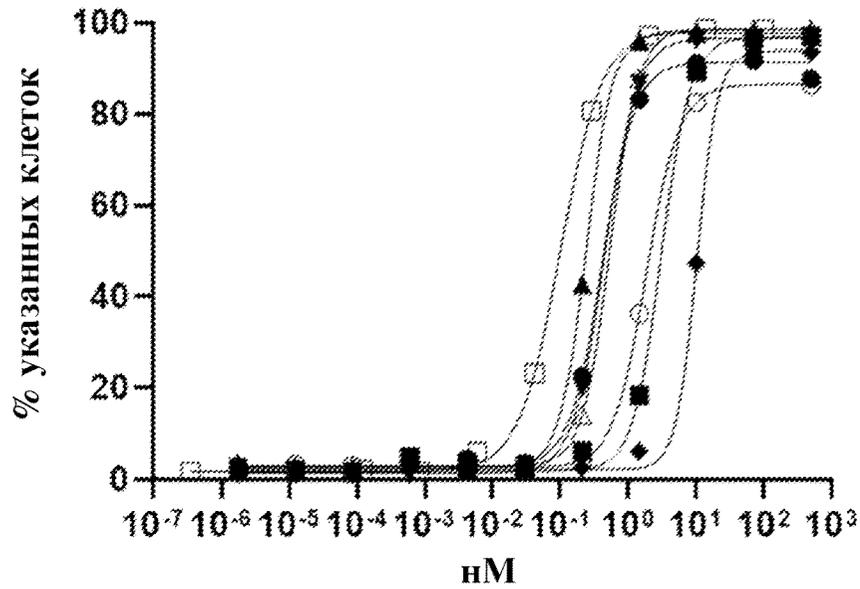
Пролиферация: % Ki67
CD4+CD25+ Т-клетки человека



- | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------|
| ◆ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A | ▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C | ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B | ○ IL-2 |
| ■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B | ▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A | ○ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A | ⊖ Вариант IL-2 |

Фиг. 5С

Пролиферация: % Ki67
CD8+ Т-клетки человека

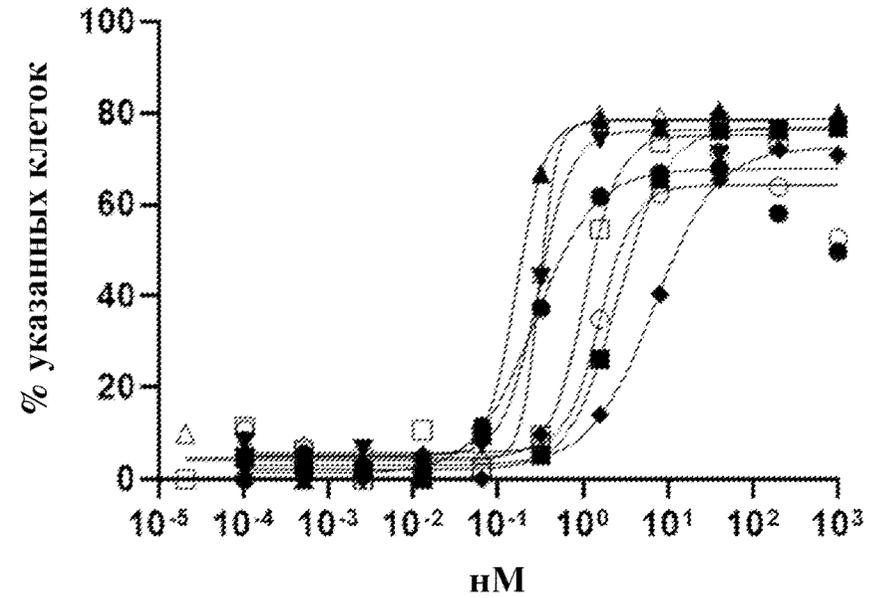


● IL2RB_F09C**IL2RG_F16A
■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B

▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C
▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

Фиг. 5D

Пролиферация: % Ki67
CD56+ NK-клетки человека

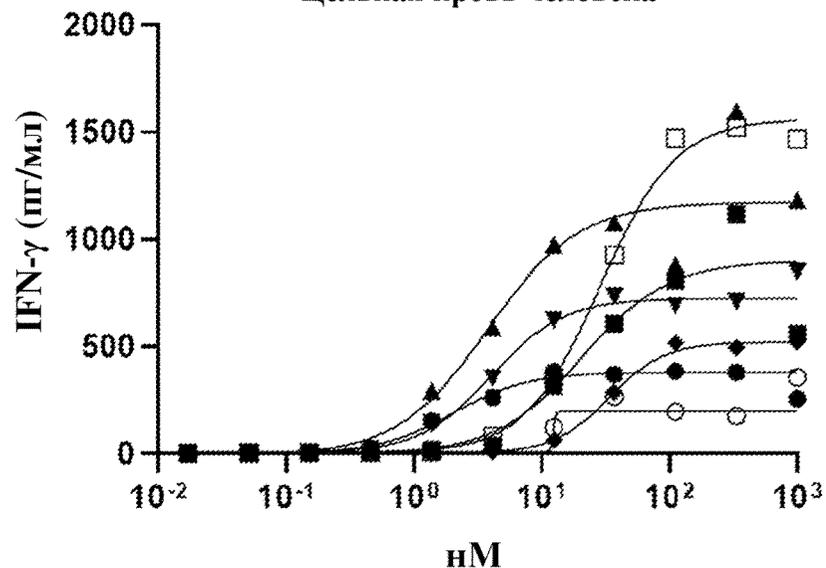


◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B
⊖ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

⊕ IL-2
⊖ Вариант IL-2

Фиг. 6А

Анализ высвобождения
цитокинов
Цельная кровь человека

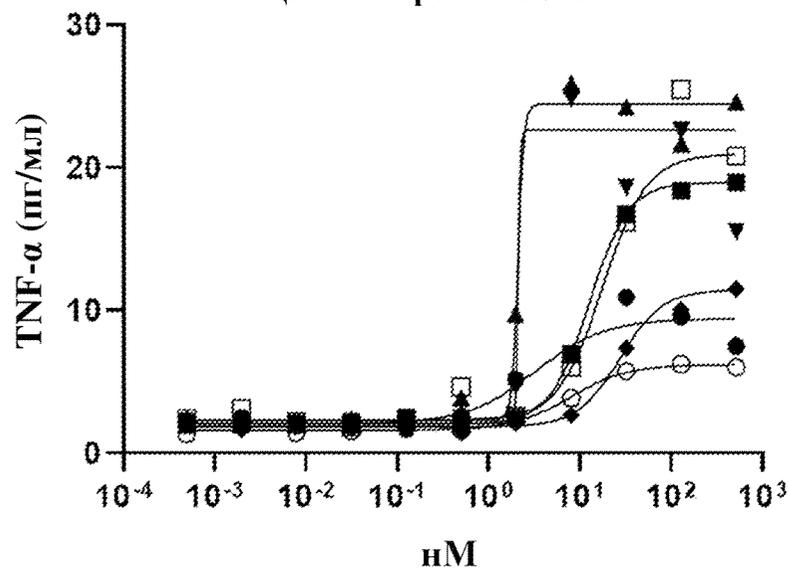


● IL2RB_F09C**IL2RG_F16A
■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B

▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C
▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

Фиг. 6В

Анализ высвобождения
цитокинов
Цельная кровь человека

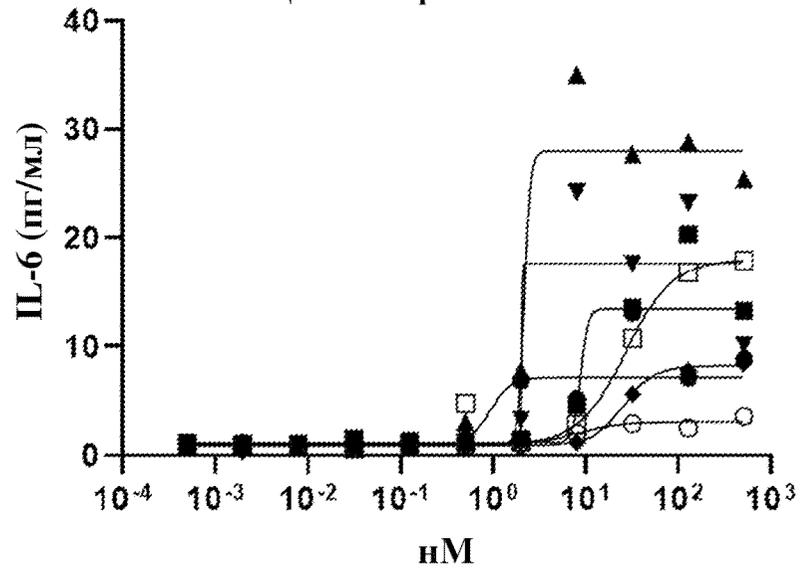


◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B
○ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

