

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **048240**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2024.11.11

(21) Номер заявки

202090891

(22) Дата подачи заявки

2018.10.02(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)**(54) МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛ ПРОТИВ CD138 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**(31) **62/566,936; 62/725,880**(32) **2017.10.02; 2018.08.31**(33) **US**(43) **2020.08.27**(86) **PCT/US2018/053989**(87) **WO 2019/070726 2019.04.11**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ВИСТЕРРА, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Чаганти Бхарат, Рамакришнан
Боопати, Адари-Холл Хеди,
Висванатхан Картик, Майетт
Джеймс Р., Шрайвер Закари (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)(56) **WO-A1-2009080829****US-A1-2009169570**

PETER HERBENER ET AL: "Functional relevance of in vivo half antibody exchange of an IgG4 therapeutic antibody-drug conjugate", PLOS ONE, vol. 13, no. 4, 19 April 2018 (2018-04-19), page e0195823, XP055525422, DOI: 10.1371/journal.pone.0195823 abstract page 3, paragraph Generation of CD138-specific antibodies - page 4; figure 1 page 6, paragraph DM4 conjugation - page 7 page 13, paragraph nBT062-DM4 model antibodies...

Wan Ping Sun ET AL: "A novel anti-human syndecan-1 (CD138) monoclonal antibody 4B3: characterization and application",

Cellular & molecular immunology, 1 June 2007 (2007-06-01), page 209, XP055525924, China Retrieved from the Internet: URL: <http://www.cmi.ustc.edu.cn/4/3/209.pdf> abstract page 211, paragraph 4B3 mAb recognized similar epitope with BB4 - page 212, paragraph Syndecan-1 signaling inhibited XG-1 and XG-2 proli

PAOLA ORECCHIA ET AL: "A novel human anti-syndecan-1 antibody inhibits vascular maturation and tumour growth in melanoma", EUROPEAN JOURNAL OF CANCER, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 49, no. 8 1 May 2013 (2013-05-01), pages 2022-2033, XP002699905, ISSN: 0959-8049, DOI: 10.1016/J.EJCA.2012.12.019 Retrieved from the Internet: URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804912010155> abstract paragraphs [03.1], [03.3], [03.4] page 2032 Supplementary data sheet Fig. 1A

JIANG HUA ET AL: "Transfection of chimeric anti-CD138 gene enhances natural killer cell activation and killing of multiple myeloma cells", MOLECULAR ONCOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 8, no. 2, 12 December 2013 (2013-12-12), pages 297-310, XP028661438, ISSN: 1574-7891, DOI: 10.1016/J.MOLONC.2013.12.001 abstract paragraphs [2.3.1], [02.4]

GESTUR VIDARSSON ET AL: "IgG Subclasses and Allotypes: From Structure to Effector Functions", FRONTIERS IN IMMUNOLOGY, vol. 5, 20 October 2014 (2014-10-20), XP055429512, DOI: 10.3389/fimmu.2014.00520 abstract; table 1 page 7, right-hand column, paragraph 2 page 8, left-hand column, paragraph 2 page 8, right-hand column, paragraphs 2,3

(57) Настоящее изобретение относится к молекулам антител, специфически связывающимся с CD138. Молекулы антител можно применять для лечения, профилактики и/или диагностики нарушений, таких как множественная миелома.

B1**048240****048240 B1**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет по временной заявке США № 62/566936, поданной 2 октября 2017 года, и временной заявке США № 62/725880, поданной 31 августа 2018 года. Содержание указанных выше заявок включено, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Список последовательностей

Настоящее изобретение содержит список последовательностей, поданный в электронном виде в формате ASCII и включенный, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Указанная копия ASCII, созданная 26 сентября 2018 года, названа P2029-7017WO_SL.txt, и ее размер составляет 171304 байт.

Уровень техники

Множественная миелома (ММ) является злокачественным новообразованием, образованным злокачественными плазматическими клетками. Эти опухоли, как правило, развиваются в костях, но иногда их обнаруживают в других тканях. Заболевание с одной плазмоцитомой известно как изолированная (или солитарная) плазмоцитомы. При наличии нескольких плазмоцитом оно известно как множественная миелома. В США приблизительное количество новых случаев составляет приблизительно 30000 в 2017 году, и ожидают более 10000 случаев смерти. Несмотря на прогресс в лечении множественной миеломы, она остается неизлечимым заболеванием для большинства пациентов.

Существует потребность в разработке новых подходов лечения, профилактики и диагностики множественной миеломы и других нарушений со схожими патологическими механизмами.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится по меньшей мере частично к молекулам антител, связывающихся с CD138, например, CD138 человека, и имеющих одно или более функциональных и структурных свойств, представленных в настоящем описании. В варианте осуществления молекула антитела может вызывать выполнение эффекторной функции (например, антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC)) в отношении клетки, экспрессирующей CD138. В варианте осуществления молекула антитела преимущественно связывается с мембраносвязанным CD138 по сравнению с растворимым CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом во внеклеточной области CD138, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела не связывается с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела не связывается исключительно с IBD CD138. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что в варианте осуществления можно достигать улучшенной или оптимальной цитотоксичности посредством направленного воздействия на некоторые внеклеточные области мембраносвязанного CD138, проксимальные к мембране клетки.

В варианте осуществления молекула антитела выбрана из табл. 1 или конкурирует за связывание с CD138 с моноклональным антителом против CD138, выбранным из табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела связывается с тем же эпитопом или эпитопом, перекрывающимся с эпитопом, распознаваемым моноклональным антителом против CD138, выбранным из табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более из вариабельных областей тяжелой цепи и/или одну или более из вариабельных областей легкой цепи, приведенных в табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более из CDR тяжелой цепи и/или одну или более из CDR легкой цепи, приведенных в табл. 1.

В варианте осуществления настоящее изобретение также относится к конъюгатам молекула антитела-лекарственное средство (ADC), молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим молекулы антител, экспрессирующим векторам, клеткам-хозяевам, композициям (например, фармацевтическим композициям), наборам, контейнерам и способам получения молекул антител. Молекулы антител, представленные в настоящем описании, можно использовать (в отдельности или в комбинации с другими средствами или способами лечения) для лечения, профилактики и/или диагностики нарушений, ассоциированных с CD138, например, злокачественных или предзлокачественных нарушений (например, множественной миеломы или вялотекущей миеломы).

Таким образом, в определенных аспектах настоящее изобретение относится к молекуле антитела, например, молекуле антитела, представленной в настоящем описании, имеющей одно или более (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или все) из следующих свойств a)-dd):

a) Связывается с CD138 (например, CD138 человека) с высокой аффинностью, например, с константой диссоциации (K_D) менее приблизительно 100 нМ, как правило, приблизительно 10 нМ и, более типично, приблизительно 10-0,001 нМ, приблизительно 10-0,01 нМ, приблизительно 5-0,01 нМ, приблизительно 3-0,05 нМ, приблизительно 1-0,1 нМ или сильнее, например, менее приблизительно 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ;

b) Связывается с мембраносвязанным CD138 с высокой аффинностью, например, с константой диссоциации (K_D) менее приблизительно 100 нМ, как правило, приблизительно 10 нМ и, более типично, приблизительно 10-0,001 нМ, приблизительно 10-0,01 нМ, приблизительно 5-0,01 нМ, приблизительно 3-

0,05 нМ, приблизительно 1-0,1 нМ или сильнее, например, менее приблизительно 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ;

с) Связывается с растворимым CD138 i) с высокой аффинностью, например, с константой диссоциации (K_D) менее приблизительно 100 нМ, как правило, приблизительно 10 нМ и, более типично, приблизительно 10-0,001 нМ, приблизительно 10-0,01 нМ, приблизительно 5-0,01 нМ, приблизительно 3-0,05 нМ, приблизительно 1-0,1 нМ или сильнее, например, менее приблизительно 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ; или ii) с низкой аффинностью, например, с константой диссоциации (K_D) более приблизительно 100 нМ, например, более приблизительно 200, 300, 400 или 500 нМ;

d) Связывается с мембраносвязанным CD138 или интактным эктодоменом CD138, i) предпочтительно, по сравнению с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 или интактным эктодоменом CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138; или ii) с аффинностью связывания, схожей с аффинностью связывания с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 или интактным эктодоменом CD138 является на менее чем приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138;

e) Связывается с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) аминокислотными остатками CD138 во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену CD138, например, находящейся в пределах 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена;

f) i) Связывается с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, например, C-конец области находится на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена; или ii) не связывается или связывается с низкой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, например, C-конец области находится на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена;

g) Связывается с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138 или областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD; или ii) не связывается или связывается с низкой аффинностью с IBD CD138 или областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD;

h) Связывается с эпитопом на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, например, области, содержащей аминокислоты 176-250 (например, 176-214 или 210-250) любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450, необязательно, где эпитоп дополнительно содержит четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, например, области, содержащей аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121, 88-102, или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450;

i) Связывается с двумя или более разными областями в CD138, например, мультивалентная (например, бивалентная, тривалентная или тетравалентная) молекула антитела содержит два набора идентичных или, по существу, идентичных пар VH-VL, каждая из которых связывается с одинаковыми двумя или более областями, или содержит разные наборы пар VH-VL, каждый из которых независимо связывается с разными областями;

j) Не связывается с эпитопом на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, например, области, содержащей аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121, 88-101 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450;

k) Связывается со злокачественной или предзлокачественной клеткой (например, миеломной клеткой), экспрессирующей CD138, с высокой аффинностью,

l) Связывается с Fc-рецептором (FcR) (например, одним или более из FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa, или FcγRIIIb) на поверхности иммунной клетки (например, естественного киллера (NK), макрофага, моноцита или эозинофила),

m) Вызывает осуществление эффекторной функции (например, ADCC) в отношении клетки-мишени, экспрессирующей CD138;

n) Связывается с C1q и вызывает комплементзависимую цитотоксичность (CDC) в отношении клетки-мишени, экспрессирующей CD138;

o) Опосредует гомотипическую адгезию одной или более CD138-экспрессирующих клеток;

p) Ингибирует действие протеазы на мембраносвязанный CD138, например, для снижения шединга CD138;

q) Снижает (например, ингибирует) один или более видов биологической активности клетки, экспрессирующей CD138, *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*;

г) Снижает (например, ингибирует) одну или более функций CD138 (например, связывание CD138 с лигандом) *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*;

с) Снижает (например, ингибирует) пролиферацию злокачественной или предзлокачественной клетки, экспрессирующей CD138;

т) Связывается с тем же, схожим или перекрывающимся эпитопом на CD138 по отношению к эпитопу, распознаваемому моноклональным антителом против CD138, представленным в настоящем описании;

у) Проявляет ту же или схожую аффинность связывания, или специфичность, или и то, и другое, относительно моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании;

в) Проявляет ту же или схожую аффинность связывания, или специфичность, или и то, и другое, относительно молекулы антитела, содержащей вариабельную область тяжелой цепи и/или вариабельную область легкой цепи, представленную в настоящем описании, например, вариабельную область тяжелой цепи и/или вариабельную область легкой цепи любого из моноклональных антител против CD138, представленных в настоящем описании;

w) Проявляет ту же или схожую аффинность связывания, или специфичность, или и то, и другое, относительно молекулы антитела, содержащей одну или более (например, две или три) CDR тяжелой цепи и/или одну или более (например, две или три) CDR легкой цепи, представленных в настоящем описании, например, одну или более (например, две или три) CDR тяжелой цепи и/или одну или более (две или три) CDR легкой цепи любого из моноклональных антител против CD138, представленных в настоящем описании;

х) Проявляет ту же или схожую аффинность связывания, или специфичность, или и то, и другое, относительно молекулы антитела, содержащей аминокислотную последовательность, представленную в настоящем описании;

у) Проявляет ту же или схожую аффинность связывания, или специфичность, или и то, и другое, относительно молекулы антитела, содержащей аминокислотную последовательность, кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной в настоящем описании;

z) Ингибирует, например, конкурентно ингибирует, связывание второй молекулы антитела с CD138, где вторая молекула антитела является молекулой антитела, представленной в настоящем описании, например, любым из моноклональных антител против CD138, представленных в настоящем описании;

aa) Конкурирует за связывание с CD138 со второй молекулой антитела, где вторая молекула антитела является моноклональным антителом против CD138, представленным в настоящем описании;

bb) Имеет одно или более биологических свойств моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании;

cc) Имеет одно или более структурных свойств моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании, или

dd) Имеет одно или более фармакокинетических свойств моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле антитела против CD138: (i) связывающейся или, по существу, связывающейся с CD138 во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену CD138; и (ii) вызывает антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) в отношении клетки, экспрессирующей CD138.

В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления N-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области.

В варианте осуществления внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 210-250 или 220-245 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с Fc-рецептором (FcR) (например, одним или более из FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa или FcγRIIIb) на поверхности иммунной клетки (например, естественного киллера (NK), макрофага, моноцита или эозинофила).

В варианте осуществления клетка, экспрессирующая CD138, является злокачественной клеткой или предзлокачественной клеткой. В варианте осуществления злокачественная или предзлокачественная клетка является миеломной клеткой.

В варианте осуществления молекула антитела связывается дополнительно или связывается с более высокой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных

аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450. В некоторых вариантах осуществления внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит аминокислоты 88-121 или 101-121 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

В варианте осуществления молекула антитела связывается дополнительно или связывается с более высокой аффинностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается дополнительно или связывается с высокой аффинностью с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138.

В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела не связывается с эпитопом на CD138, содержащим пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатков, во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с CD138 с константой диссоциации (K_D) менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ.

В варианте осуществления аффинность связывания молекулы антитела с мембраносвязанным CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200 или 500 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается с мембраносвязанным CD138 с K_D менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ.

В варианте осуществления аффинность связывания молекулы антитела с мембраносвязанным CD138 является схожей с ее аффинностью связывания с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 составляет в пределах приблизительно $\pm 10\%$, $\pm 20\%$, $\pm 30\%$, $\pm 40\%$, $\pm 50\%$, $\pm 60\%$, $\pm 70\%$, $\pm 80\%$, $\pm 90\%$, $\pm 100\%$ от аффинности связывания с растворимым CD138, например, менее чем приблизительно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% выше аффинности связывания с растворимым CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается с растворимым CD138 с K_D менее приблизительно 100 нМ, как правило, приблизительно 10 нМ и, более типично, приблизительно 10-0,001 нМ, приблизительно 10-0,01 нМ, приблизительно 5-0,01 нМ, приблизительно 3-0,05 нМ, приблизительно 1-0,1 нМ или сильнее, например, менее приблизительно 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ. В варианте осуществления молекула антитела связывается с растворимым CD138 с K_D более приблизительно 100, 200, 300, 400 или 500 нМ.

В варианте осуществления молекула антитела преимущественно связывается с мембраносвязанным CD138 по сравнению с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138. В варианте осуществления молекула антитела преимущественно связывается с растворимым CD138 по сравнению с мембраносвязанным CD138, например, аффинность связывания с растворимым CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более высокой, чем аффинность связывания с мембраносвязанным CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается и с растворимым CD138, и с мембраносвязанным CD138.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с C1q и вызывает комплементзависимую цитотоксичность (CDC) в отношении клетки, экспрессирующей CD138. В варианте осуществления молекула антитела снижает (например, ингибирует, блокирует или нейтрализует) один или более видов биологической активности клетки, экспрессирующей CD138, *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. В варианте осуществления молекула антитела опосредует гомотипическую адгезию одной или более CD138-экспрессирующих клеток. В варианте осуществления молекула антитела ингибирует действие протеазы

на мембраносвязанный CD138, например, для снижения шеддинга CD138. В варианте осуществления молекула антитела снижает (например, ингибирует) пролиферацию злокачественной или предзлокачественной клетки, экспрессирующей CD138.