□ IL-2

Фиг. 6С

Анализ высвобождения
цитокинов
Цельная кровь человека



● IL2RB_F09C**IL2RG_F16A
■ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B

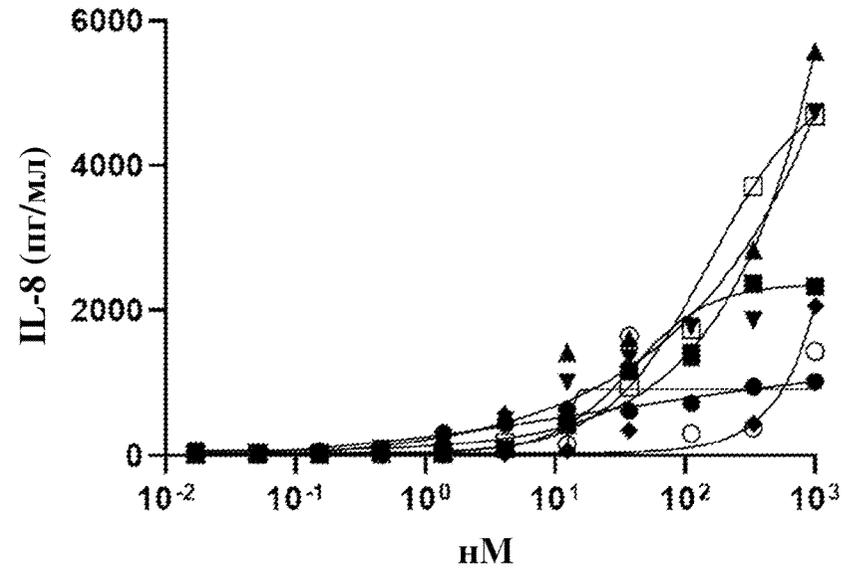
▲ IL2RB_F09G**IL2RG_F16C
▼ IL2RB_F09G**IL2RG_F18A

◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B
⊖ IL2RB_F18E**IL2RG_F16A

□ IL-2

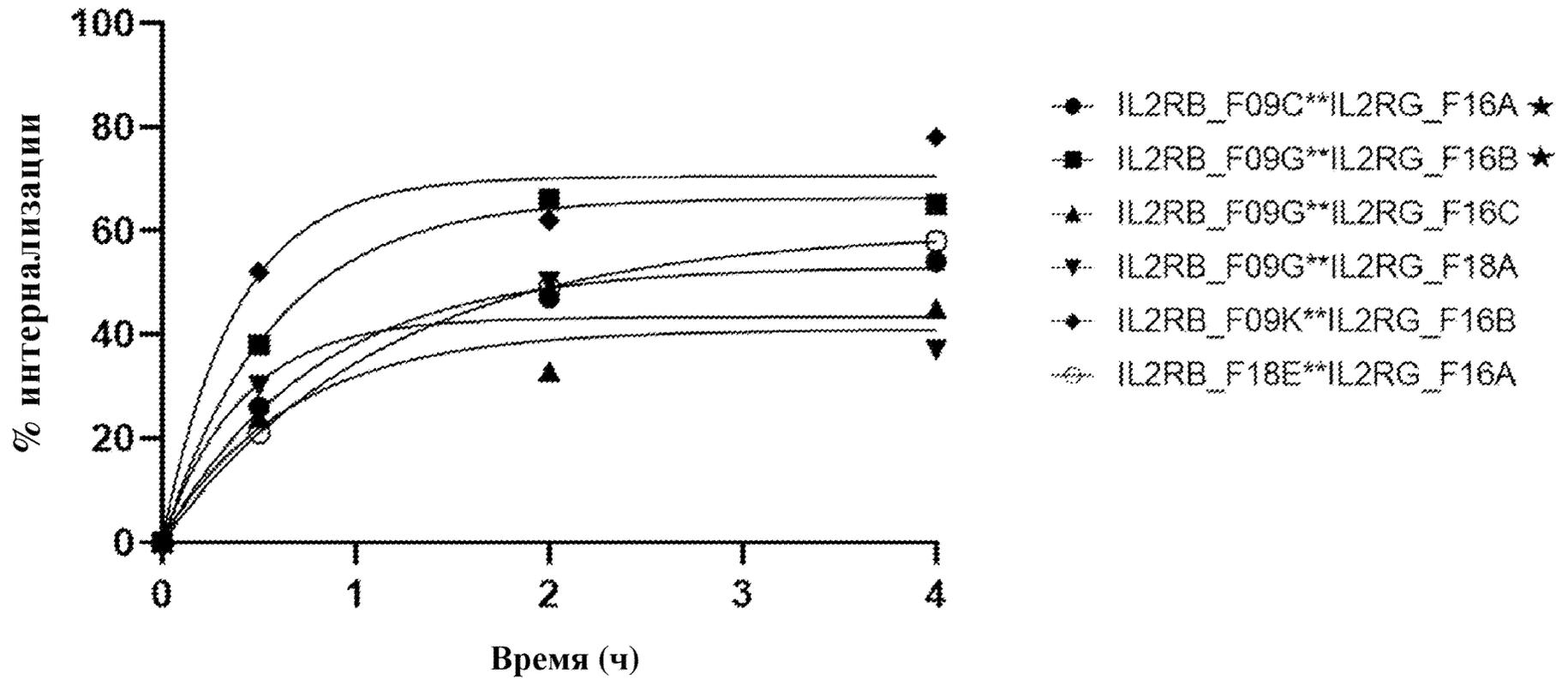
Фиг. 6D

Анализ высвобождения
цитокинов
Цельная кровь человека



Фиг. 7А

Интернализация антитела
С8+ Т-клетки человека

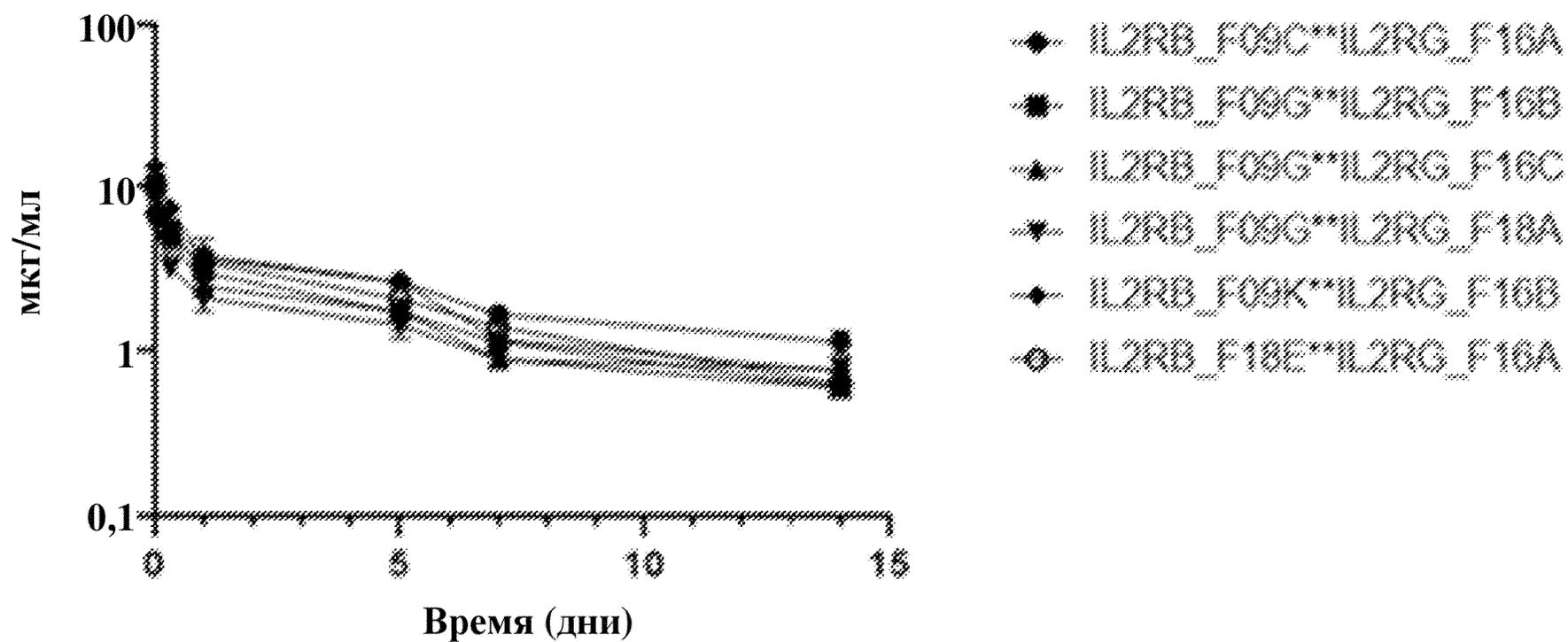


Фиг. 7В

Молекула	t1/2 (ч)
IL2RB_F09C**IL2RG_F16A	0,55
IL2RB_F09G**IL2RG_F16B	0,40
IL2RB_F09G**IL2RG_F16C	0,46
IL2RB_F09G**IL2RG_F18A	0,28
IL2RB_F09K**IL2RG_F16B	0,27
IL2RB_F18E**IL2RG_F16A	0,81

Фиг. 8А

РК у мыши
Концентрация в сыворотке
крови



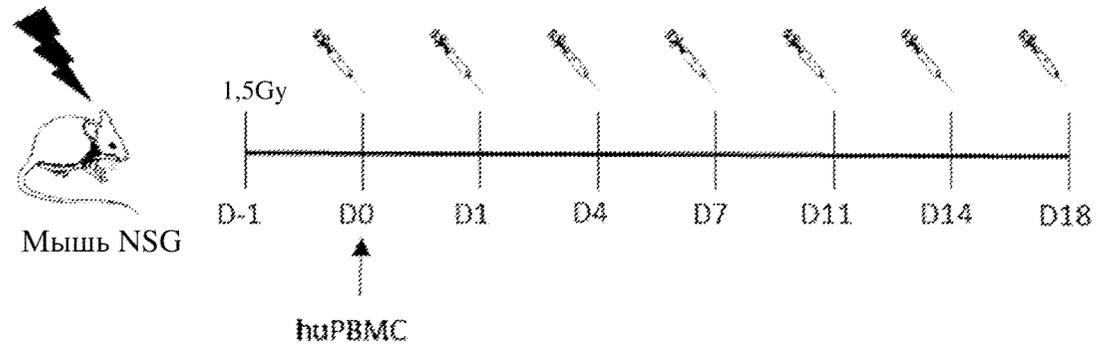
Фиг. 8В

Молекула	Доза (мг/кг)	t _{1/2} (ч)
IL2RB_F09C**IL2RG_F16A	1	7,35
IL2RB_F09G**IL2RG_F16B	1	5,60
IL2RB_F09G**IL2RG_F16C	1	6,15
IL2RB_F09G**IL2RG_F18A	1	7,12
IL2RB_F09K**IL2RG_F16B	1	5,53
IL2RB_F18E**IL2RG_F16A	1	5,29

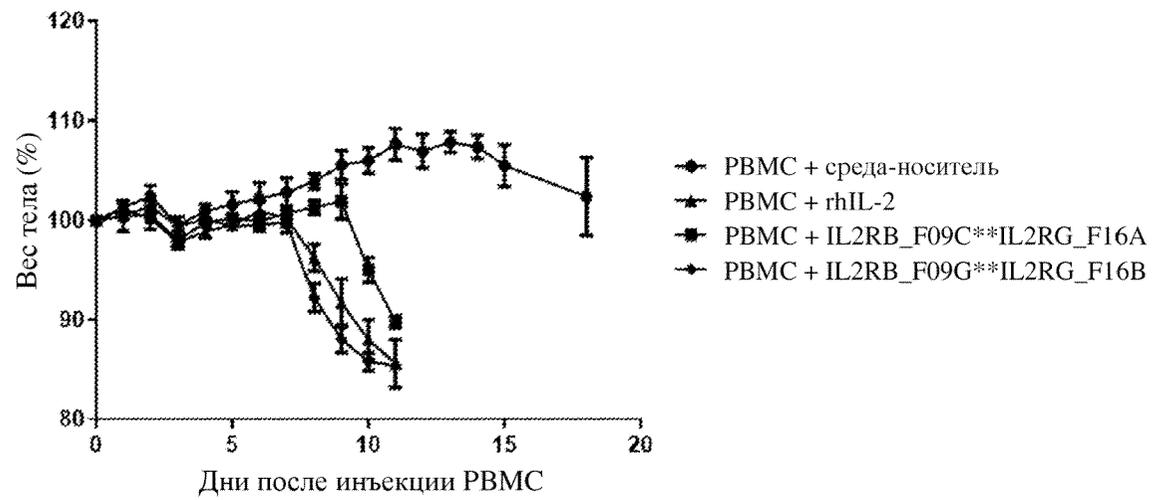
Фиг. 9

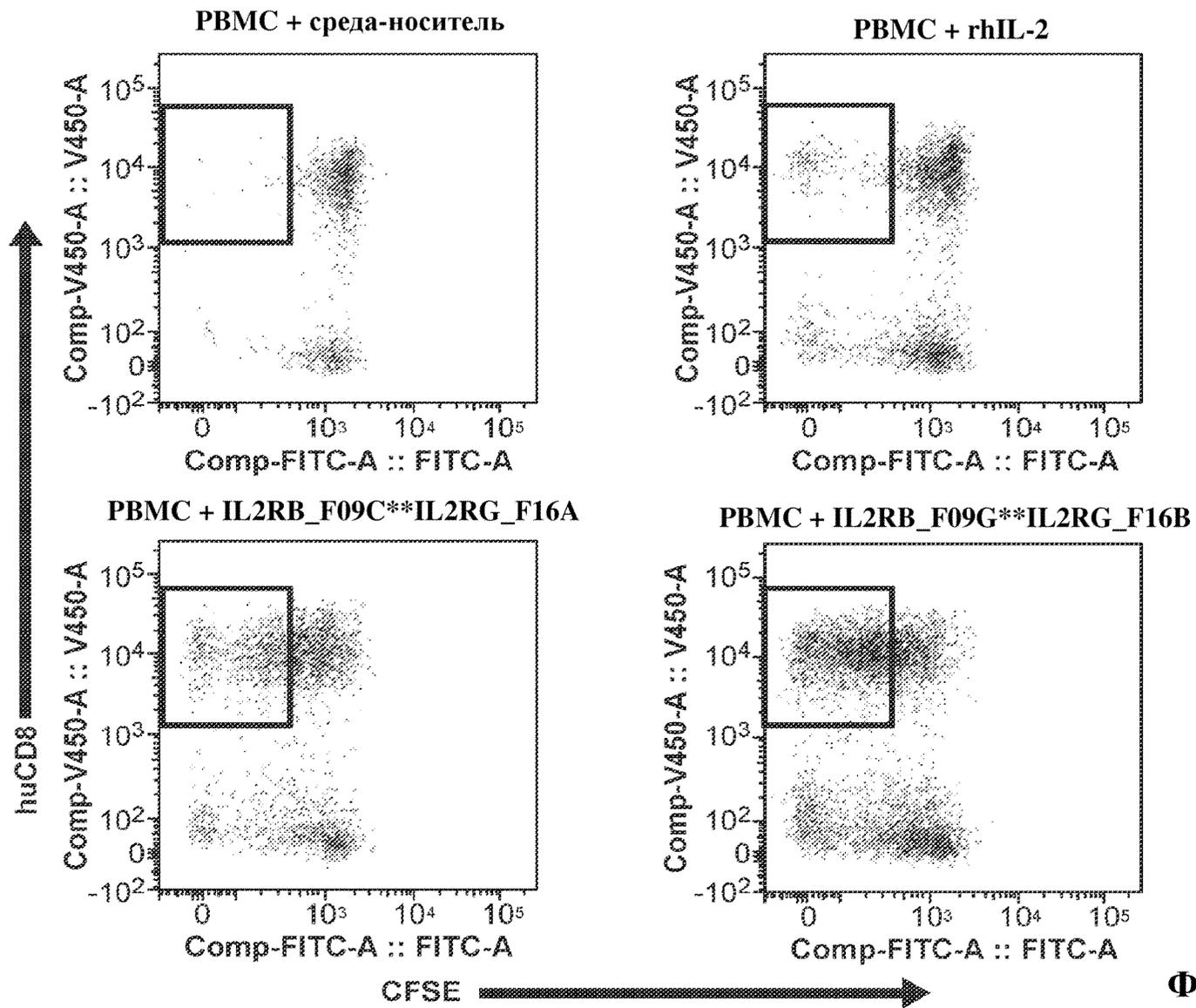
Перспективные молекулы	Экспрессия	Термическая стабильность		Стабильность при принудительной деградации (37°C), % HMW	
	Выход (г/л)	T _m (°C)	T _{agg} (°C)	T ₀	T 1-месяц
IL2RB_F09C**IL2RG_F16A	0,5	58	57	1	2
IL2RB_F09G**IL2RG_F16B	0,3	62	60	1	1,5
IL2RB_F09G**IL2RG_F16C	0,4	62	60	0,4	18
IL2RB_F09G**IL2RG_F18A	0,1	63	61	0,6	2
IL2RB_F09K**IL2RG_F16B	0,3	62	59	1,0	1
IL2RB_F18E**IL2RG_F16A	0,1	62	61	0,6	3

Фиг. 10А



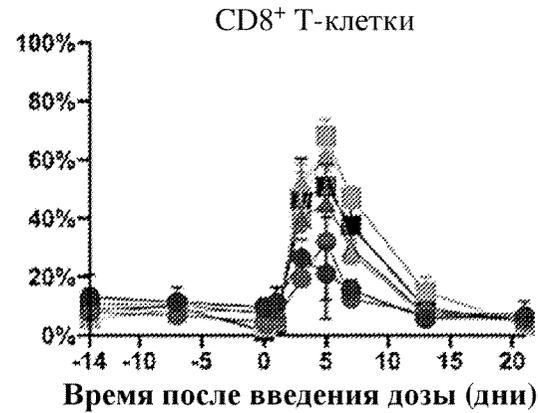
Фиг. 10В



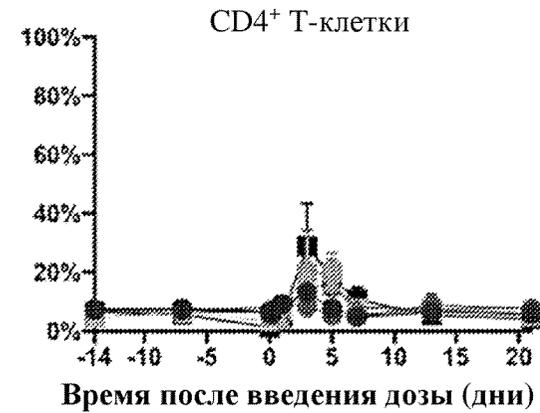


Фиг. 10С

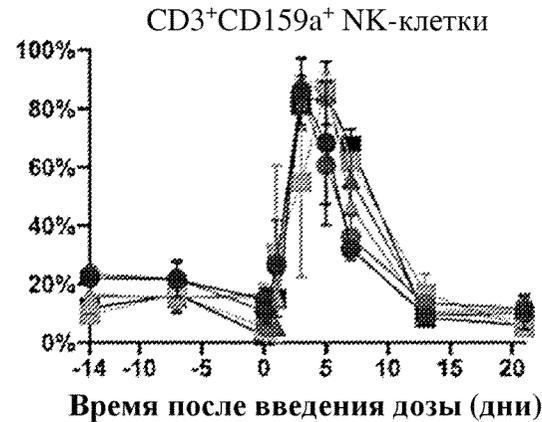
Фиг. 11А



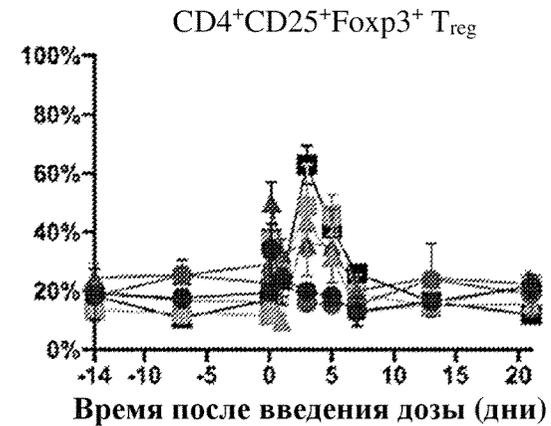
Фиг. 11С



Фиг. 11В

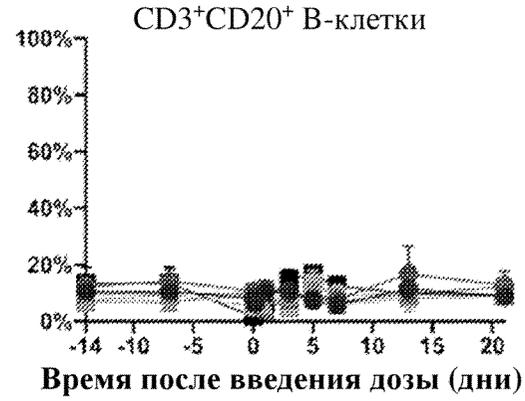


Фиг. 11D

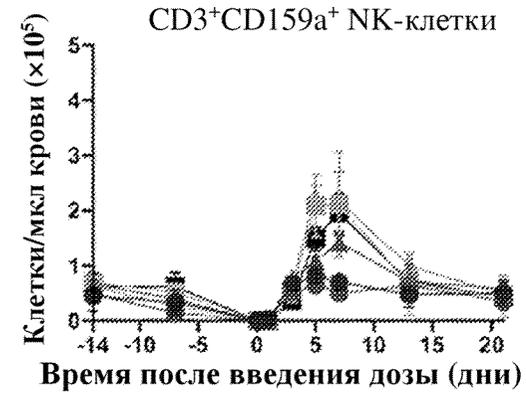


● IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,03 мг/кг)
 ▨ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг)
 ▩ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
 ◆ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,03 мг/кг)
 ▧ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,1 мг/кг)
 ▣ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,3 мг/кг)