В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более (например, две или три) CDR тяжелой цепи и/или одну или более (например, две или три) CDR легкой цепи моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании. В варианте осуществления молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL) моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании. В варианте осуществления молекула антитела содержит Fc-область.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле антитела против CD138, связывающейся или, по существу, связывающейся с эпитопом на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатка, во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену CD138.

В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления N-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 176-250 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с Fc-рецептором (FcR) (например, одним или более из FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa или FcγRIIIb) на поверхности иммунной клетки (например, естественного киллера (NK), макрофага, моноцита или эозинофила). В варианте осуществления молекула антитела может вызывать (например, стимулировать или индуцировать) ADCC в отношении клетки, экспрессирующей CD138. В варианте осуществления молекула антитела может вызывать (например, стимулировать или индуцировать) антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) в отношении клетки, экспрессирующей CD138. В варианте осуществления клетка, экспрессирующая CD138, является злокачественной клеткой или предзлокачественной клеткой. В варианте осуществления злокачественная или предзлокачественная клетка является миеломной клеткой.

В варианте осуществления молекула антитела связывается дополнительно или связывается с более высокой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатков, во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

В варианте осуществления молекула антитела связывается дополнительно или связывается с более высокой аффинностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается дополнительно или связывается с высокой аффинностью с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138.

В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.

В варианте осуществления эпитоп не содержит пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с CD138 с константой диссоциации (K_D) менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ.

В варианте осуществления аффинность связывания молекулы антитела с мембраносвязанным

CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200 или 500 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается с мембраносвязанным CD138 с K_D менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ. В варианте осуществления молекула антитела связывается с растворимым CD138 с K_D более приблизительно 100, 200, 300, 400 или 500 нМ.

В варианте осуществления аффинность связывания молекулы антитела с мембраносвязанным CD138 является схожей с ее аффинностью связывания с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 составляет в пределах приблизительно $\pm 10\%$, $\pm 20\%$, $\pm 30\%$, $\pm 40\%$, $\pm 50\%$, $\pm 60\%$, $\pm 70\%$, $\pm 80\%$, $\pm 90\%$, $\pm 100\%$ от аффинности связывания с растворимым CD138, например, на менее чем приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% выше аффинности связывания с растворимым CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается с растворимым CD138 с K_D менее приблизительно 100 нМ, как правило, приблизительно 10 нМ и, более типично, приблизительно 10-0,001 нМ, приблизительно 10-0,01 нМ, приблизительно 5-0,01 нМ, приблизительно 3-0,05 нМ, приблизительно 1-0,1 нМ или сильнее, например, менее приблизительно 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ. В варианте осуществления молекула антитела связывается с растворимым CD138 с K_D более приблизительно 100, 200, 300, 400 или 500 нМ.

В варианте осуществления молекула антитела преимущественно связывается с мембраносвязанным CD138 по сравнению с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138. В варианте осуществления молекула антитела преимущественно связывается с растворимым CD138 по сравнению с мембраносвязанным CD138, например, аффинность связывания с растворимым CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более высокой, чем аффинность связывания с мембраносвязанным CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается с и с растворимым CD138, и с мембраносвязанным CD138.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с C1q и вызывает комплементзависимую цитотоксичность (CDC) в отношении клетки, экспрессирующей CD138. В варианте осуществления молекула антитела снижает (например, ингибирует, блокирует или нейтрализует) один или более видов биологической активности клетки, экспрессирующей CD138, *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*. В варианте осуществления молекула антитела опосредует гомотипическую адгезию одной или более CD138-экспрессирующих клеток. В варианте осуществления молекула антитела ингибирует действие протеазы на мембраносвязанный CD138, например, для снижения шеддинга CD138. В варианте осуществления молекула антитела снижает (например, ингибирует) пролиферацию злокачественной или предзлокачественной клетки, экспрессирующей CD138.

В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более (например, две или три) CDR тяжелой цепи и/или одну или более (например, две или три) CDR легкой цепи моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании. В варианте осуществления молекула антитела содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL) моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании. В варианте осуществления молекула антитела содержит Fc-область.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле антитела против CD138, содержащей одну или обе из:

(a) переменной области тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит одну, две или все из следующего: (i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности HCDR1 моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании (например, любых из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409); (ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности HCDR2 антитела против CD138; или (iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности HCDR3 антитела против CD138; или

(b) переменной области легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из следующего: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности LCDR1 антитела против CD138; (ii) LCDR2, содер-

ную последовательность VH антитела против CD138.

В варианте осуществления VL содержит аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности VL антитела против CD138. В варианте осуществления VL содержит аминокислотную последовательность VL антитела против CD138.

В варианте осуществления (a) VH содержит аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности VH антитела против CD138; и (b) VL содержит аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности VH антитела против CD138.

В варианте осуществления VH содержит аминокислотную последовательность VH антитела против CD138, и VL содержит аминокислотную последовательность VL антитела против CD138.

В варианте осуществления молекула антитела содержит Fc-область.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле антитела, конкурирующей за связывание с CD138 с моноклональным антителом против CD138, представленным в настоящем описании (например, любыми из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409).

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле антитела, связывающейся или, по существу, связывающейся с эпитопом, полностью или частично перекрывающимся с эпитопом моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании (например, любых из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409).

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к конъюгату антитело-молекула лекарственное средство (ADC), содержащему молекулу антитела, представленную в настоящем описании, необязательно, содержащему цитотоксическое средство и дополнительно, необязательно, содержащему линкер.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к композиции, содержащей молекулу антитела, представленную в настоящем описании, или ADC, представленный в настоящем описании, необязательно, где композиция является фармацевтической композицией.

В варианте осуществления композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей переменную область тяжелой цепи (VH), переменную область легкой цепи (VL) или и ту, и другую, из молекулы антитела, представленной в настоящем описании.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к вектору, содержащему молекулу нуклеиновой кислоты, представленную в настоящем описании.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к клетке, содержащей молекулу нуклеиновой кислоты, представленную в настоящем описании, или вектор, представленный в настоящем описании, необязательно, где клетка является выделенной клеткой.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к набору, содержащему молекулу антитела, представленную в настоящем описании, ADC, представленный в настоящем описании, или композицию, представленную в настоящем описании, и инструкции по использованию молекулы антитела или композиции.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к контейнеру, содержащему молекулу антитела, представленную в настоящем описании, ADC, представленный в настоящем описании, или композицию, представленную в настоящем описании.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу получения молекулы антитела против CD138, включающему культивирование клетки, представленной в настоящем описании, в условиях, делающих возможной продукцию молекулы антитела, и таким образом, получение молекулы антитела.

В варианте осуществления способ дополнительно включает выделение или очистку молекулы антитела.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле антитела, представленной в настоящем описании, ADC, представленному в настоящем описании, или композиции, представленной в настоящем описании, для применения в способе лечения злокачественного новообразования у индивидуума.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является гемобластомом. В варианте осуществления злокачественное новообразование является множественной миеломой. В варианте осуществления злокачественное новообразование является солидной опухолью, например, солидной опухолью, представленной в настоящем описании.

В варианте осуществления молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму внутривенно.

В варианте осуществления молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму в дозе от 0,1 мг/кг до 50 мг/кг, от 0,2 мг/кг до 25 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 10 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 3 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 2,5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 2 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 1,5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 1 мг/кг, от 1 мг/кг до 1,5 мг/кг, от 1 мг/кг до 2 мг/кг, от 1 мг/кг до 2,5 мг/кг, от 1 мг/кг до 3 мг/кг, от 1 мг/кг до 2,5 мг/кг или от 1 мг/кг до 5 мг/кг.

В варианте осуществления молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму в фиксированной дозе от 10 мг до 1000 мг, от 10 мг до 500 мг, от 10 мг до 250 мг, от 10 мг до 150 мг, от 10 мг до 100 мг, от 10 мг до 50 мг, от 250 мг до 500 мг, от 150 мг до 500 мг, от 100 мг до 500 мг, от 50 мг до 500 мг, от 25 мг до 250 мг, от 50 мг до 150 мг, от 50 мг до 100 мг, от 100 мг до 150 мг, от 100 мг до 200 мг или от 150 мг до 250 мг.

В варианте осуществления молекулу антитела, ADC или композицию вводят раз в неделю, два раза в неделю, раз в две недели, раз в три недели или раз в четыре недели.

В варианте осуществления применение дополнительно включает определение уровня CD138 в образце от индивидуума. В варианте осуществления применение дополнительно включает подвержение индивидуума второй противоопухолевой терапии.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к молекуле антитела, представленной в настоящем описании, ADC, представленному в настоящем описании, или композиции, представленной в настоящем описании, для применения в способе лечения предзлокачественного состояния или профилактики злокачественного новообразования.

В варианте осуществления предзлокачественное состояние является вялотекущей миеломой или моноклональной гаммапатией неясного генеза (MGUS). В варианте осуществления злокачественное новообразование является множественной миеломой.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу вызывания ADCC, включающему приведение клетки или индивидуума в контакт с молекулой антитела, представленной в настоящем описании, ADC, представленным в настоящем описании, или композицией, представленной в настоящем описании, и, таким образом, вызывание ADCC.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу лечения злокачественного новообразования, включающему введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества молекулы антитела, представленной в настоящем описании, ADC, представленного в настоящем описании, или композиции, представленной в настоящем описании, и, таким образом, лечение злокачественного новообразования.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу лечения предзлокачественного состояния или профилактики злокачественного новообразования, включающему введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества молекулы антитела, представленной в настоящем описании, ADC, представленного в настоящем описании, или композиции, представленной в настоящем описании, и, таким образом, лечение предзлокачественного состояния или профилактики злокачественного новообразования.

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу детекции молекулы CD138, включающему приведение клетки или индивидуума в контакт с молекулой антитела, представленной в настоящем описании, и, таким образом, детекцию молекулы CD138.

В варианте осуществления молекула антитела соединена с детектируемой меткой. В варианте осуществления молекулу CD138 определяют *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*.

Настоящее изобретение включает все комбинации любого одного или более из представленных выше аспектов и/или вариантов осуществления, а также комбинации с любым одним или более из вариантов осуществления, приведенных в подробном описании и примерах.

Другие признаки, цели и преимущества композиций и способов, представленных в настоящем описании, будут очевидны из описания, чертежей и формулы изобретения.

Краткое описание чертежей

Патент или патентная заявка содержит по меньшей мере один чертеж, выполненный в цвете. Копии настоящего патента или публикации патентной заявки с цветными чертежами будут предоставлены по требованию и после оплаты необходимого тарифа.

На фиг. 1 показан пример аминокислотной последовательности CD138 человека (UniProt ID: P18827). Сигнальный пептид включает остатки 1-22 (выделены курсивом); внеклеточный домен включает остатки 23-254; трансмембранный домен включает остатки 255-275; и цитоплазматический домен включает остатки 276-310. Интегрин-связывающий домен (IBD) включает остатки 88-122. Известные цепи О-связанного гепарансульфата локализованы в остатках 37, 45 и 47 (подчеркнуты); и известные цепи О-связанного хондроитинсульфата локализованы в остатках 206 и 216 (подчеркнуты). Возможный N-связанный гликан локализован в остатке 43. Предполагаемыми остатками - "горячими точками" эпитопа антитела В-В4 являются Leu107, Pro108, Glu109 и Val110 (выделены полужирным шрифтом). Пример области пептида, на которую можно направленно воздействовать молекулами антител против

CD138, представленными в настоящем описании, включает остатки Gly217-Glu251 (выделены полужирным шрифтом и курсивом). На фиг. 1 представлена SEQ ID NO: 450.

На фиг. 2 показаны пептиды, используемые для идентификации антител против CD138, связывающихся с желаемым эпитопом.

На фиг. 3 показано описание антитела против CD138 В-В4 в отношении комплементзависимой цитотоксичности (CDC) в клетках миеломы человека RPMI 8226.

На фиг. 4 показано описание антитела против CD138 В-В4 в отношении антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) в клетках миеломы человека RPMI 8226.

На фиг. 5 показана способность поликлонального антитела кролика против CD138 индуцировать ADCC в клетках множественной миеломы человека U266.

На фиг. 6А показаны конструкции, включающие транспозицию эпитопа В-В4 в разных положениях.

На фиг. 6В показаны аминокислотные последовательности мутантного CD138 в клонах 1-3. На фиг. 6В представлены SEQ ID NO: 451-453, соответственно, в порядке появления.

На фиг. 6С показаны аминокислотные последовательности мутантного CD138 в клонах 4 и 5. На фиг. 6С представлены SEQ ID NO: 454-455, соответственно, в порядке появления.

Фиг. 7А является линейным графиком, на котором показана способность В-В4 индуцировать ADCC, когда эпитоп расположен проксимально к мембране клетки.

Фиг. 7В является столбиковой диаграммой, на которой показана способность В-В4 индуцировать ADCC, когда эпитоп расположен проксимально к мембране клетки. ВВ4-Mid: hCD138 с эпитопом ВВ-4 в середине эктодомена. ВВ4-MP: hCD138 с эпитопом ВВ-4 в проксимальной к мембране области. CD138: CD138 человека дикого типа. R-PAb: поликлональное антитело кролика против CD138.

На фиг. 7С показано дополнительное усиление потенциала ADCC посредством конструирования Fc.

Фиг. 8 является графиком, на котором показано связывание различных антител против CD138 с растворимой формой внеклеточного домена CD138 (аминокислоты 23-250, SEQ ID NO: 1), измеряемое посредством ELISA.

Фиг. 9А-9С представляют собой серию графиков, на которых показано связывание различных антител против CD138 с пептидными фрагментами CD138, измеряемое посредством ELISA: (А) пептид 2а, (В) пептид 5, (С) пептид 6.

На фиг. 9D показана структура полипептида CD138. Показана локализация пептидов 2а, 5 и 6.

Фиг. 10 является графиком, на котором показано связывание антител против CD138 1610, 624 и В-В4 (также обозначаемого как ВВ4 в настоящем описании) с пептидами 2а и 6 CD138, измеряемое посредством ELISA, в условиях высокой строгости для связывания антитело-антиген.

Фиг. 11А-11С представляют собой серию диаграмм, на которых показано связывание антитела 1610 с CD138 на поверхности клетки, экспрессируемым на клетках множественной миеломы U266 (А), или с растворимым внеклеточным доменом CD138 (В). (С) Значения EC_{50} для связывания антитела 1610 с растворимым или мембраносвязанным (на поверхности клетки) CD138.

Фиг. 12 представляет собой серию графиков, на которых показана кинетика связывания антител против CD138 1610, 624 и В-В4 с рекомбинантным внеклеточным доменом CD138, измеряемая посредством интерферометрии биослоя.

Фиг. 13 представляет собой серию графиков, на которых показана кинетика связывания антитела против CD138 1610 с пептидными фрагментами CD138 (верхняя панель: пептиды 2А (SEQ ID NO: 10), 2С (SEQ ID NO: 449); нижняя панель: пептиды 6В (SEQ ID NO: 440), 6Е (SEQ ID NO: 444)), измеряемая посредством интерферометрии биослоя с использованием биотинилированных пептидов.