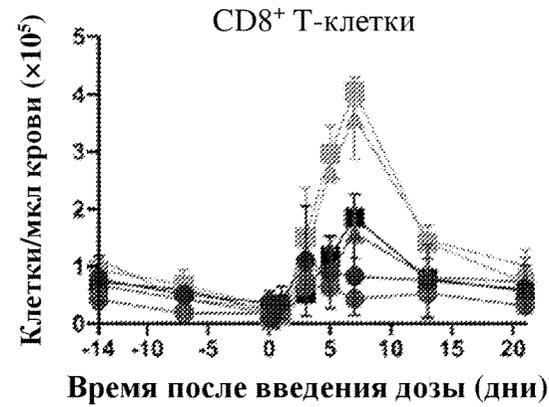
Фиг. 11Е



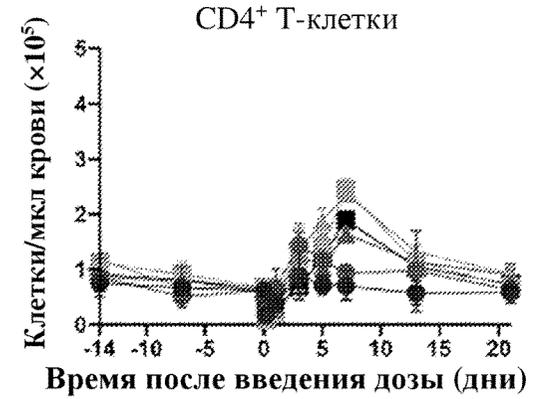
Фиг. 11Г



Фиг. 11Ф

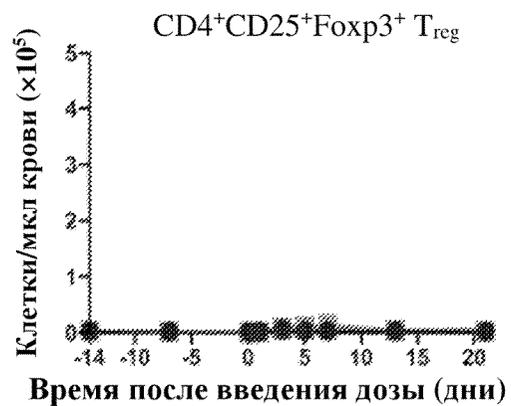


Фиг. 11Н

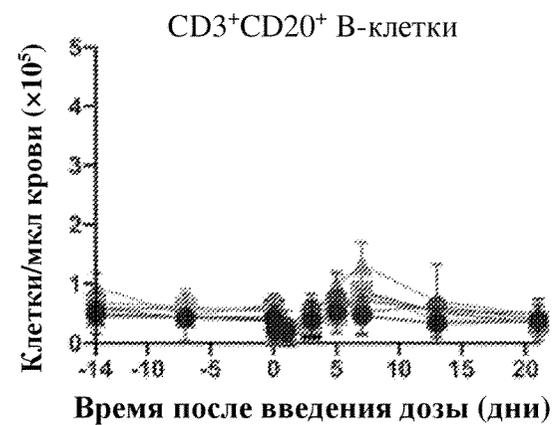


● IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,03 мг/кг) ◌ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг) ◌ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
 ◌ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,03 мг/кг) ◌ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,1 мг/кг) ◌ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,3 мг/кг)

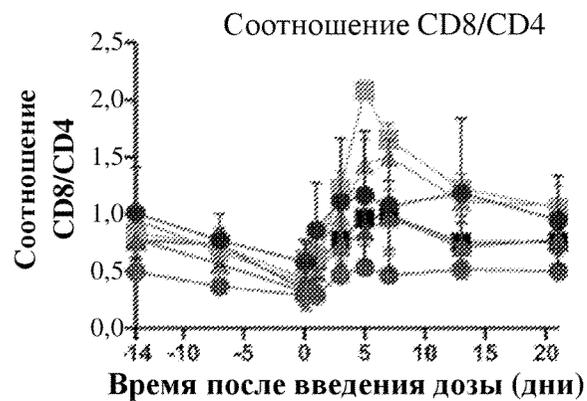
Фиг. 11I



Фиг. 11J



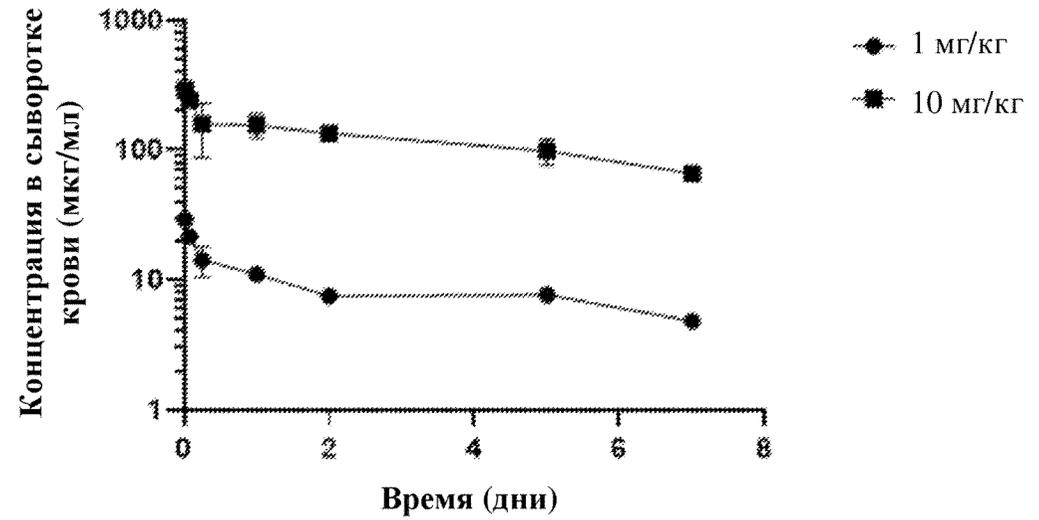
Фиг. 11K



- ◆ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,03 мг/кг) ◆ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг) ◆ IL2RB_F09G**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
- ◆ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,03 мг/кг) ◆ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,1 мг/кг) ◆ IL2RB_F09C**IL2RG_F16A (0,3 мг/кг)

Фиг. 12А

**РК у мыши
IL2RB_F09K**IL2RG_F16B**

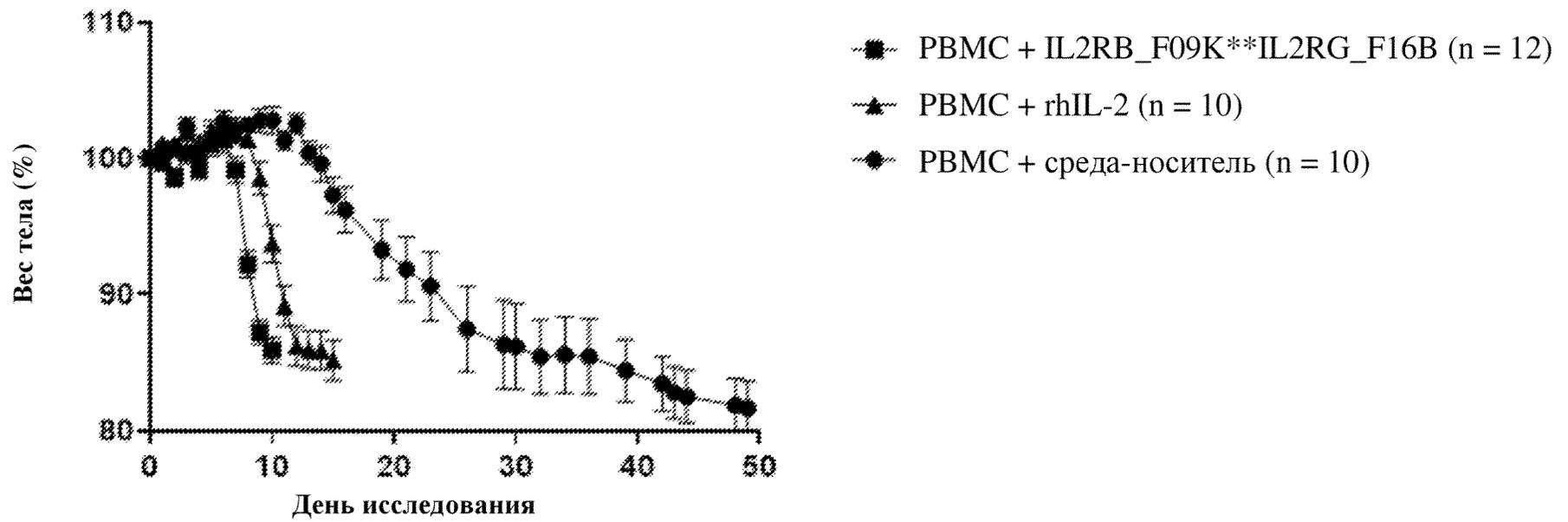


Фиг. 12В

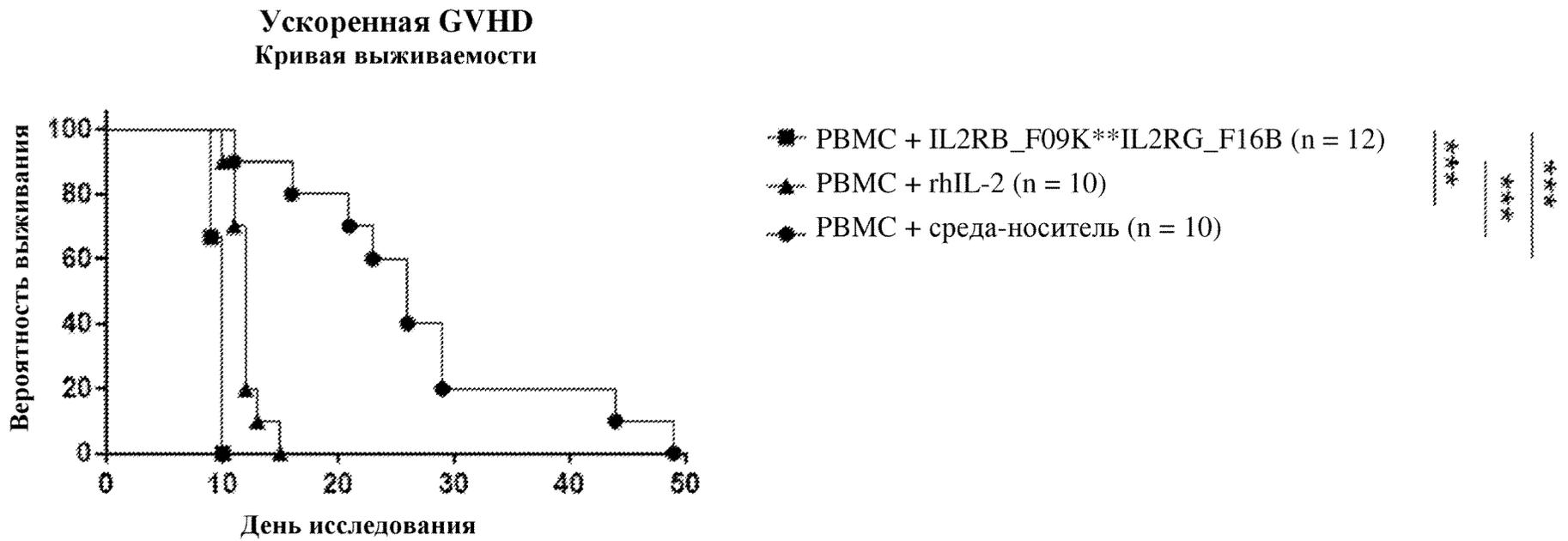
Молекула	Доза (мг/кг)	t1/2 (день)
IL2RB F09K**IL2RG F16B	1	5,28
IL2RB F09K**IL2RG F16B	10	5,1