Фиг. 14А-14В представляют собой серию диаграмм, на которых показана сравнительная кинетика связывания антитела против CD138 1610 (А) и В-В4 (В) с пептидными фрагментами CD138 (пептидами 2А и 6В), измеряемая посредством интерферометрии биослоя. Указана способность mAb 1610 (но не В-В4) связываться с обоими пептидами 2А и 6В с дифференциальной кинетикой.

Фиг. 15А-15С представляют собой серию графиков, на которых показана конкуренция за связывание с CD138 на поверхности клетки между биотинилированными тестируемыми антителами (антителами против CD138 1610, 624 и В-В4) и различными концентрациями соответствующих немеченных антител. Показаны дифференцированные профили биннинга эпитопов.

Фиг. 16 является графиком, на котором показана индукция ADCC с помощью афукозилированных антител против CD138 1610, 624 и В-В4 в клетках U266.

Фиг. 17 является таблицей, в которой показаны мутации, сделанные в вариантах антител против CD138 2510, 2610, 2710, 2810 и 2910 относительно родительского антитела 1610. Также показаны титры белка, полученные для каждого из этих антител из транзитивно трансфицированных клеток HEK293.

Фиг. 18А-18D представляют собой серию диаграмм, на которых показано связывание антитела 1610 и его вариантов 2510, 2610 и 2810 с каждым из рекомбинантного внеклеточного домена CD138 (А), пептида 2а (В) и пептида 6 (С), измеряемое посредством ELISA. Значения EC_{50} для каждого варианта антитела показаны на фиг. 17D. Отмечено улучшение связывания вариантов mAb 1610 (относительно родительского антитела 1610) с проксимальной к мембране областью (как представлено в случае пептида 6).

Фиг. 19А является графиком, на котором показано, что афукозилированные версии антитела 1610 и

его вариантов связаны с CD138 на поверхности клетки, экспрессируемым клетками U266.

Фиг. 19В представляет собой серию графиков, на которых показаны типичные результаты проточной цитометрии в анализах связывания клеток, показанных на фиг. 18А.

Фиг. 20 является графиком, на котором показано, что афукозилированные версии антитела 1610 и его вариантов индуцируют ADCC в CD138+ клетках U266. Поликлональное антитело (PAb) кролика против CD138 использовали в качестве контроля.

Фиг. 21 является графиком, на котором показано связывание пептидных фрагментов CD138 (пептида 2А и пептида 6В) антителом 2810 по сравнению с ВВ4. Связывание измеряли посредством ELISA в модифицированном формате, в котором антитело фиксируют непосредственно на планшете для ELISA, и связывание пептидов CD138 измеряют при разных концентрациях.

Фиг. 22А-22С представляют собой серию диаграмм, на которых показано, что вариант антитела 2810 (А) связывается с разными частями CD138 по сравнению с антителом В-В4 (В). Пептидные последовательности представлены на С. На фиг. 22С показаны SEQ ID NO: 456, 10, 449, 445, 457, 440, 444, 443, 443 и 449, соответственно, в порядке появления.

Подробное описание

Настоящее изобретение относится к молекулам антител, связывающимся с CD138, например, CD138 человека. Предпочтительно, по меньшей мере несколько из молекул антител, представленных в настоящем описании, имеют улучшенную способность ингибировать клетки, экспрессирующие CD138, например, вызывая осуществление эффекторной функции. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что в варианте осуществления антитела против CD138, связывающиеся с желаемым эпитопом, представленным в настоящем описании, имеют повышенные эффекторные функции и предпочтительное связывание с мембраносвязанной формой CD138. Эффективное направленное воздействие на CD138 может приводить к обширной активности и благоприятному терапевтическому индексу при миеломах и других злокачественных новообразованиях. Настоящее изобретение также относится к конъюгатам антитело-лекарственное средство (ADC), молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим молекулы антител, экспрессирующим векторам, клеткам-хозяевам, композициям (например, фармацевтическим композициям), наборам и способам получения молекул антител. Молекулы антител и фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, можно использовать (в отдельности или в комбинации с другими средствами или способами терапии) для лечения, профилактики и/или диагностики нарушений и состояний, например, нарушений и состояний, ассоциированных с CD138, например, злокачественного новообразования или предзлокачественных состояний.

Определения.

В рамках изобретения термины в единственном числе относятся к одному или нескольким (например, по меньшей мере к одному) грамматическим объектам.

Термин "или" в настоящем описании используют для обозначения "и/или" и взаимозаменяемо с термином "и/или", если контекст четко не указывает на иное.

Термин "приблизительно", как правило, должен обозначать приемлемую долю погрешности для измеряемого количества с учетом природы или точности измерений. Примеры долей погрешности находятся в пределах 20 процентов (%), как правило, в пределах 10% и, более типично, в пределах 5% от указанного значения или диапазона значений. Если термин "приблизительно" указан перед серией чисел или диапазоном, следует понимать, что с помощью термина "приблизительно" можно модифицировать каждое из чисел в серии или диапазоне. Аналогично, если перед серией чисел или диапазоном находится термин "по меньшей мере", "более чем", "не более чем", "менее чем", "не менее чем" или "в пределах", следует понимать, что с помощью терминов "по меньшей мере", "более чем", "не более чем", "менее чем", "не менее чем" или "в пределах" можно модифицировать каждое из чисел в серии или диапазоне. В рамках изобретения диапазоны включают верхний и нижний пределы.

Композиции и способы, представленные в настоящем описании, включают полипептиды и нуклеиновые кислоты, имеющие определенные последовательности или последовательности, по существу, идентичные или схожие с ними, например, последовательности, по меньшей мере на 85%, 90%, 95% или более идентичные определенной последовательности.

Что касается аминокислотной последовательности, термин "по существу, идентичный" используют в настоящем описании для обозначения первой аминокислотной последовательности, содержащей достаточное или минимальное количество аминокислотных остатков, являющихся i) идентичными или ii) консервативными заменами выровненных аминокислотных остатков во второй аминокислотной последовательности таким образом, что первая и вторая аминокислотные последовательности могут иметь общий структурный домен и/или общую функциональную активность. Например, аминокислотные последовательности, содержащие общий структурный домен, имеющий по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности в отношении референсной последовательности, например, последовательности, представленной в настоящем описании.

Что касается нуклеотидной последовательности, термин "по существу, идентичный" используют в настоящем описании для обозначения первой последовательности нуклеиновой кислоты, содержащей достаточное или минимальное количество нуклеотидов, являющихся идентичными выровненным нук-

леотидам во второй последовательности нуклеиновой кислоты таким образом, что первая и вторая нуклеотидные последовательности кодируют полипептиды, имеющие общую функциональную активность, или кодируют общий структурный полипептидный домен или общую функциональную активность полипептида. Например, нуклеотидные последовательности, имеющие по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичности в отношении референсной последовательности, например, последовательности, представленной в настоящем описании.

Термин "функциональный вариант" относится к полипептидам, имеющим аминокислотную последовательность, по существу, идентичную природной последовательности, или кодируемым, по существу, идентичными нуклеотидными последовательностями, и которые могут иметь одну или более активностей природной последовательности.

Вычисления гомологии или идентичности последовательностей (в настоящем описании термины используются взаимозаменяемо) осуществляют следующим образом.

Для определения процента идентичности двух аминокислотных последовательностей или двух последовательностей нуклеиновой кислоты последовательности выравнивают в целях оптимального сравнения (например, можно включать пропуски в одну или обе из первой и второй аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты для оптимального выравнивания и можно пренебрегать негомологичными последовательностями в целях сравнения). В типичном варианте осуществления длина референсной последовательности, выравниваемой в целях сравнения, составляет по меньшей мере 30%, например, по меньшей мере 40%, 50%, 60%, например, по меньшей мере 70%, 80%, 90%, 100% от длины референсной последовательности. Затем сравнивают аминокислотные остатки или нуклеотиды в соответствующих положениях аминокислот или положениях нуклеотидов. Если положение в первой последовательности занято тем же аминокислотным остатком или нуклеотидом, что и соответствующее положение во второй последовательности, то молекулы являются идентичными в этом положении.

Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией количества идентичных положений в последовательностях с учетом количества пропусков и длины каждого пропуска, который необходимо включать для оптимального выравнивания двух последовательностей.

Сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями можно осуществлять с использованием математического алгоритма. В некоторых вариантах осуществления процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями определяют с использованием алгоритма Needleman и Wunsch ((1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-453), включенного в программу GAP в пакете программ GCG (доступном на www.gcg.com), с использованием матрицы Blossum 62 или матрицы PAM250, штрафа за пропуск 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и штрафа за длину пропуска 1, 2, 3, 4, 5 или 6. В некоторых вариантах осуществления процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями определяют с использованием программы GAP в пакете программ GCG (доступном на www.gcg.com) с помощью матрицы NWSgapdna.CMP, штрафа за пропуск 40, 50, 60, 70 или 80 и штрафа за длину пропуска 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Одним из подходящих наборов параметров (и тем, который следует использовать, если не указано иначе) являются матрица замен Blossum 62 со штрафом за пропуск 12, штрафом за удлинение пропуска 4 и штрафом за пропуск со сдвигом рамки считывания 5.

Процент идентичности между двумя аминокислотными или нуклеотидными последовательностями можно определять с использованием алгоритма E. Meyers и W. Miller ((1989) CABIOS, 4: 11-17), включенного в программу ALIGN (версии 2.0) с использованием таблицы весов замен остатков PAM120, штрафа за длину пропуска 12 и штрафа за пропуск 4.

Последовательности нуклеиновой кислоты и белковые последовательности, представленные в настоящем описании, можно использовать в качестве "последовательности запроса" для осуществления поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации других членов семейства или родственных последовательностей. Такие поиски можно осуществлять с использованием программ NBLAST и XBLAST (версии 2.0) по Altschul, et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-10. Поиски нуклеотидных последовательностей в BLAST можно осуществлять с использованием программы NBLAST, баллы=100, длина слова=12, для получения нуклеотидных последовательностей, гомологичных нуклеиновой кислоте, представленной в настоящем описании. Поиски белковых последовательностей в BLAST можно осуществлять с использованием программы XBLAST, баллы=50, длина слова=3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекулам белков, представленным в настоящем описании. Для получения выравниваний с пропусками в целях сравнения можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 3389-3402. При использовании программ BLAST и gapped BLAST можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST). См. www.ncbi.nlm.nih.gov.

В рамках изобретения с помощью термина "гибридируется в условиях низкой строгости, средней строгости, высокой строгости или очень высокой строгости" описывают условия гибридизации и промывки. Руководство по осуществлению реакций гибридизации можно найти в *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6, включенной в качестве ссылки. В этом источнике описывают водные и неводные способы и можно использовать любые из них. Конкретные условия

гибридизации, используемые в настоящем описании, являются следующими: 1) условия гибридизации низкой строгости в 6-кратном хлориде натрия/цитрате натрия (SSC) при приблизительно 45°C с последующими двумя промывками в 0,2-кратном SSC, 0,1% SDS по меньшей мере при 50°C (в случае условий низкой строгости температуру промывок можно повышать до 55°C); 2) условия гибридизации средней строгости в 6-кратном SSC при приблизительно 45°C с последующими одной или более промывками в 0,2-кратном SSC, 0,1% SDS при 60°C; 3) условия гибридизации высокой строгости в 6-кратном SSC при приблизительно 45°C с последующими одной или более промывками в 0,2-кратном SSC, 0,1% SDS при 65°C; и, предпочтительно, 4) условия гибридизации очень высокой строгости представляют собой 0,5 М фосфат натрия, 7% SDS при 65°C с последующими одной или более промывками в 0,2-кратном SSC, 1% SDS при 65°C. Условия очень высокой строгости 4) являются подходящими условиями, и следует использовать их, если не указано иначе.

Следует понимать, что молекулы, представленные в настоящем описании, могут содержать дополнительные консервативные или несущественные замены аминокислот, не имеющие значительного эффекта в отношении их функций.

Термин "аминокислота" предназначен для включения всех молекул, природных или синтетических, включающих функциональность амина и функциональность кислоты, которые можно включать в полимер природных аминокислот. Примеры аминокислот включают природные аминокислоты; их аналоги, производные и родственные соединения; аналоги аминокислот, имеющие варианты боковых цепей; и все стереоизомеры любых из указанных выше соединений. В рамках изобретения термин "аминокислота" включает оптические D- или L-изомеры и пептидомиметики.

"Консервативная аминокислотная замена" является заменой, при которой аминокислотный остаток заменяют аминокислотным остатком, имеющим схожую боковую цепь. В этой области известны семейства аминокислотных остатков, имеющие схожие боковые цепи. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин).

В настоящем описании термины "полипептид", "пептид" и "белок" (если он одноцепочечный) используют взаимозаменяемо для обозначения полимеров аминокислот любой длины. Полимер может являться линейным или разветвленным, может содержать модифицированные аминокислоты, и он может прерываться не-аминокислотами. Термины также включают аминокислотный полимер, подвергнутый модификации; например, образованию дисульфидной связи, гликозилированию, липидированию, ацетилированию, фосфорилированию или любой другой модификации, такой как конъюгация с компонентом-меткой. Полипептид можно выделять из природных источников, можно получать рекомбинантными способами из эукариотического или прокариотического организма-хозяина, или он может являться продуктом способов синтеза.

Термины "нуклеиновая кислота", "последовательность нуклеиновой кислоты", "нуклеотидная последовательность" или "полинуклеотидная последовательность" и "полинуклеотид" используют взаимозаменяемо. Они относятся к полимерной форме нуклеотидов любой длины, дезоксирибонуклеотидов, или рибонуклеотидов, или их аналогов. Полинуклеотид может являться одноцепочечным или двухцепочечным, и одноцепочечный полинуклеотид может являться кодирующей цепью или не кодирующей (антисмысловой) цепью. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов могут прерывать не-нуклеотидные компоненты. Полинуклеотид можно дополнительно модифицировать после полимеризации, например, посредством конъюгации с компонентом-меткой. Нуклеиновая кислота может являться рекомбинантным полинуклеотидом или полинуклеотидом геномного, кДНК-, полусинтетического или синтетического происхождения, не встречающимся в природе или связанным с другим полинуклеотидом в неприродной конфигурации.

В рамках изобретения термин "выделенный" относится к материалу, удаленному из своего исходного или природного окружения (например, природного окружения, если он является природным). Например, природный полинуклеотид или полипептид, находящийся в живом животном, не является выделенным, но тот же полинуклеотид или полипептид, отделенный человеком от некоторых или всех из сопутствующих материалов в природной системе, является выделенным. Такие полинуклеотиды могут являться частью вектора, и/или такие полинуклеотиды или полипептиды могут являться частью композиции, но все равно могут быть выделенными в силу того, что такой вектор или композиция не являются частью окружения, в котором его обнаруживают в природе.