Фиг. 13

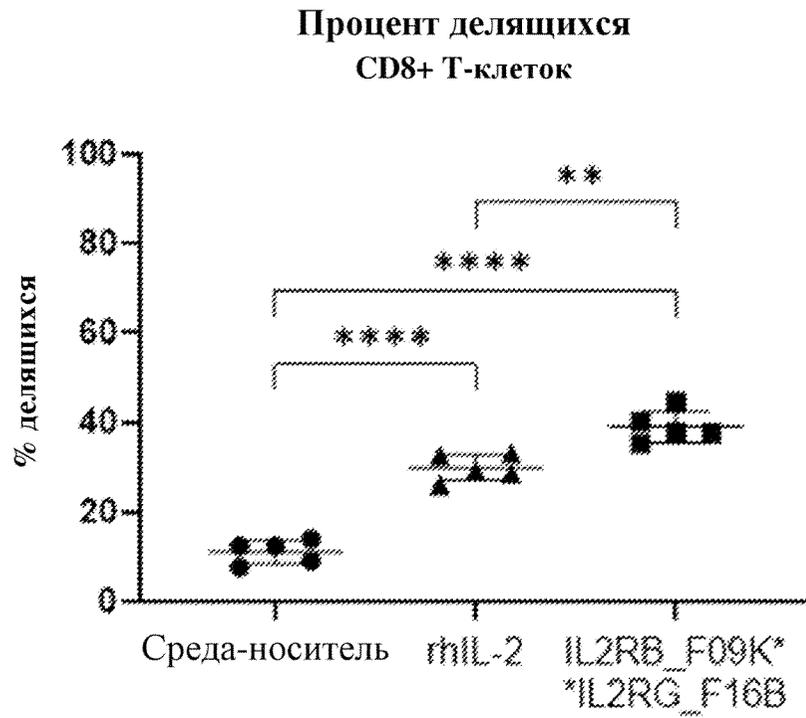
Ускоренная GVHD
Вес тела мыши



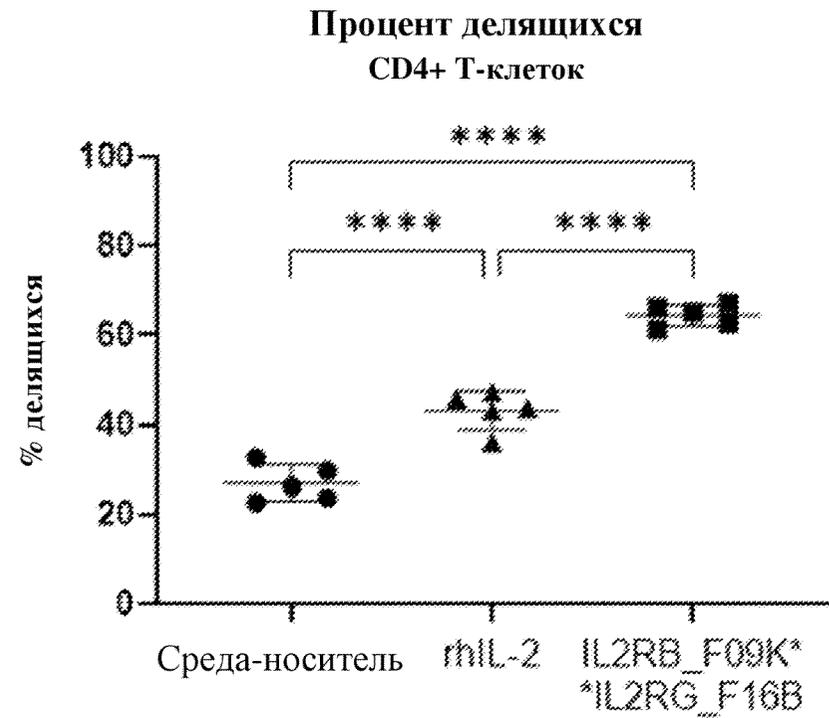
Фиг. 14



Фиг. 15А

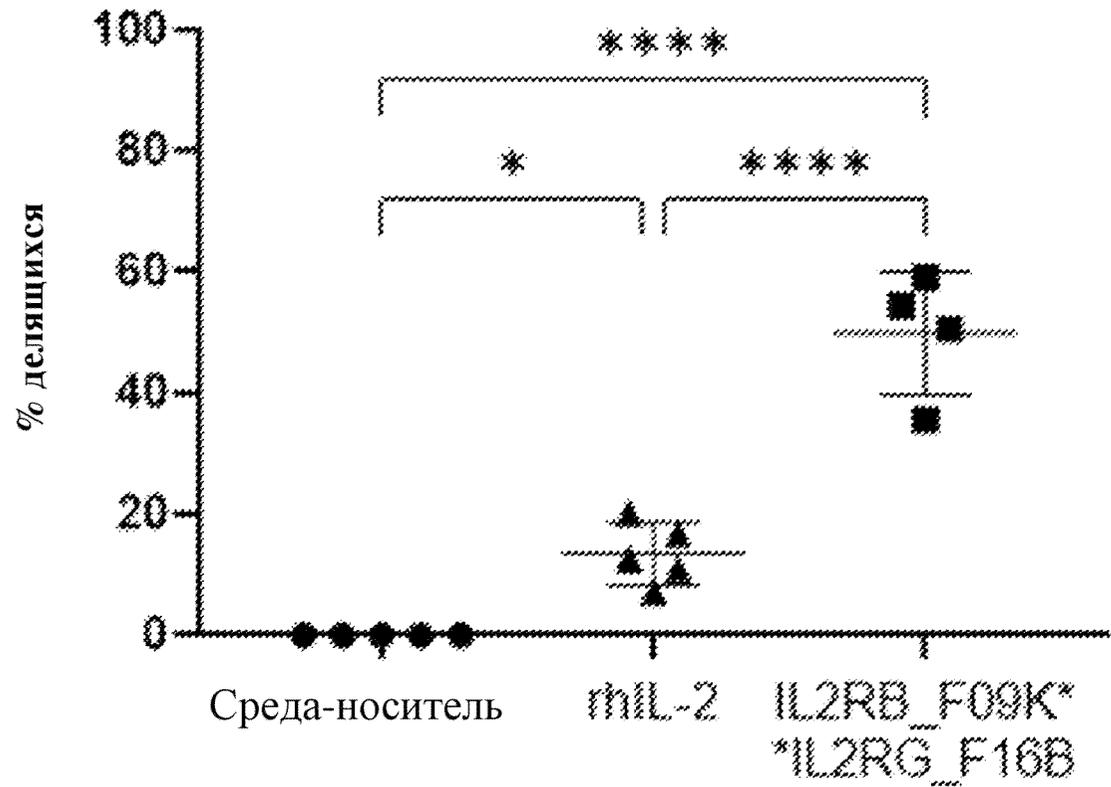


Фиг. 15В



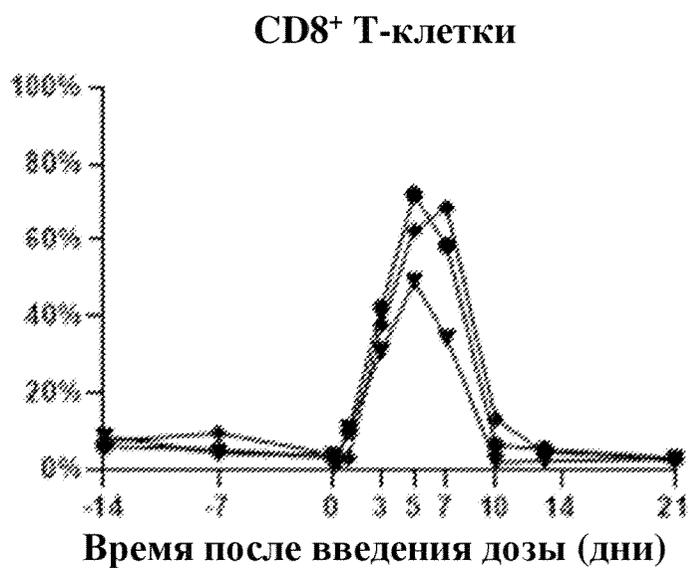
Фиг. 15С

Процент делящихся
NK-клеток



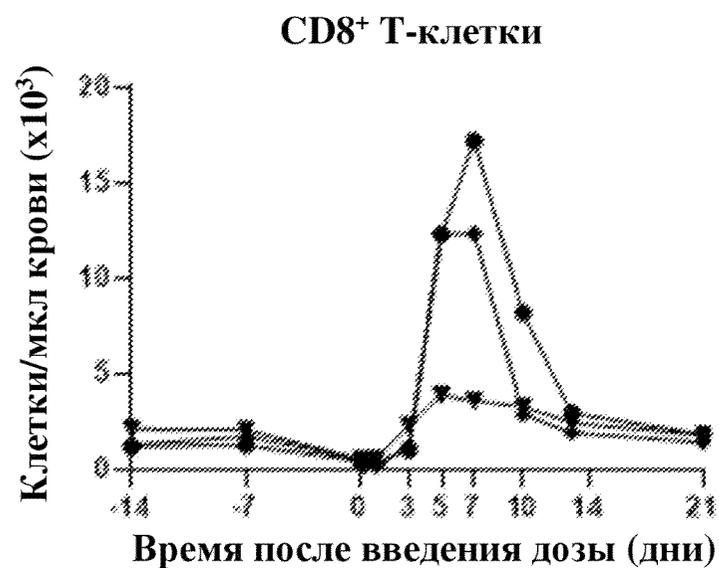
Фиг. 16А

Пролиферация: % Кi67



Фиг. 16В

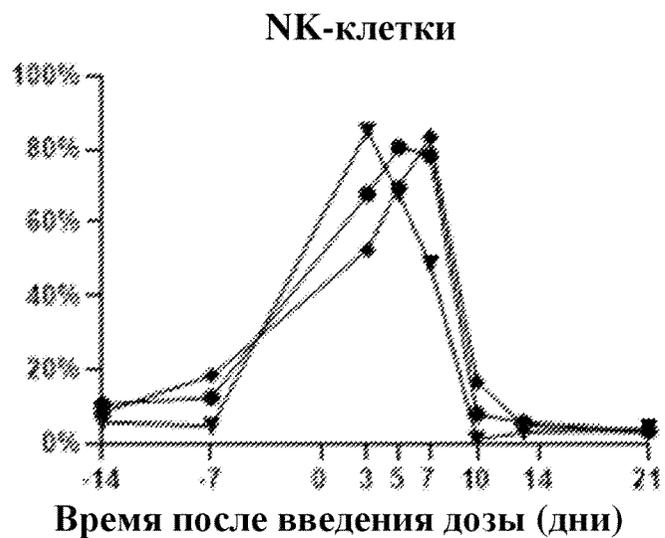
Абсолютная концентрация клеток



- ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг)
- ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
- ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,5 мг/кг)

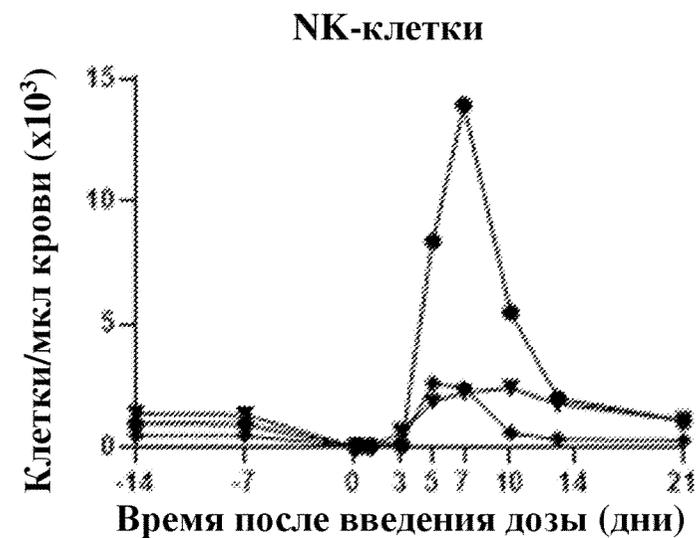
Фиг. 16С

Пролиферация: % Ki67



Фиг. 16D

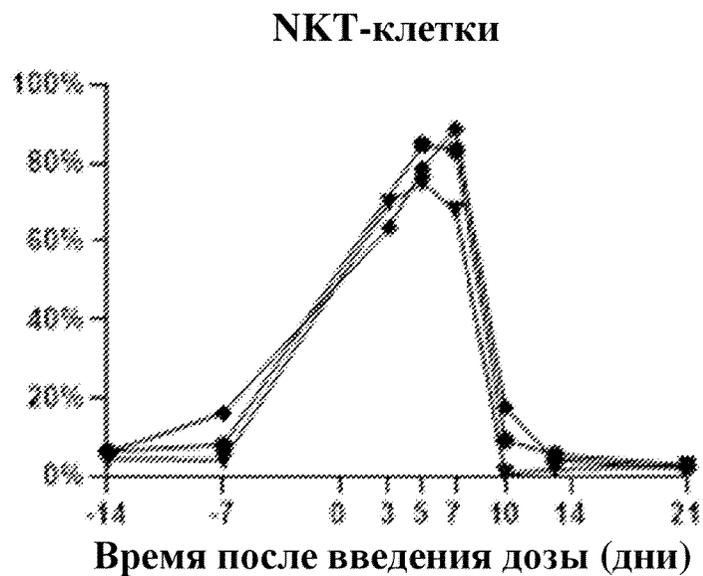
Абсолютная концентрация клеток



- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг)
- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,5 мг/кг)