В рамках изобретения термин "лечение" нарушения, например, миеломы, означает, что индивидуум (например, человек), имеющий нарушение, например, миелому, и/или симптом нарушения, например, миелому, в варианте осуществления будет страдать менее тяжелым симптомом и/или будет выздоравливать быстрее, если вводят молекулу антитела, чем если бы молекулу антитела никогда не вводили. В ва-

рианте осуществления, если лечат миелому, при биопсии костного мозга после эффективного лечения миеломы будут обнаруживать меньше клональных плазматических клеток. Например, после введения молекулы антитела, представленной в настоящем описании, для эффективного лечения миеломы при диагностическом анализе будут определять меньше клональных плазматических клеток в биологическом образце от индивидуума. Для мониторинга лечения пациента или для детекции наличия, например, снижения наличия (или отсутствия), симптома миеломы после лечения миеломы у индивидуума также можно использовать другие анализы, анализы мочи или анализы крови. В варианте осуществления при лечении миеломы уровень β 2-микроглобулина (β 2М) в сыворотке или моче будет снижаться после эффективного лечения миеломы. Лечение может, например, частично или полностью, облегчать, улучшать, ослаблять, ингибировать или снижать тяжесть, и/или снижать частоту, и, необязательно, замедлять деют одного или более проявлений или симптомов, признаков и/или причин нарушения, например, миеломы. В варианте осуществления лечение является лечением индивидуума, у которого не наблюдают некоторые признаки нарушения, например, миеломы, и/или индивидуума, у которого наблюдают лишь ранние признаки нарушения, например, нефропатии. В варианте осуществления лечение является лечением индивидуума, у которого наблюдают один или более развившихся признаков нарушения, например, миеломы. В варианте осуществления лечение является лечением индивидуума, у которого диагностировали нарушение, например, миелому.

В рамках изобретения термин "профилактика" нарушения, например, миеломы, означает, что менее вероятно, что индивидуум (например, человек) будет иметь нарушение, например, миелому, если индивидууму вводят молекулу антитела.

Различные аспекты композиций и способов, представленных в настоящем описании, более подробно описаны ниже. Дополнительные определения приведены на всем протяжении описания.

CD138.

CD138 является белком, который у человека кодируется геном SDC1. CD138 также известен как синдекан 1, протеогликан синдекан 1, антиген CD138, SYND1, SDC, синдекан-1 или синдекан.

CD138 является трансмембранным (типа I) гепарансульфатным протеогликаном и членом синдеканового семейства протеогликанов. Синдеканы опосредуют связывание клеток, передачу сигнала в клетке, и организацию цитоскелета, и синдекановые рецепторы необходимы для интернализации белка tat ВИЧ-1. CD138 функционирует в качестве интегрального мембранного белка и участвует в пролиферации клеток, миграции клеток и взаимодействиях клетка-матрикс с помощью его рецептора белков внеклеточного матрикса. Измененная экспрессия CD138 определена в нескольких разных типах опухолей.

Кор CD138 включает три основных домена: 1) короткий цитоплазматический домен, 2) проходящий через плазматическую мембрану гидрофобный домен и 3) длинный внеклеточный домен. Функции доменов CD138 описаны, например, в Stepp et al. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;4(4):235-249). Цитоплазматические домены могут передавать сигналы, а также связываться с якорными молекулами, включая членов семейства PDZ. Гепарансульфатные цепи CD138 также выполняют важные биологические функции. У млекопитающих CD138 является главным гепарансульфатным протеогликаном (HSPG) на эпителиальных клетках с высокими уровнями экспрессии (Fukiet al. *J Clin Invest*. 1997; 100(6): 1611-1622). Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что HSPG CD138 позволяют протеогликану связываться с гепарин-связывающими участками ряда белков ECM, факторов роста, цитокинов и других белков (Stepp et al. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;4(4): 235-249).

Например, сигнальный пептид содержит остатки 1-22; внеклеточный домен содержит остатки 23-254; трансмембранный домен содержит остатки 255-275; цитоплазматический домен содержит остатки 276-310; или интегрин-связывающий домен (IBD) содержит остатки 88-122 белка CD138 человека, например, любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

В варианте осуществления молекула антитела против CD138, представленная в настоящем описании, может модулировать (например, ингибировать) связывание CD138 с одним или более белками, взаимодействующими (например, связывающимися прямо или косвенно) с внеклеточным доменом CD138. В варианте осуществления молекула антитела против CD138, представленная в настоящем описании, может модулировать (например, ингибировать) функцию, ассоциированную с белком, взаимодействующим (например, связывающимся прямо или косвенно) с внеклеточным доменом CD138. В варианте осуществления взаимодействующий с CD138 белок связывается с внеклеточным доменом CD138 напрямую. В варианте осуществления взаимодействующий с CD138 белок связывается с внеклеточным доменом CD138 через гликозаминогликановую (GAG) цепь.

Примеры взаимодействующих с CD138 белков и их функций описаны, например, в Stepp et al. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015;4(4): 235-249, содержание которого включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Белки, способные взаимодействовать с внеклеточным доменом CD138 прямо или косвенно, включают, в качестве неограничивающих примеров, белок матрикса (например, ламинин, фибронектин, тромбоспондин, коллаген, фибрин, HB-GAM, тенасцин, витронектин, фибриллин или тропоэластин), протеазу (например, MMP7, MMP9, ADAMTS4, MT1-PPT, эластазу нейтрофилов, катепсин G или карбоксипепти-

дазу), рецептор (например, интегрин, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$ или $\alpha_M\beta_2$), цитокин или фактор роста (например, морфоген (например, активин, BMP-2, BMP-4, хордин, Sonic Hedgehog, Frizzled-родственный белок, пептид Sprouty, любой из Wnt1-Wnt13), антиангиогенный фактор (например, ангиостатин или эндостатин), фактор роста (например, амфирегулин, бетацеллюлин, HB-EGF, нейрегулин, любой из FGF1-FGF23, PDGF, GDNF, VEGF, HGF, TGF β 1, TGF β 2, TPA или PAI-1) или цитокин (например, GM-KCФ, ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-7, ИЛ-12, интерферон, ФНО α , СС-хемокин или СХС-хемокин), белок, связанный с энергетическим балансом (например, АроВ, АроЕ или липопротеинлипазу), компонент компонента или белок свертывания (например, антитромбин II, тканевой фактор (TF), ингибитор пути, фактор IX, фактор X, фактор XI или фактор XII) или белок оболочки вируса или паразита (например, tat ВИЧ-1, gp41 ВИЧ-1, gp120 ВИЧ-1, gB HSV, gC HSV, gD HSV, белок оболочки HHV-6 или HHV-8 или G-белок RSV).

CD138, экспрессируемый на поверхности клетки, может расщепляться специфическими протеазами, и шеддинг CD138 отвечает за опосредование паракриной и аутокринной функции. Подвергнутый шеддингу CD138 представляет собой растворимый и секретируемый эктодомен (ECD) в крови и матриксе. Подвергнутый шеддингу CD138 является показателем неблагоприятного прогноза у пациентов с множественной миеломой и усиленного прогрессирования опухоли в моделях миеломы на мышах. Как правило, подвергнутый шеддингу CD138 не считают главной причиной манифестации заболевания. Транслокация CD138 в ядро клетки может коррелировать с дифференцировкой и пролиферацией некоторых опухолевых клеток. В варианте осуществления молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, преимущественно нацелены на мембраносвязанный CD138 по сравнению с растворимым CD138.

CD138, как правило, отсутствует на В-лимфоцитах и экспрессируется после начала дифференцировки плазматических клеток. CD138 сильно экспрессируется на злокачественных плазматических клетках (миеломе) и обуславливает прогрессирование заболевания. CD138 вовлечен в различные биологические функции. Например, он может связываться с внеклеточными белками, факторами роста и хемокинами; связывает и активирует интегрин $\alpha_v\beta_3$ и $\alpha_v\beta_5$ при кластеризации; регулирует биогенез экзосом; и регулирует микроокружение костного мозга, поддерживающее рост и метастазирование миеломы. С помощью направленного воздействия на CD138 можно ослаблять множество сигналов.

CD138 подвергается положительной регуляции при множественной миеломе (Tassone et al. Blood. 104(12): 3688-3696). Он гиперэкспрессирован на злокачественных плазматических клетках. Клетки множественной миеломы, как правило, экспрессируют в 50-200 раз более высокие уровни CD138. Уровни растворимого CD138 (sCD138), как правило, составляют от менее 60 нг/мл в нормальной сыворотке до 200-1500 нг/мл в сыворотках пациентов с множественной миеломой. CD138 гиперэкспрессирован у приблизительно 80% пациентов с множественной миеломой.

CD138 можно использовать в качестве первичного диагностического маркера множественной миеломы. Повышенные уровни подвергнутого шеддингу CD138 в сыворотке коррелировали с повышенной опухолевой нагрузкой и худшими исходами. CD138+ миеломные клетки демонстрируют более высокую пролиферацию, и пациенты с CD138+ миеломой имеют более низкие показатели общей выживаемости. CD138+ миеломные клетки аномально экспрессируют ангиогенные факторы, например, HGF, IL-15, ANG, APRIL, CTGF или TGFA (Hose et al. Blood. 2009;114(1): 128-143). Уровни экспрессии CD138 и его высвобожденного внеклеточного домена коррелируют с озлокачествлением опухоли, фенотипом и метастатическим потенциалом в случае солидных опухолей и гемобластозов. Экспрессия CD138 варьируется в зависимости от типа злокачественного новообразования, но дифференциальные профили экспрессии между нормальными и злокачественными клетками в эпителиальном и стромальном компартаментах напрямую ассоциированы с агрессивностью опухолей и клиническим исходом и выживаемостью пациента.

Примеры аминокислотных и нуклеотидных последовательностей CD138 человека описаны, например, в Mali et al. J Biol Chem. 1990; 265(12): 6884-6889; Lories et al. J Biol Chem. 1992;267(2): 1116-1122; и представлены на фиг. 1.

Далее представлена аминокислотная последовательность примера предшественника CD138 человека (SEQ ID NO: 1).

```

MRRAALWLWLCALALSLQPALPQIVATNLPPEDQDGSDDSDNFSGSGAGALQDITLS
QQTPSTWKDQTLLTAIPTSPEPTGLEATAASTSTLPAGEGPKGEAVVLPVEVEPLTARE
QEATPRPRETTQLPTTHQASTTTATTAQEPATSHPHRDMQPGHNHETSTPAGPSQADLHTP
HTEDGGPSATERAAEDGASSQLPAAEGSGEQDFTFETSGENTAVVAVEPDRRNQSPVDQ
GATGASQGLLDRKEVLGGVIAAGLVGLIFAVCLVGFMLYRMKKKDEGYSLEEPKQAN
GGAYQKPTKQEEFYA

```

Далее представлена аминокислотная последовательность примера варианта предшественника CD138 человека (Q136L) (SEQ ID NO: 2).

MRRALWLWLCALALSLQPALPQIVATNLPPEDQDGSDDSDNFSGSGAGALQ
 DITLSQQTPTWKDQTQLLTAIPTSPEPTGLEATAASTSTLPAGEGPKKEGEAVVLPVEVEPGL
 TAREQEATPRPRETTQLPTTHLASTTTATTAQEPATSHPHRDMQPGHHETSTPAGPSQAD
 LHPTHTEDGGPSATERAAEDGASSQLPAAEGSGEQDFTFETSGENTA VVAVEPDRRNQS
 PVDQGATGASQGLLDRKEVLGGVIAAGLVGLIFAVCLVGFMLYRMKKKDEGYSLEEP
 KQANGGAYQKPTKQEEFYA

Далее представлена аминокислотная последовательность примера варианта предшественника CD138 человека (T76M) (SEQ ID NO: 3).

MRRALWLWLCALALSLQPALPQIVATNLPPEDQDGSDDSDNFSGSGAGALQ
 DITLSQQTPTWKDQTQLLTAIPMSPEPTGLEATAASTSTLPAGEGPKKEGEAVVLPVEVEPGL
 TAREQEATPRPRETTQLPTTHQASTTTATTAQEPATSHPHRDMQPGHHETSTPAGPSQA
 DLHPTHTEDGGPSATERAAEDGASSQLPAAEGSGEQDFTFETSGENTA VVAVEPDRRNQ
 SPVDQGATGASQGLLDRKEVLGGVIAAGLVGLIFAVCLVGFMLYRMKKKDEGYSLEE
 PKQANGGAYQKPTKQEEFYA

Сигнальный пептид включает аминокислоты 1-22 любой из SEQ ID NO: 1-3. Зрелый пептид включает аминокислоты 23-310 любой из SEQ ID NO: 1-3. Внеклеточный домен включает аминокислоты 23-254 любой из SEQ ID NO: 1-3. Трансмембранный домен включает аминокислоты 255-275 любой из SEQ ID NO: 1-3. Цитоплазматический домен включает аминокислоты 276-310 любой из SEQ ID NO: 1-3.

Далее представлен пример кодирующей нуклеотидной последовательности CD138 человека (SEQ ID NO: 4). Эта нуклеотидная последовательность кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

ATGAGGCGCGGGCGCTCTGGCTCTGGCTGTGCGCGCTGGCGCTGAGCCTGC
 AGCCGGCCCTGCCGAAATTGTGGCTACTAATTTGCCCCCTGAAGATCAAGATGGCT
 CTGGGGATGACTCTGACAACCTCTCCGGCTCAGGTGCAGGTGCTTTGCAAGATATCA
 CCTTGTCACAGCAGACCCCTCCACTTGGAAGGACACGCAGCTCCTGACGGCTATTC
 CCACGTCTCCAGAACCACCGGCCTGGAGGCTACAGCTGCCTCCACCTCCACCTGC
 CGGCTGGAGAGGGGCCAAGGAGGGAGAGGCTGTAGTCCTGCCAGAAGTGGAGCC
 TGGCCTCACCGCCCGGAGCAGGAGGCCACCCCGACCCAGGGAGACCACACAGC
 TCCCGACCACTCATCAGGCCTCAACGACCACAGCCACCACGGCCCAGGAGCCCCGCC
 ACCTCCACCCCCACAGGGACATGCAGCCTGGCCACCATGAGACCTCAACCCCTGC
 AGGACCCAGCCAAGCTGACCTTCACACTCCCCACACAGAGGATGGAGGTCTTTCTG
 CCACCGAGAGGGCTGCTGAGGATGGAGCCTCCAGTCAGCTCCCAGCAGCAGAGGGC
 TCTGGGGAGCAGGACTTCACCTTTGAAACCTCGGGGGAGAATACGGCTGTAGTGGC
 CGTGGAGCCTGACCGCCGGAACCAGTCCCCAGTGGATCAGGGGGCCACGGGGGCCT
 CACAGGGCCTCCTGGACAGGAAAAGAGGTGCTGGGAGGGGTCATTGCCGGAGGCCTC
 GTGGGGCTCATCTTTGCTGTGTGCCTGGTGGGTTTCATGCTGTACCGCATGAAGAAG
 AAGGACGAAGGCAGCTACTCCTTGAGGAGCCGAAACAAGCCAACGGCGGGGCCT
 ACCAGAAGCCCACCAAACAGGAGGAATTCTATGCCTGA

Далее представлен другой пример кодирующей нуклеотидной последовательности CD138 человека (SEQ ID NO: 5). Эта нуклеотидная последовательность также кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

ATGAGGCGCGGGCGCTCTGGCTCTGGCTGTGCGCGCTGGCGCTGAGCCTGC
 AGCCGGCCCTGCCGAAATTGTGGCTACTAATTTGCCCCCTGAAGATCAAGATGGCT
 CTGGGGATGACTCTGACAACCTCTCCGGCTCAGGTGCAGGTGCTTTGCAAGATATCA
 CCTTGTCACAGCAGACCCCTCCACTTGGAAGGACACGCAGCTCCTGACGGCTATTC
 CCACGTCTCCAGAACCACCGGCCTGGAGGCTACAGCTGCCTCCACCTCCACCTGC
 CGGCTGGAGAGGGGCCAAGGAGGGAGAGGCTGTAGTCCTGCCAGAAGTGGAGCC
 TGGCCTCACCGCCCGGAGCAGGAGGCCACCCCGACCCAGGGAGACCACACAGC
 TCCCGACCACTCATCAGGCCTCAACGACCACAGCCACCACGGCCCAGGAGCCCCGCC
 ACCTCCACCCCCACAGGGACATGCAGCCTGGCCACCATGAGACCTCAACCCCTGC
 AGGACCCAGCCAAGCTGACCTTCACACTCCCCACACAGAGGATGGAGGTCTTTCTG
 CCACCGAGAGGGCTGCTGAGGATGGAGCCTCCAGTCAGCTCCCAGCAGCAGAGGGC
 TCTGGGGAGCAGGACTTCACCTTTGAAACCTCGGGGGAGAATACGGCTGTAGTGGC
 CGTGGAGCCTGACCGCCGGAACCAGTCCCCAGTGGATCAGGGGGCCACGGGGGCCT
 CACAGGGCCTCCTGGACAGGAAAAGAGGTGCTGGGAGGGGTCATTGCCGGAGGCCTC
 GTGGGGCTCATCTTTGCTGTGTGCCTGGTGGGTTTCATGCTGTACCGCATGAAGAAG
 AAGGACGAAGGCAGCTACTCCTTGAGGAGCCGAAACAAGCCAACGGCGGGGCCT
 ACCAGAAGCCCACCAAACAGGAGGAATTCTATGCCTGA

В рамках изобретения, если молекула антитела против CD138 связывается или, по существу, связывается с CD138 человека, она связывается или, по существу, связывается с одной или более изоформами CD138 человека. В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с CD138 человека, имеющим аминокислотную последовательность, представленную в настоящем описании, или кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной в настоящем описании. В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с CD138 человека, содержащим аминокислоты 23-254 любой из SEQ ID NO: 1-3.

Примеры аминокислотных и нуклеотидных последовательностей CD138 мыши описаны, например, в Saunders et al. J Cell Biol. 1989; 108(4): 1547-1556; и Vihinen et al. J Biol Chem. 1993; 268(23): 17261-17269.

Далее представлена аминокислотная последовательность примера предшественника CD138 мыши (SEQ ID NO: 6).

```
MRRAALWLWLCALALRLQPALPQIVAVNVPPEDQDGSDDSDNFSGSGTGALP
DTLSRQTPSTWKDVWLLTATPTAPEPTSSNTETAFTSVLPAGEKPEEGEPVLHVEAEPGF
TARDKEKEVTTRPRETVQLPITQRASTVVRVTTAQAAVTSHPHGGMQPLHETSAPTA PG
QPDHQPPRVEGGGTSVIKEVVEDGTANQLPAGEGSGEQDFTFETSGENTAVA AVEPGLR
NQPPVDEGATGASQSLDRKEVLGGVIAGGLVGLIFAVCLVAFMLYRMKKKDEGSYSL
EERPKQANGGAYQKPTKQEEFYA
```

Сигнальный пептид включает аминокислоты 1-22 SEQ ID NO: 6. Зрелый пептид включает аминокислоты 23-311 SEQ ID NO: 6. Внеклеточный домен включает аминокислоты 23-255 SEQ ID NO: 6. Трансмембранный домен включает аминокислоты 256-276 SEQ ID NO: 4. Цитоплазматический домен включает аминокислоты 277-311 SEQ ID NO: 6.

Далее представлен пример кодирующей нуклеотидной последовательности CD138 мыши (SEQ ID NO: 7).

```
ATGAGACGCGCGCGCTCTGGCTCTGGCTCTGCGCGCTGGCGCTGCGCCTGC
AGCCTGCCCTCCCGCAAATTTGTGGCTGTAAATGTTCCCTCCTGAAGATCAGGATGGCT
CTGGGGATGACTCTGACAACCTCTCTGGCTCTGGCACAGGTGCTTTGCCAGATACTT
TGTCACGGCAGACACCTTCCACTTGGAAAGGACGTGTGGCTGTTGACAGCCACGCCCCA
CAGCTCCAGAGCCCACCAGCAGCAACACCGAGACTGCTTTTACCTCTGTCTGCCAG
CCGGAGAGAAGCCCGAGGAGGGAGAGCCTGTGCTCCATGTAGAAGCAGAGCCTGG
CTTCACTGCTCGGGACAAGGAAAAGGAGGTCACCACCAGGCCAGGGAGACCGTGC
AGCTCCCCATCACCCAACGGGCCTCAACAGTCAGAGTCACCACAGCCCAGGCAGCT
GTCACATCTCATCCGCACGGGGCATGCAACCTGGCCTCCATGAGACCTCGGCTCCC
ACAGCACCTGGTCAACCTGACCATCAGCCTCCACGTGTGGAGGGTGGCGGCACTTCT
GTCATCAAAGAGGTTGTGCGAGGATGGAACCTGCCAATCAGCTTCCCGCAGGAGAGGG
CTCTGGAGAACAAGACTTCACCTTTGAAACATCTGGGGAGAACACAGCTGTGGCTG
CCGTAGAGCCCGCCTGCGGAATCAGCCCCCGGTGGACGAAGGAGCCACAGGTGCT
TCTCAGAGCCTTTTGGACAGGAAGGAAGTGTCTGGGAGGTGTCATTGCCGGAGGCCT
AGTGGGCCTCATCTTTGCTGTGTGCCTGGTGGCTTTCATGCTGTACCGGATGAAGAA
GAAGGACGAAGGCAGCTACTCCTTGGAGGAGCCCCAACAAGCCAATGGCGGTGCCT
ACCAGAAACCCACCAAGCAGGAGGAGTTCTACGCCTGA
```

В рамках изобретения, если молекула антитела против CD138 связывается или, по существу, связывается с CD138 мыши, она связывается или, по существу, связывается с одной или более изоформами CD138 мыши. В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с CD138 человека, имеющим аминокислотную последовательность, представленную в настоящем описании, или кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной в настоящем описании. В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с CD138 мыши, содержащим аминокислоты 23-255 SEQ ID NO: 6.

Эпитоп.

Молекула антитела, представленная в настоящем описании, может связываться с эпитопом на CD138 (например, CD138 человека). Например, эпитоп, связываемый молекулой антитела, представленной в настоящем описании, может включать одну или более точек контакта эпитопа, представленных в настоящем описании.

Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что в варианте осуществления антитело, связанное с IBD (например, остатками 88-122 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450) или любой областью CD138, отдаленной от мембраны, может не быть эффективным в передаче сигнала для активации НК-клеток и/или доставке молекул, таких как перфорины и/или гранзимы, в случае цитотоксичности.

В некоторых вариантах осуществления молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, имеют одно, два или все из следующих свойств: оптимальное расстояние эпитопа от мембраны клетки (например, он не находится на N-конце от IDB); подходящая ориентация Fc-области

для контакта с CD16; или правильный контакт с CD138, делающий возможной кластеризацию CD16 на NK-клетках (например, для преодоления эффекта высокой степени гликозилирования на молекулах CD138, которое может ограничивать доступность NK-клеток).

Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что в варианте осуществления изменение положения эпитопа антитела может изменять некоторые затронутые эффекторные механизмы. Например, антителозависимая клеточная цитотоксичность (ADCC) и комплементзависимая цитотоксичность (CDC) могут происходить преимущественно в случае проксимального к мембране эпитопа по сравнению с дистальным к мембране эпитопом (Cleary et al. J Immunol. 2017; 198(10): 3999-4011). В варианте осуществления антитела, созданные для устранения клеток-мишеней с помощью специфических эффекторных механизмов, можно выбрать посредством изменения положения эпитопа антитела (например, расстояния эпитопа от мембраны).

В варианте осуществления механизм вовлечения может влиять на способность антитела опосредовать эффекторные функции. Например, угол связывания антитела с внеклеточной петлей относительно поверхности мембраны может отличаться (например, оно может быть параллельным или перпендикулярным поверхности мембраны) между антителами, связывающимися с одинаковыми пептидными эпитопами.

В варианте осуществления молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, связываются с эпитопом, имеющим одно, два или все из следующих свойств: он является проксимальным к мембране клетки, не ограничен или не перекрыт цепями гликозаминогликанов (GAG) или преимущественно присутствует на мембраносвязанном CD138. В варианте осуществления молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, могут связываться с желаемой областью эпитопа и контактировать в оптимальном положении относительно мембраны. В варианте осуществления эпитоп является линейным эпитопом. В варианте осуществления молекула антитела связывается с внеклеточной областью CD138, отдаленной относительно трансмембранной области. В варианте осуществления эпитоп является несмежным или конформационным эпитопом.

На фиг. 2 показаны пептиды для идентификации желаемых эпитопов для антител против CD138. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что в варианте осуществления молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, нацелены на область пептида между остатками Gly217-Glu251 CD138 человека, например, как показано на фиг. 1. Ожидают, что эта область будет иметь конформацию линейной случайной спирали. В варианте осуществления молекула антитела против CD138 связывается по меньшей мере с одним линейным тетрапептидом в указанной выше области. В варианте осуществления молекула антитела против CD138 связывается с комбинацией линейных тетрапептидов (например, двумя, тремя, четырьмя или более смежными тетрапептидами) в указанной выше области.

Аминокислотные последовательности указанных выше пептидов приведены в табл. 3.

Таблица 3

Пептиды для идентификации эпитопов CD138

Пептид	Область	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO	Длина
Pep1a	23-50	QIVATNLPPEDQDGSDDSDNFSGSGAGALQ DITLSQQT	8	39
Pep1b	51-95	ALQDITLSQQTPTWKDTQLLTAIPTSPEPTG LEATAASTSTLPA	9	45
Pep2a	88-121	ASTSTLPAGEGPKEGEAVVLPVPEGLTARE QEA	10	34
Pep2b	88-102	ASTSTLPAGEGPKEG	11	15
Pep3	111-150	EPGLTAREQEATPRPRETTQLPTTHQASTTTA TTAQEPAT	12	40

Pep4	146-180	QEPATSHPHRDMQPGHHETSTPAGPSQADLH TPHT	13	35
Pep5-6	176-250	HTPHTE <u>GGPSATERAAEDGASSQLPAAEGS</u> GEQDFTFETS GENTAVVAVEPDRRNQSPVDQ GATGASQGLLDRK	14	75
Pep5	176-214	HTPHTE <u>GGPSATERAAEDGASSQLPAAEGS</u> GEQDFTFE	15	39
Pep6	210-250	DFTFETS GENTAVVAVEPDRRNQSPVDQGAT GASQGLLDRK	16	41
Pep6a	220-245	TAVVAVEPDRRNQSPVDQGATGASQG	17	26

В табл. 3 перекрывающиеся аминокислоты среди пептидов выделены полужирным шрифтом; остатки эпитопа BB4 показаны курсивом; остатки серина, несущие цепь гликозаминогликана (гепарансульфата, хондроитинсульфата), подчеркнуты. Термин "пептид" и обозначение "Pep" в настоящем описании используют взаимозаменяемо. При обозначении пептидов строчные буквы и прописные буквы обладают одним и тем же значением. Например, термины "пептид 1A", "пептид 1a", "Pep1A" и "Pep1a" можно использовать для обозначения одного и того же пептида.

В настоящем описании представлены другие примеры пептидов, используемых для идентификации желаемых эпитопов для антител против CD138, например, на фиг. 13 и 22С.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует (например, связывается или, по существу, связывается) с областью CD138, соответствующей одному или более пептидам, приведенным в табл. 3 и на фиг. 13 или 22С. В варианте осуществления пептид является Pep6. В варианте осуществления пептид является Pep6a. В варианте осуществления пептид является Pep5. В варианте осуществления пептид является Pep4. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep6 или Pep6a и не контактирует с Pep4. В варианте осуществления молекула антитела не контактирует с любыми из Pep1a, Pep1b, Pep2a, Pep2b, Pep3, Pep4 или Pep5. В варианте осуществления молекула антитела не контактирует с Pep2a. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a, но не связывается с тем же эпитопом, что и BB4.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a и Pep6. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a и Pep2c. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep6b. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a, Pep2c и Pep6b. В варианте осуществления молекула антитела не контактирует с Pep6e. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep6b и не контактирует с Pep6e. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a и Pep2c и не контактирует с Pep6e. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a, Pep2c и Pep6b и не контактирует с Pep6e.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a и Pep2d. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep6b и Pep6f. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с Pep2a, Pep2d, Pep6b, и Pep6f.

В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с CD138 во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену CD138. В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления N-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим пять или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим шесть или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим семь или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим восемь или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим девять или

более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим десять или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим одиннадцать или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим двенадцать или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену.

В варианте осуществления внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, соответствует (например, содержит или состоит из) Рерб. В варианте осуществления внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, соответствует (например, содержит или состоит из) Рерба, 6b, 6e и/или 6f. В варианте осуществления внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, соответствует (например, содержит или состоит из) Рер5.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с четырьмя или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 или 41) последовательными аминокислотными остатками в Рерб. В варианте осуществления молекула антитела контактирует с четырьмя или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26) последовательными аминокислотными остатками в Рерба.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37 или 38) из следующих пептидов (например, из Рерба): DFTF (SEQ ID NO: 18); FTFE (SEQ ID NO: 19); TFET (SEQ ID NO: 20); FETS (SEQ ID NO: 21); ETSG (SEQ ID NO: 22); TSGE (SEQ ID NO: 23); SGEN (SEQ ID NO: 24); GENT (SEQ ID NO: 25); ENTA (SEQ ID NO: 26); NTAV (SEQ ID NO: 27); TAVV (SEQ ID NO: 28); AVVA (SEQ ID NO: 29); VVAV (SEQ ID NO: 30); VAVE (SEQ ID NO: 31); AVEP (SEQ ID NO: 32); VEPD (SEQ ID NO: 33); EPDR (SEQ ID NO: 34); PDRR (SEQ ID NO: 35); DRRN (SEQ ID NO: 36); RRNQ (SEQ ID NO: 37); RNQS (SEQ ID NO: 38); NQSP (SEQ ID NO: 39); QSPV (SEQ ID NO: 40); SPVD (SEQ ID NO: 41); PVDQ (SEQ ID NO: 42); VDQG (SEQ ID NO: 43); DQGA (SEQ ID NO: 44); QGAT (SEQ ID NO: 45); GATG (SEQ ID NO: 46); ATGA (SEQ ID NO: 47); TGAS (SEQ ID NO: 48); GASQ (SEQ ID NO: 49); ASQG (SEQ ID NO: 50); SQGL (SEQ ID NO: 51); QGLL (SEQ ID NO: 52); GLLD (SEQ ID NO: 53); LLDR (SEQ ID NO: 54) или LDRK (SEQ ID NO: 55).