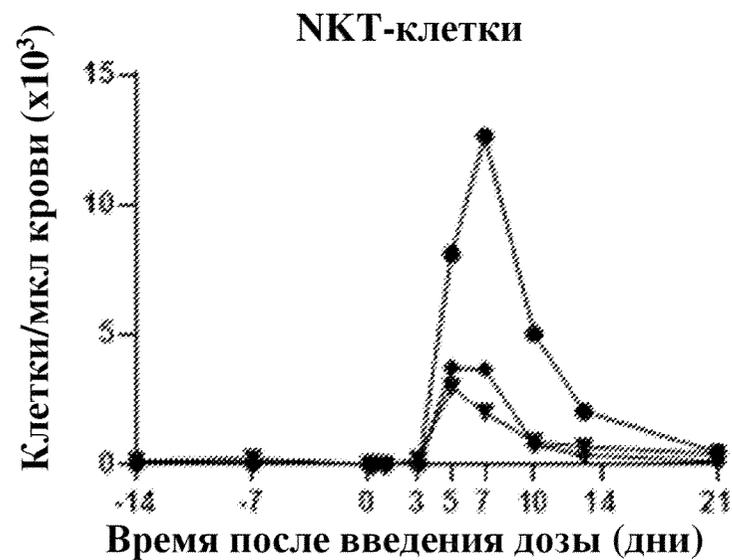
Фиг. 16Е

Пролиферация: %Ki67



Фиг. 16F

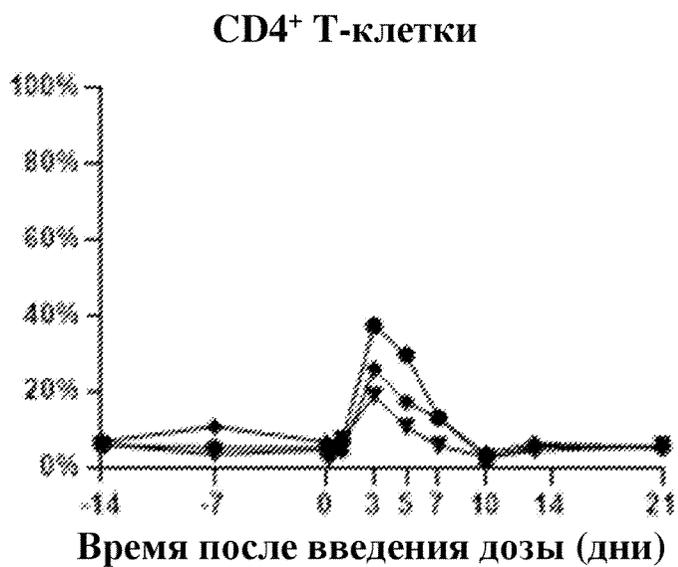
Абсолютная концентрация клеток



- ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг)
- ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
- ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,5 мг/кг)

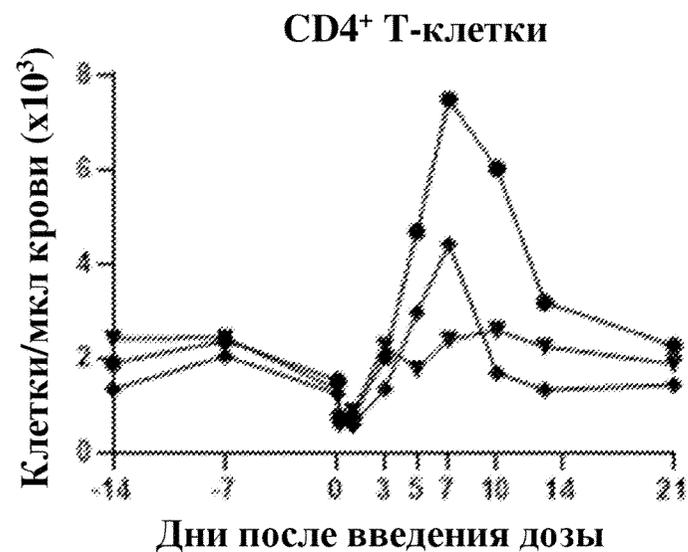
Фиг. 16G

Пролиферация: %Ki67



Фиг. 16H

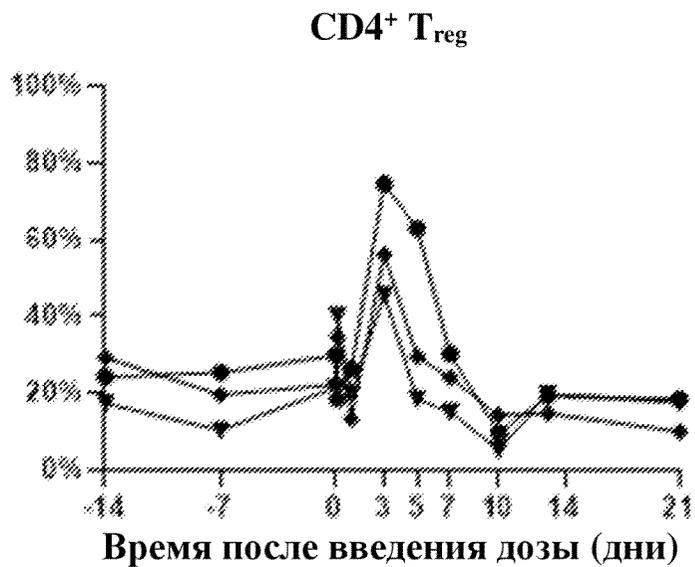
Абсолютная концентрация клеток



- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг)
- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,5 мг/кг)

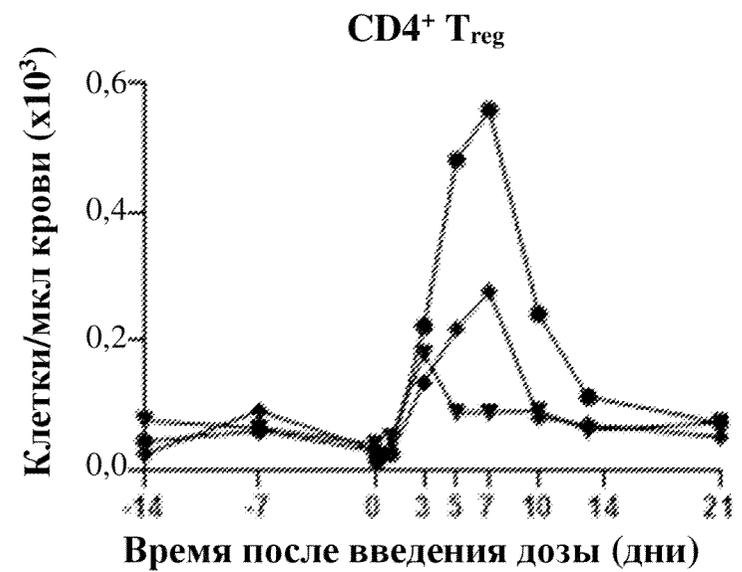
Фиг. 16I

Пролиферация: % Ki67



Фиг. 16J

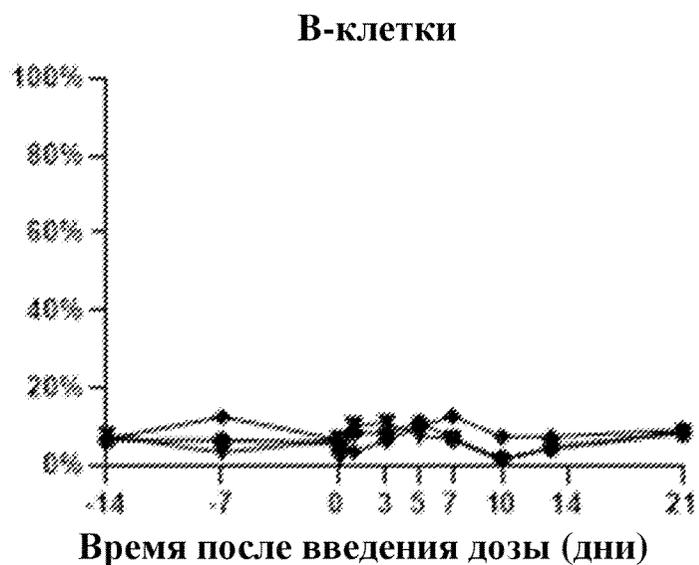
Абсолютная концентрация клеток



- ▼ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг)
- ◆ IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,5 мг/кг)

Фиг. 16К

Пролиферация: % Ki67



Фиг. 16L

Абсолютная концентрация клеток



- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,1 мг/кг)
- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,3 мг/кг)
- IL2RB_F09K**IL2RG_F16B (0,5 мг/кг)