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с пятью или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 или 41) последовательными аминокислотными остатками в Рерба.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 или 37) из следующих пептидов (например, из Рерба): DFTFE (SEQ ID NO: 56); FTFET (SEQ ID NO: 57); TFETS (SEQ ID NO: 58); FETSG (SEQ ID NO: 59); ETSGE (SEQ ID NO: 60); TSGEN (SEQ ID NO: 61); SGEN (SEQ ID NO: 62); GENTA (SEQ ID NO: 63); ENTAV (SEQ ID NO: 64); NTAVV (SEQ ID NO: 65); TAVVA (SEQ ID NO: 66); AVVAV (SEQ ID NO: 67); VVAVE (SEQ ID NO: 68); VAVEP (SEQ ID NO: 69); AVEPD (SEQ ID NO: 70); VEPDR (SEQ ID NO: 71); EPDRR (SEQ ID NO: 72); PDRRN (SEQ ID NO: 73); DRRNQ (SEQ ID NO: 74); RRNQS (SEQ ID NO: 75); RNQSP (SEQ ID NO: 76); NQSPV (SEQ ID NO: 77); QSPVD (SEQ ID NO: 78); SPVDQ (SEQ ID NO: 79); PVDQG (SEQ ID NO: 80); VDQGA (SEQ ID NO: 81); DQGAT (SEQ ID NO: 82); QGATG (SEQ ID NO: 83); GATGA (SEQ ID NO: 84); ATGAS (SEQ ID NO: 85); TGASQ (SEQ ID NO: 86); GASQG (SEQ ID NO: 87); ASQGL (SEQ ID NO: 88); SQGLL (SEQ ID NO: 89); QGLLD (SEQ ID NO: 90); GLLDR (SEQ ID NO: 91) или LLDRK (SEQ ID NO: 92).

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с шестью или более (например, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 или 41) последовательными аминокислотными остатками в Рерба.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 или 36) из следующих пептидов (например, из Рерба): DFTFET (SEQ ID NO: 93); FTFETS (SEQ ID NO: 94); TFETSG (SEQ ID NO: 95); FETSGE (SEQ ID NO: 96); ETSGEN (SEQ ID NO: 97); TSGENT (SEQ ID NO: 98); SGEN (SEQ ID NO: 99); GENTA (SEQ ID NO: 100); ENTAV (SEQ ID NO: 101); NTAVV (SEQ ID NO: 102); TAVVA (SEQ ID NO: 103); AVVAV (SEQ ID NO: 104); VVAVE (SEQ ID NO: 105); VAVEP (SEQ ID NO: 106); AVEPD (SEQ ID NO: 107); VEPDR (SEQ ID NO: 108); EPDRR (SEQ ID NO: 109); PDRRN (SEQ ID NO: 110); DRRNQ (SEQ ID NO: 111); RRNQS (SEQ ID NO: 112); RNQSP (SEQ ID NO: 113); NQSPV (SEQ ID NO: 114); QSPVD (SEQ ID NO: 115); SPVDQ (SEQ ID NO: 116); PVDQG (SEQ ID NO: 117); VDQGA (SEQ ID NO: 118); DQGAT (SEQ ID NO: 119); QGATG (SEQ ID NO: 120); GATGA (SEQ ID NO: 121); ATGAS (SEQ ID NO: 122); TGASQ (SEQ ID NO: 123); GASQG (SEQ ID NO: 124); ASQGL (SEQ ID NO: 125); SQGLL (SEQ ID NO: 126); QGLLD (SEQ ID NO: 127) или GLLDRK (SEQ ID NO: 128).

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с четырьмя или более (например, 5, 6,

7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 или 36) последовательными аминокислотными остатками в Pep5.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, или 36) из следующих пептидов (например, из Pep5): HTPH (SEQ ID NO: 129), TPHT (SEQ ID NO: 130), PHTE (SEQ ID NO: 131), HTED (SEQ ID NO: 132), TEDG (SEQ ID NO: 133), EDGG (SEQ ID NO: 134), DGGP (SEQ ID NO: 135), GGPS (SEQ ID NO: 136), GPSA (SEQ ID NO: 137), PSAT (SEQ ID NO: 138), SATE (SEQ ID NO: 139), ATER (SEQ ID NO: 140), TERA (SEQ ID NO: 141), ERAA (SEQ ID NO: 142), RAAE (SEQ ID NO: 143), AAED (SEQ ID NO: 144), AEDG (SEQ ID NO: 145), EDGA (SEQ ID NO: 146), DGAS (SEQ ID NO: 147), GASS (SEQ ID NO: 148), ASSQ (SEQ ID NO: 149), SSQL (SEQ ID NO: 150), SQLP (SEQ ID NO: 151), QLPA (SEQ ID NO: 152), LPAA (SEQ ID NO: 153), PAAE (SEQ ID NO: 154), AAEG (SEQ ID NO: 155), AEGS (SEQ ID NO: 156), EGSG (SEQ ID NO: 157), GSGE (SEQ ID NO: 158), SGEQ (SEQ ID NO: 159), GEQD (SEQ ID NO: 160), EQDF (SEQ ID NO: 161), QDFT (SEQ ID NO: 162), DFTF (SEQ ID NO: 18) или FTFE (SEQ ID NO: 19).

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с пятью или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 или 35) последовательными аминокислотными остатками в Pep5.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, или 35) из следующих пептидов (например, из Pep5): HTPHT (SEQ ID NO: 163), TPHTE (SEQ ID NO: 164), PHTED (SEQ ID NO: 165), HTEDG (SEQ ID NO: 166), TEDGG (SEQ ID NO: 167), EDGGP (SEQ ID NO: 168), DGGPS (SEQ ID NO: 169), GGPSA (SEQ ID NO: 170), GPSAT (SEQ ID NO: 171), PSATE (SEQ ID NO: 172), SATER (SEQ ID NO: 173), ATERA (SEQ ID NO: 174), TERA A (SEQ ID NO: 175), ERAAE (SEQ ID NO: 176), RAAED (SEQ ID NO: 177), AAEDG (SEQ ID NO: 178), AEDGA (SEQ ID NO: 179), EDGAS (SEQ ID NO: 180), DGASS (SEQ ID NO: 181), GASSQ (SEQ ID NO: 182), ASSQL (SEQ ID NO: 183), SSQLP (SEQ ID NO: 184), SQLPA (SEQ ID NO: 185), QLPA A (SEQ ID NO: 186), LPAAE (SEQ ID NO: 187), PAAEG (SEQ ID NO: 188), AAEGS (SEQ ID NO: 189), AEGSG (SEQ ID NO: 190), EGSGE (SEQ ID NO: 191), GSGEQ (SEQ ID NO: 192), SGEQD (SEQ ID NO: 193), GEQDF (SEQ ID NO: 194), EQDFT (SEQ ID NO: 195), QDFTF (SEQ ID NO: 196) или DFTFE (SEQ ID NO: 56).

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с шестью или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34) последовательными аминокислотными остатками в Pep5.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34) из следующих пептидов (например, из Pep5): HTPHTE (SEQ ID NO: 197), TPHTED (SEQ ID NO: 198), PHTEDG (SEQ ID NO: 199), HTEDGG (SEQ ID NO: 200), TEDGGP (SEQ ID NO: 201), EDGGPS (SEQ ID NO: 202), DGGPSA (SEQ ID NO: 203), GGPSAT (SEQ ID NO: 204), GPSATE (SEQ ID NO: 205), PSATER (SEQ ID NO: 206), SATERA (SEQ ID NO: 207), ATERAA (SEQ ID NO: 208), TERA AE (SEQ ID NO: 209), ERAAED (SEQ ID NO: 210), RAAEDG (SEQ ID NO: 211), AAEDGA (SEQ ID NO: 212), AEDGAS (SEQ ID NO: 213), EDGASS (SEQ ID NO: 214), DGASSQ (SEQ ID NO: 215), GASSQL (SEQ ID NO: 216), ASSQLP (SEQ ID NO: 217), SSQLPA (SEQ ID NO: 218), SQLPAA (SEQ ID NO: 219), QLPA AE (SEQ ID NO: 220), LPAAEG (SEQ ID NO: 221), PAAEGS (SEQ ID NO: 222), AAEGSG (SEQ ID NO: 223), AEGSGE (SEQ ID NO: 224), EGSGEQ (SEQ ID NO: 225), GSGEQD (SEQ ID NO: 226), SGEQDF (SEQ ID NO: 227), GEQDFT (SEQ ID NO: 228), EQDFTF (SEQ ID NO: 229) или QDFTFE (SEQ ID NO: 230).

В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела не связывается с эпитопом на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, соответствует Pep1a, Pep1b, Pep2a, Pep2b, Pep2c, Pep2d, Pep3, Pep4 или их комбинации. В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138.

В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена. В варианте осуществления внеклеточная область, отдаленная по

отношению к трансмембранному домену, соответствует Pep1a, Pep1b, Pep2a, Pep2b, Pep2c, Pep2d, Pep3, Pep4 или их комбинации. В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138. В варианте осуществления молекула антитела не связывается или связывается с низкой аффинностью с эпитопом ВВ4.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим пять или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим шесть или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим семь или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим восемь или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим девять или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим десять или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим одиннадцать или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с эпитопом на CD138, содержащим двенадцать или более последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.

В варианте осуществления внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, соответствует (например, содержит или состоит из) Pep2a.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с четырьмя или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 или 34) последовательными аминокислотными остатками в Pep2a.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, или 31) из следующих пептидов (например, из Pep2a): ASTS (SEQ ID NO: 231), STST (SEQ ID NO: 232), TSTL (SEQ ID NO: 233), STLP (SEQ ID NO: 234), TLP A (SEQ ID NO: 235), LPAG (SEQ ID NO: 236), PAGE (SEQ ID NO: 237), AGE G (SEQ ID NO: 238), GEGP (SEQ ID NO: 239), EGPK (SEQ ID NO: 240), GPKE (SEQ ID NO: 241), PKEG (SEQ ID NO: 242), KEGE (SEQ ID NO: 243), EGEA (SEQ ID NO: 244), GEAV (SEQ ID NO: 245), EAVV (SEQ ID NO: 246), AVVL (SEQ ID NO: 247), VVLP (SEQ ID NO: 248), VLPE (SEQ ID NO: 249), LPEV (SEQ ID NO: 250), PEVE (SEQ ID NO: 251), EVEP (SEQ ID NO: 252), VEPG (SEQ ID NO: 253), EPGL (SEQ ID NO: 254), PGLT (SEQ ID NO: 255), GLTA (SEQ ID NO: 256), LTAR (SEQ ID NO: 257), TARE (SEQ ID NO: 258), AREQ (SEQ ID NO: 259), REQE (SEQ ID NO: 260) или EQEA (SEQ ID NO: 261). В варианте осуществления молекула антитела не контактирует с LPEV (SEQ ID NO: 250).

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с пятью или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30) последовательными аминокислотными остатками в Pep2a.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 или 33) из следующих пептидов (например, из Pep2a): ASTS (SEQ ID NO: 231), STST (SEQ ID NO: 232), TSTL (SEQ ID NO: 233), STLP (SEQ ID NO: 234), TLP A (SEQ ID NO: 235), LPAG (SEQ ID NO: 236), PAGE (SEQ ID NO: 237), AGE G (SEQ ID NO: 238), GEGP (SEQ ID NO: 239), EGPK (SEQ ID NO: 240), GPKE (SEQ ID NO: 241), PKEG (SEQ ID NO: 242), KEGE (SEQ ID NO: 243), EGEA (SEQ ID NO: 244), GEAV (SEQ ID NO: 245), EAVV (SEQ ID NO: 246), AVVL (SEQ ID NO: 247), VVLP (SEQ ID NO: 248), VLPE (SEQ ID NO: 249), LPEV (SEQ ID NO: 250), PEVE (SEQ ID NO: 251), EVEP (SEQ ID NO: 252), VEPG (SEQ ID NO: 253), EPGL (SEQ ID NO: 254), PGLT (SEQ ID NO: 255), GLTA (SEQ ID NO: 256), LTAR (SEQ ID NO: 257), TARE (SEQ ID NO: 258), AREQ (SEQ ID NO: 259), REQE (SEQ ID NO: 260) или EQEA (SEQ ID NO: 261). В варианте осуществления молекула антитела не контактирует с пептидом, содержащим LPEV (SEQ ID NO: 250).

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с шестью или более (например, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 или 29) последовательными аминокис-

лотными остатками в Pep2a.

В варианте осуществления молекула антитела контактирует с одним или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 или 32) из следующих пептидов (например, из Pep2a): ASTS (SEQ ID NO: 231), STST (SEQ ID NO: 232), TSTL (SEQ ID NO: 233), STLP (SEQ ID NO: 234), TLPA (SEQ ID NO: 235), LPAG (SEQ ID NO: 236), PAGE (SEQ ID NO: 237), AGEK (SEQ ID NO: 238), GEGP (SEQ ID NO: 239), EGPK (SEQ ID NO: 240), GPKE (SEQ ID NO: 241), PKEG (SEQ ID NO: 242), KEGE (SEQ ID NO: 243), EGEA (SEQ ID NO: 244), GEAV (SEQ ID NO: 245), EAVV (SEQ ID NO: 246), AVVL (SEQ ID NO: 247), VVLP (SEQ ID NO: 248), VLPE (SEQ ID NO: 249), LPEV (SEQ ID NO: 250), PEVE (SEQ ID NO: 251), EVEP (SEQ ID NO: 252), VEPG (SEQ ID NO: 253), EPGL (SEQ ID NO: 254), PGLT (SEQ ID NO: 255), GLTA (SEQ ID NO: 256), LTAR (SEQ ID NO: 257), TARE (SEQ ID NO: 258), AREQ (SEQ ID NO: 259), REQE (SEQ ID NO: 260), EQEA (SEQ ID NO: 261). В варианте осуществления молекула антитела не контактирует с пептидом, содержащим LPEV (SEQ ID NO: 250).

В варианте осуществления молекула антитела связывается или, по существу, связывается с внеклеточной областью CD138, проксимальной к трансмембранному домену (например, внеклеточной областью, представленной в настоящем описании), и внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену (например, внеклеточной областью, представленной в настоящем описании). В варианте осуществления молекула антитела связывается с внеклеточной областью CD138, проксимальной к трансмембранному домену, с аффинностью связывания, являющейся более высокой (например, по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 или 500 раз), чем аффинность связывания с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела связывается с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, с аффинностью связывания, являющейся более высокой (например, по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400 или 500 раз), чем аффинность связывания с внеклеточной областью CD138, проксимальной к трансмембранному домену.

Молекулы антител.

Настоящее изобретение относится к молекулам антител, связывающимся с CD138, например, молекулой CD138, представленной в настоящем описании.

В рамках изобретения термин "молекула антитела" относится к белку, например, иммуноглобулиновой цепи или ее фрагменту, содержащему по меньшей мере одну последовательность варибельного домена иммуноглобулина. Термин "молекула антитела" включает, например, полноразмерные, зрелые антитела и антигенсвязывающие фрагменты антитела. Например, молекула антитела может включать последовательность варибельного домена тяжелой цепи (H) (сокращенно обозначаемого в настоящем описании как VH) и последовательность варибельного домена легкой цепи (L) (сокращенно обозначаемого в настоящем описании как VL). В другом примере молекула антитела включает две последовательности варибельного домена тяжелой цепи (H) и две последовательности варибельного домена легкой цепи (L), таким образом, образующих два антигенсвязывающих участка, такая как Fab, Fab', F(ab')₂, Fc, Fd, Fd', Fv, одноцепочечные антитела (например, scFv), антитела с одним варибельным доменом, диатела (Dab) (бивалентные и биспецифические) и химерные (например, гуманизированные) антитела, которые можно получать посредством модификации целых антител или антител, синтезированных *de novo* с использованием технологий рекомбинантной ДНК. Эти функциональные фрагменты антител сохраняют способность селективно связываться со своим соответствующим антигеном или рецептором. Антитела и фрагменты антител могут принадлежать любому классу антител, включая, в качестве неограничивающих примеров, IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, и любому подклассу (например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) антител. Молекулы антител могут являться моноклональными или поликлональными. Молекула антитела также может являться человеческим антителом, гуманизированным антителом, антителом с пересаженными CDR или антителом, полученным *in vitro*. Молекула антитела может иметь константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Молекула антитела также может иметь легкую цепь, выбранную, например, из каппа- или лямбда-цепи. Термин "иммуноглобулин" (Ig) в настоящем описании используют взаимозаменяемо с термином "антитело".

Примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab-фрагмент, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; (ii) F(ab')₂-фрагмент, бивалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, соединенных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) Fd-фрагмент, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) Fv-фрагмент, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент-диатело (dAb), состоящий из домена VH; (vi) варибельный домен Camelidae или камелизированный варибельный домен; (vii) одноцепочечный Fv (scFv), см., например, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; и Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; (viii) однодоменное антитело. Эти фрагменты антител можно получать любым подходящим способом, включая несколько общепринятых способов, известных специалистам в этой области, и фрагменты можно подвергать скринингу на полезность таким же образом, как и интактные антитела.

Термин "антитело" включает интактные молекулы, а также их функциональные фрагменты. Кон-

стантные области антител можно изменять, например, подвергать мутагенезу, для модификации свойств антитела (например, повышения или снижения одного или более из: связывания Fc-рецептора, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, эффекторной функции клетки или функции комплемента).

Молекула антитела может являться одноцепочечным антителом. Можно конструировать одноцепочечное антитело (scFv) (см., например, Colcher et al. (1999) *Ann N Y Acad Sci* 880: 263-280; и Reiter & Pastan (1996) *Clin Cancer Res* 2: 245-252). Одноцепочечное антитело можно димеризовать или мультимеризовать для получения мультивалентных антител, имеющих специфичности в отношении разных эпитопов одного белка-мишени.

Молекулы антител, представленные в настоящем описании, также могут являться однодоменными антителами. Однодоменные антитела могут включать антитела, определяющие комплементарность области которых являются частью однодоменного полипептида. Неограничивающие примеры включают тяжелую цепь антитела, антитела, в которых от природы отсутствуют легкие цепи, однодоменные антитела, полученные из общепринятых 4-цепочечных антител, сконструированные антитела и однодоменные каркасы, иные, чем каркасы, полученные из антител. Однодоменные антитела могут являться любыми из однодоменных антител, известных в этой области, или любыми из однодоменных антител, которые получат в будущем. Однодоменные антитела можно получать из любого биологического вида, включая, в качестве неограничивающих примеров, мышь, человека, верблюда, ламу, рыбу, акулу, козу, кролика и корову. В некоторых аспектах однодоменное антитело является природным однодоменным антителом, известным как антитело из тяжелой цепи без легких цепей. Такие однодоменные антитела описаны, например, в WO 94/04678. В целях ясности, этот вариабельный домен, полученный из антитела из тяжелой цепи, от природы лишеной легкой цепи, обозначают в настоящем описании как V_HN или нанотело для различения его и общепринятого V_H четырехцепочечных иммуноглобулинов. Такую молекулу V_HN можно получать из антител, индуцированных в биологических видах Camelidae, например, верблюде, ламе, дромадере, альпаке и гуанако. Другие биологические виды, помимо Camelidae, могут продуцировать антитела из тяжелой цепи, в которых от природы отсутствует легкая цепь; такие V_HN также рассмотрены.

Области V_H и V_L можно подразделять на области гипервариабельности, обозначенные как "определяющие комплементарность области" (CDR), перемежающиеся с областями, являющимися более консервативными, обозначаемыми как "каркасные области" (FR или FW). В рамках изобретения термины "определяющая комплементарность область" и "CDR" относятся к последовательностям аминокислот в вариабельных областях антитела, придающим специфичность и аффинность связывания с антигеном. В рамках изобретения термины "каркас", "FW" и "FR" используют взаимозаменяемо.

Протяженность каркасной области и CDR точно определены рядом способов (см. Kabat, E. A., et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, публикация NIH № 91-3242; Chothia, C. et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 196: 901-917; и определение AbM, используемое в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. В целом, см., например, *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains* в *Antibody Engineering Lab Manual* (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). В варианте осуществления используют следующие определения: определение AbM для CDR1 вариабельного домена тяжелой цепи и определения по Kabat для других CDR. В варианте осуществления определения по Kabat используют для всех CDR. Кроме того, варианты осуществления, описанные в отношении CDR по Kabat или AbM, также можно воплощать с использованием гипервариабельных петель по Chothia. Каждый V_H и V_L, как правило, включает три CDR и четыре FR, расположенные от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

В рамках изобретения термин "последовательность вариабельного домена иммуноглобулина" относится к аминокислотной последовательности, которая может образовывать структуру вариабельного домена иммуноглобулина. Например, последовательность может включать всю или часть аминокислотной последовательности природного вариабельного домена. Например, последовательность может включать или не включать одну, две или более N- или C-концевых аминокислот или может включать другие изменения, совместимые с образованием структуры белка.

Термин "антигенсвязывающая область" относится к части молекулы антитела, содержащей детерминанты, образующие область контакта, связывающуюся с антигеном, например, CD138, или его эпипептом. Что касается белков (или белковых миметиков), антигенсвязывающая область, как правило, включает одну или более петель (по меньшей мере, например, из четырех аминокислот или миметиков аминокислот), образующих область контакта, связывающуюся с антигеном, например, CD138. Как правило, антигенсвязывающая область молекулы антитела включает по меньшей мере одну или две CDR и/или гипервариабельные петли или более типично, по меньшей мере три, четыре, пять или шесть CDR и/или гипервариабельных петель.

Термины "конкурируют" или "перекрестно конкурируют" в настоящем описании используют взаимозаменяемо для обозначения способности молекулы антитела мешать связыванию молекулы антитела против CD138, например, молекулы антитела против CD138, представленной в настоящем описании, с

мишенью, например, CD138. Препятствие связыванию может являться прямым или косвенным (например, посредством аллостерической модуляции молекулы антитела или мишени). Степень, с которой молекула антитела может мешать связыванию другой молекулы антитела с мишенью и, таким образом, с которой можно сказать, что она конкурирует, можно определять с использованием конкурентного анализа связывания, например, анализа FACS, ELISA или BIACORE. В варианте осуществления конкурентный анализ связывания является количественным конкурентным анализом. В варианте осуществления указывают, что первая молекула антитела против CD138 конкурирует за связывание с мишенью со второй молекулой антитела против CD138, если связывание первой молекулы антитела с мишенью снижено на 10% или более, например, 20% или более, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 55% или более, 60% или более, 65% или более, 70% или более, 75% или более, 80% или более, 85% или более, 90% или более, 95% или более, 98% или более, 99% или более в конкурентном анализе связывания (например, конкурентном анализе, представленном в настоящем описании).

В рамках изобретения термины "моноклональное антитело" или "композиция моноклональных антител" относятся к препарату молекул антител с одной молекулярной композицией. Композиция моноклональных антител демонстрирует единую специфичность и аффинность связывания с конкретным эпитопом. Моноклональное антитело можно получать с помощью гибридомной технологии или способами, в которых не используют гибридомную технологию (например, рекомбинантными способами).

"По существу, человеческий" белок является белком, не вызывающим ответ с образованием нейтрализующих антител, например, ответ с образованием антитела человека против мыши (НАМА). НАМА может представлять собой проблему в ряде обстоятельств, например, если молекулу антитела вводят повторно, например, при лечении хронического или рецидивирующего заболевания. Ответ с образованием НАМА может делать повторное введение антител потенциально неэффективным из-за повышенного клиренса антитела из сыворотки (см., например, Saleh et al., *Cancer Immunol. Immunother.*, 32:180-190 (1990)), а также из-за потенциальных аллергических реакций (см., например, LoBuglio et al., *Hybridoma*, 5:5117-5123 (1986)).

Молекула антитела может являться поликлональным или моноклональным антителом. В некоторых вариантах осуществления антитело можно получать рекомбинантно, например, получать любыми подходящими способами фагового дисплея или комбинаторными способами.

В этой области известны различные способы фагового дисплея и комбинаторные способы получения антител (как описано, например, в патенте США № 5223409 Ladner et al.; международной патентной публикации № WO 92/18619 Kang et al.; международной патентной публикации № WO 91/17271 Dower et al.; международной патентной публикации № WO 92/20791 Winter et al.; международной патентной публикации № WO 92/15679 Markland et al.; международной патентной публикации № WO 93/01288 Breitling et al.; международной патентной публикации № WO 92/01047 McCafferty et al.; международной патентной публикации № WO 92/09690 Garrard et al.; международной патентной публикации № WO 90/02809 Ladner et al.; Fuchs et al. (1991) *Bio/Technology* 9:1370-1372; Hay et al. (1992) *Hum Antibody Hybridomas* 3:81-85; Huse et al. (1989) *Science* 246: 1275-1281; Griffiths et al. (1993) *EMBO J* 12: 725-734; Hawkins et al. (1992) *J Mol Biol* 226: 889-896; Clackson et al. (1991) *Nature* 352: 624-628; Gram et al. (1992) *PNAS* 89:3576-3580; Garrard et al. (1991) *Bio/Technology* 9: 1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) *Nuc Acid Res* 19: 4133-4137; и Barbas et al. (1991) *PNAS* 88: 7978-7982, содержание всех из которых включено в настоящее описание в качестве ссылки.

В варианте осуществления молекула антитела является полностью человеческим антителом (например, антителом, полученным в мыши, генетически сконструированной для продуцирования антитела из последовательности иммуноглобулина человека) или не принадлежащим человеку антителом, например, антителом грызуна (мыши или крысы), козы, примата (например, обезьяны), верблюда. В варианте осуществления не принадлежащее человеку антитело является антителом грызуна (антителом мыши или крысы). В этой области известны способы получения антител грызуна.

Моноклональные антитела человека можно получать с использованием трансгенных мышей, несущих гены иммуноглобулинов человека, а не систему мыши. Спленоциты из этих трансгенных мышей, иммунизированных интересующим антигеном, используют для получения гибридом, секретирующих mAb человека со специфическими аффинностями к эпитопам белка человека (см., например, международную патентную заявку № WO 91/00906 Wood et al., публикацию PCT WO 91/10741 Kucherlapati et al.; международную патентную заявку № WO 92/03918 Lonberg et al.; международную патентную заявку № 92/03917 Kay et al.; Lonberg, N. et al. 1994 *Nature* 368:856-859; Green, L.L. et al. 1994 *Nature Genet.* 7: 13-21; Morrison, S.L. et al. 1994 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 6851-6855; Bruggeman et al. 1993 *Year Immunol* 7: 33-40; Tuaille et al. 1993 *PNAS* 90: 3720-3724; Bruggeman et al. 1991 *Eur J Immunol* 21: 1323-1326).

Антитело может являться антителом, в котором варибельную область или ее часть, например, CDR, получают в не принадлежащем человеку организме, например, крысе или мыши. Химерные антитела, антитела с пересаженными CDR и гуманизированные антитела входят в объем изобретения. Антитела, полученные в не принадлежащем человеку организме, например, крысе или мыши, а затем модифицированные, например, в варибельном каркасе или константной области, для снижения антигенности для человека, входят в объем изобретения.

Химерные антитела можно получать любым подходящим способом рекомбинантной ДНК. В этой области известно несколько таких способов (см. публикацию международной патентной заявки № WO 1987/002671 Robinson et al.; публикацию европейской патентной заявки № 184187 Akira, et al.; публикацию европейской патентной заявки № 171496 Taniguchi, M.; публикацию европейской патентной заявки № 173494 Morrison et al.; международную публикацию патентной заявки № WO 86/01533 Neuberger et al.; патент США № 4816567 Cabilly et al.; публикацию европейской патентной заявки № 125023 Cabilly et al.; Better et al. (1988 Science 240: 1041-1043); Liu et al. (1987) PNAS 84: 3439-3443; Liu et al., 1987, J. Immunol. 139: 3521-3526; Sun et al. (1987) PNAS 84: 214-218; Nishimura et al., 1987, Cane. Res.47: 999-1005; Wood et al.(1985) Nature 314: 446-449; и Shaw et al., 1988, J. Natl Cancer Inst. 80: 1553-1559).

Гуманизированное антитело или антитело с пересаженными CDR будет иметь по меньшей мере одну или две, но, как правило, все три CDR реципиента (из тяжелых и/или легких цепей иммуноглобулина), заменяемых CDR донора. В антителе можно заменять по меньшей мере частью не принадлежащей человеку CDR или только некоторые из CDR можно заменять не принадлежащими человеку CDR. Необходимо заменять лишь то количество CDR, которое необходимо для связывания гуманизированного антитела с липополисахаридом. В варианте осуществления донором будет антитело грызуна, например, антитело крысы или мыши, и реципиентом будет каркас человека или консенсусный каркас человека. Как правило, иммуноглобулин, из которого получают CDR, называют "донором", а иммуноглобулин, из которого получают каркас, называют "акцептором". В некоторых вариантах осуществления донорный иммуноглобулин не принадлежит человеку (например, принадлежит грызуну). Акцепторный каркас, как правило, является природным (например, человеческим) каркасом, или консенсусным каркасом, или последовательностью, на приблизительно 85% или более, например, 90%, 95%, 99% или более, идентичной им.

В рамках изобретения термин "консенсусная последовательность" относится к последовательности, образованной наиболее часто встречающимися аминокислотами (или нуклеотидами) в семействе родственных последовательностей (см., например, Winnaker, From Genes to Clones (Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany 1987). В семействе белков каждое положение в консенсусной последовательности занято аминокислотой, чаще всего встречающейся в этом положении в семействе. Если две аминокислоты встречаются с равной частотой, любую из них можно включать в консенсусную последовательность. Термин "консенсусный каркас" относится к каркасной области в консенсусной последовательности иммуноглобулина.

Антитело можно гуманизировать любым подходящим способом, и в этой области известно несколько таких способов (см., например, Morrison, S.L., 1985, Science 229: 1202-1207, Oi et al., 1986, Bio-Techniques 4:214, и патенты США № 5585089, 5693761 и 5693762 Queen et al., содержание всех из которых включено, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки).

Гуманизированные антитела или антитела с пересаженными CDR можно получать посредством пересадки CDR или замены CDR, где можно заменять одну, две или все CDR цепи иммуноглобулина. См., например, патент США № 5225539; Jones et al. 1986 Nature321: 552-525; Verhoeyan et al. 1988 Science 239: 1534; Beidler et al. 1988 J. Immunol. 141: 4053-4060; патент США № 5225539 Winter, содержание всех из которых включено, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки. Winter описывает способ пересадки CDR, который можно использовать для получения гуманизированных антител (патентная заявка Великобритании № GB 2188638 A, поданная 26 марта 1987 года; патент США № 5225539 Winter, содержание которых включено, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки).

Настоящее изобретение также относится к гуманизированным антителам, в которых конкретные аминокислоты подвергнуты замене, делеции или добавлению. Критерии выбора аминокислот донора описаны, например, в патенте США № 5585089, например, колонках 12-16 патента США № 5585089, содержание которого включено, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки. Другие способы гуманизации антител описаны в EP 519596 A1 Padlan et al., опубликованном 23 декабря 1992 года.

В варианте осуществления молекула антитела имеет константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2 (например, IgG2a), IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE; в частности, выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, и IgG4 (например, человека). В другом варианте осуществления молекула антитела имеет константную область легкой цепи, выбранную, например, из константных областей легкой цепи каппа или ламбда (например, человека). Константную область можно изменять, например, подвергать мутагенезу, для модификации свойств молекулы антитела (например, для повышения или снижения одного или более из: связывания Fc-рецептора, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, эффекторной функции клетки и/или функции комплемента). В варианте осуществления молекула антитела имеет эффекторную функцию и может фиксировать комплемент. В другом варианте осуществления молекула антитела не рекрутирует эффекторные клетки или не фиксирует комплемент. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела имеет сниженную способность или не имеет способности связывать Fc-рецептор. Например, она может представлять собой изотип или подтип, фрагмент или другой мутант, не поддерживающий связывание с Fc-рецептором, например, она имеет подвергнутую мутагенезу или делетированную область, связывающую Fc-рецептор.

В варианте осуществления изменяют константную область молекулы антитела. В этой области известны способы изменения константной области антитела. Молекулы антител с измененной функцией, например, измененной аффинностью к эффекторному лиганду, такому как FcR на клетке, или компоненту комплемента C1, можно получать посредством замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка в константной части антитела другим остатком (см., например, EP 388,151 A1, патент США № 5624821 и патент США № 5648260, содержание всех из которых включено, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки). Также предусмотрены мутации аминокислот, стабилизирующие структуру антитела, такие как S228P (номенклатура EU, S241P в номенклатуре Kabat) в IgG4 человека. Можно описать схожий тип изменений, который при использовании в отношении иммуноглобулина мыши или другого биологического вида будет снижать или устранять эти функции.

В варианте осуществления Fc-область изменяют для увеличения времени полужизни. Например, Fc-область может содержать одну или более из: FcMut183 (T256D-Q311V-A378V), FcMut197 (H285N-T307Q-N315D), FcMut213 (H285D-T307Q-A378V), FcMut215 (T307Q-Q311V-A378V) или FcMut228 (T256D-N286D-T307R-Q311V-A378V).

В варианте осуществления Fc-область изменяют для усиления ADCC. Например, Fc-область может содержать одну или более из: A330L-I332E-S239D, F243L-R292P-Y300L-V305I-P396L или S298A-E333A-K334A. В варианте осуществления можно достигать афукозилирования посредством экспрессии в линии клеток, такой как CHO, в которой фукозилтрансфераза (FucT8) подвергнута нокауту.

В варианте осуществления Fc-область изменяют для усиления CDC. Например, Fc-область содержит S267E-H268F-S324T.

В варианте осуществления Fc-область изменяют для усиления антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP). Например, Fc-область содержит S239D-I332E-A330L.

В варианте осуществления единственными аминокислотами в молекуле антитела являются канонические аминокислоты. В варианте осуществления молекула антитела содержит природные аминокислоты; их аналоги, производные и родственные соединения; аналоги аминокислот, имеющие варианты боковых цепей; и/или все стереоизомеры любых из указанных выше соединений. Молекула антитела может содержать оптические D- или L-изомеры аминокислот и пептидомиметики.

Полипептид молекулы антитела, представленной в настоящем описании, может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и он может прерываться неаминокислотами. Молекулу антитела также можно модифицировать; например, посредством образования дисульфидной связи, гликозилирования, липидирования, ацетилирования, фосфорилирования или любой другой модификации, такой как конъюгация с компонентом-меткой. Полипептид можно выделять из природных источников, его можно получать рекомбинантными способами из эукариотического или прокариотического организма-хозяина, или он может являться продуктом способов синтеза.

Молекулу антитела, представленную в настоящем описании, можно использовать в отдельности в неконъюгированной форме, или ее можно связывать с веществом, например, токсином или функциональным фрагментом (например, терапевтическим лекарственным средством; соединением, испускающим радиацию; молекулами растительного, грибкового или бактериального происхождения; или биологическим белком (например, белковым токсином) или частицей (например, рекомбинантной вирусной частицей, например, через белок вирусной оболочки). Например, антитело против CD138 можно соединять с радиоактивным изотопом, таким как α -, β - или γ -излучатель или β - и γ -излучатель.

Молекулу антитела можно дериватизировать или связывать с другой функциональной молекулой (например, другим пептидом или белком). В рамках изобретения "дериватизированная" молекула антитела является молекулой антитела, подвергнутой модификации. Способы дериватизации включают, в качестве неограничивающих примеров, добавление флуоресцентного функционального фрагмента, радионуклида, токсина, фермента или аффинного лиганда, такого как биотин. Таким образом, молекулы антител предназначены для включения дериватизированных и иным образом модифицированных форм антител, представленных в настоящем описании, включая молекулы иммуноадгезии. Например, молекулу антитела можно функционально связывать (посредством химического сочетания, генетического слияния, нековалентного связывания или иным образом) с одной или более другими молекулами, такими как другое антитело (например, биспецифическое антитело или диатело), детектируемое средство, токсин, фармацевтическое средство и/или белок или пептид, которые могут опосредовать связывание антитела или части антитела с другой молекулой (такой как коровая область стрептавидина или полигистидиновая метка).

Некоторые типы дериватизированной молекулы антитела получают посредством перекрестной сшивки двух или более антител (одного типа или разных типов, например, для получения биспецифических антител). Подходящие кросслинкеры включают кросслинкеры, являющиеся гетеробифункциональными, имеющими две разные реакционноспособные группы, разделенные соответствующим спейсером (например, *m*-малеимидобензоил-*N*-гидроксисукцинимидный сложный эфир), или гомобифункциональными (например, дисукцинимидил суберат). Такие линкеры доступны в Pierce Chemical Company, Rockford, Ill.

Полезные детектируемые средства, с помощью которых можно дериватизировать (или метить) мо-

лекулу антитела против CD138 для включения флуоресцентных соединения, различных ферментов, простетических групп, люминесцентных материалов, биолюминесцентных материалов, испускающих флуоресценцию атомов металлов, например, европия (Eu) и других лантаноидов, и радиоактивных материалов (описаны ниже). Примеры флуоресцентных детектируемых средств включают флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, хлорид 5-диметиламин-1-нафталинсульфонила, фикоэритрин и т.п. Антитело также можно дериватизировать с использованием детектируемых ферментов, таких как щелочная фосфатаза, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, ацетилхолинэстераза, глюкозооксидаза и т.п. Если антитело дериватизируют с использованием детектируемого фермента, его определяют посредством добавления дополнительных реагентов, которые фермент использует для образования детектируемого продукта реакции. Например, при наличии детектируемого средства пероксидазы хрена добавление пероксида водорода и диаминобензидина приводит к образованию окрашенного продукта реакции, являющегося детектируемым. Молекулу антитела также можно дериватизировать с использованием простетической группы (например, стрептавидина/биотины и авидина/биотины). Например, антитело можно дериватизировать биотином и определять посредством непрямого измерения связывания авидина или стрептавидина. Примеры подходящих флуоресцентных материалов включают умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, дихлоритриазиниламин флуоресцеин, данзил хлорид или фикоэритрин; пример люминесцентного материала включает люминол; и примеры биолюминесцентных материалов включают люциферазу, люциферин и экворин.

Меченые молекулы антител можно использовать, например, диагностически и/или экспериментально в ряде условий, включая (i) выделение заранее определенного антигена стандартными способами, такими как аффинная хроматография или иммунопреципитация; (ii) детекцию заранее определенного антигена (например, в лизате клеток или супернатанте клеток) для оценки количества и профиля экспрессии белка; (iii) мониторинг уровней белка в ткани как часть способа клинического тестирования, например, для определения эффективности определенной схемы лечения.

Молекулу антитела можно конъюгировать с другой молекулой, как правило, меткой или терапевтическим средством (например, противомикробным (например, антибактериальным или бактерицидным), иммуномодулирующим, иммуностимулирующим, цитотоксическим или цитостатическим) средством или функциональным фрагментом. В области диагностики или терапии можно использовать радиоактивные изотопы. Радиоактивные изотопы, которые можно соединять с молекулами антител, включают, в качестве неограничивающих примеров, α -, β - или γ -излучатели или β - и γ -излучатели. Такие радиоактивные изотопы включают, в качестве неограничивающих примеров, йод (^{131}I или ^{125}I), иттрий (^{90}Y), лютеций (^{177}Lu), актиний (^{225}Ac), празеодим, аstat (^{211}At), рений (^{186}Re), висмут (^{212}Bi или ^{213}Bi), индий (^{111}In), технеций ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), фосфор (^{32}P), родий (^{188}Rh), серу (^{35}S), углерод (^{14}C), тритий (^3H), хром (^{51}Cr), хлор (^{36}Cl), кобальт (^{57}Co или ^{58}Co), железо (^{59}Fe), селен (^{75}Se) или галлий (^{67}Ga). Радиоактивные изотопы, которые можно использовать в качестве терапевтических средств, включают иттрий (^{90}Y), лютеций (^{177}Lu), актиний (^{225}Ac), празеодим, аstat (^{211}At), рений (^{186}Re), висмут (^{212}Bi или ^{213}Bi) и родий (^{188}Rh). Радиоактивные изотопы, которые можно использовать в качестве меток, например, для использования в диагностике, включают йод (^{131}I или ^{125}I), индий (^{111}In), технеций ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), фосфор (^{32}P), углерод (^{14}C) и тритий (^3H) или один или более из терапевтических изотопов, указанных выше.

Настоящее изобретение относится к радиоактивно меченым молекулам антител и способам их меченения. В варианте осуществления описан способ меченения молекулы антитела. Способ включает приведение молекулы антитела в контакт с хелатирующим средством, чтобы, таким образом, получать конъюгированное антитело. Конъюгированное антитело радиоактивно метят радиоактивным изотопом, например, индием-111, иттрием-90 и лютецием-177, чтобы, таким образом, получать меченую молекулу антитела.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу получения молекулы антитела, представленной в настоящем описании. Способ включает: получение антигена, например, CD138 или его фрагмента; получение молекулы антитела, специфически связывающейся с антигеном; оценку эффективности молекулы антитела в модуляции активности антигена и/или организма, экспрессирующего антиген, например, CD138. Способ может дополнительно включать введение молекулы антитела, включая его производное (например, молекулу гуманизированного антитела), индивидууму, например, человеку.

Настоящее изобретение относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей указанную выше молекулу антитела, векторам и клеткам-хозяевам. Молекула нуклеиновой кислоты включает, в качестве неограничивающих примеров, РНК, геномную ДНК и кДНК.

Аминокислотные и нуклеотидные последовательности примеров молекул антител приведены в табл. 1 и 2, соответственно.

Далее представлены аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи (VH) и варибельной области легкой цепи (VL) примеров антител против CD138. Указаны CDR, определенные по системам Kabat или Chothia.

Таблица 1

Антиген	Цепь	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO	CDR по Chothia		SEQ ID NO	CDR по Kabat		SEQ ID NO
CD001	VH	EVQLQQ	262	HCD R1	GFSFTHA	300	HCD R1	AHHMH	362
		SGPELV		HCD R2	DPNTGS	301	HCD R2	EIDPNTG STTYNQ KFRA	363
		KPGASV KISCETS GFSFTA		HCD R3	NWFPY	302	HCD R3	NWFPY	302
	VL	DVVMT	263	LCD R1	KSSQSLLD GDGKTYL N	303	LCD R1	KSSQSLLD DGDGKT YLN	303
QTPLTSL ATIGQP ASIYCKS SQSLLD		LCD R2		LVSKLDS	304	LCD R2	LVSKLDS	304	

		GDGKTY LNWLLQ RPGQSP KRLIYL VSKLDS GVPDRF TGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGVYY CWQGT HFPRTF GGGTKL EIK		LCD R3	WQGTHFP RT	305	LCD R3	WQGTHF PRT	305
CD0 02	VH	QVQLQQ	264	HCD R1	GFSFITY	306	HCD R1	TYWMN	364
		PGAELV KPGASV KLSCKA SGFSFIT		HCD R2	HPSDSA	307	HCD R2	RIHPSDS ATQYNQ KFKT	365
		YWMNW IKQRPG RGLEWI GRIHPSD SATQYN QKFKTK ATLTVD KSSSTA YIQLSSL TSEDSA VYYCAR STEGAH WGQGT LTVSA		HCD R3	STEGAH	308	HCD R3	STEGAH	308
	VL	DVVMT QTPLTLS	265	LCD R1	KSSQSLH SDGKTYL	309	LCD R1	KSSQSL HSDGKT	309

		VTIGQP			N			YLN	
		ASISCKS		LCD	LVSKLDS	304	LCD	LVSKLD	304
		SQSL LH		R2			R2	S	
		SDGKTY		LCD	WQGTHFP	310	LCD	WQGTHF	310
		LNWLLQ		R3	QT		R3	PQT	
		RPGQSP							
		KRLIYL							
		VSKLDS							
		GVPDRF							
		TGSGSG							
		TDFTLKI							
		SRVEAE							
		DLGVYY							
		CWQGT							
		HFPQTF							
		GGGTKL							
		EIK							
CD0	VH	QVQLQQ	266	HCD	GYTFTSF	311	HCD	SFWMH	366
03		PGAELV		R1			R1		
		KPGASV		HCD	YPSSGV	312	HCD	EIYPSSG	367
		KLSCKA		R2			R2	VTNYNE	
		SGYTFT						RFKN	
		SFWMH		HCD	NYYYDGL	313	HCD	NYYYDG	313
		WVKQR		R3	Y		R3	LY	
		PGQGLE							
		WIGIYP							
		SSGVTN							
		YNERFK							
		NKATLT							
		VDKSSR							
		TAYMQL							
		SSLTSED							
		SAVYFC							
		TPNYYY							
		DGLYW							

		GQGTLV TVSA							
	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SHSLLY TNGETY LNWLLQ RPGQSP KRLIYL VSNLDS GVPDRF SGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGIYY CLQSTH FPRTFG GGTKLE IK	267	LCD R1	KSSHSLLY TNGETYL N	314	LCD R1	KSSHSLLY YTNGETY YLN	314
				LCD R2	LVSNLDS	315	LCD R2	LVSNLDS	315
				LCD R3	LQSTHFPR T	316	LCD R3	LQSTHFPR RT	316
CD0 04	VH	QVQLQQ PGAELV KPGASV KLSCKA SGFSFTR YWMNW VKQRPG RGGLEWI GRIHPSD SASQYN QKFKSK ATLTVD KSSSTA YIQLSSL	268	HCD R1	GFSFTRY	317	HCD R1	RYWMNW	368
				HCD R2	HPSDSA	307	HCD R2	RIHPSDS ASQYNQ KFKS	369
				HCD R3	STEGAY	318	HCD R3	STEGAY	318

		TSEDSA VYYCGR STEGAY WGQGT LVTVSA							
	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SQSLH SDGKTY LNWLLQ RPGQSP KRLIYL VSKLDS GVPDRF TGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGVYY CWQGT HFPQTF GGGTKL EIK	265	LCD R1	KSSQSLH SDGKTYL N	309	LCD R1	KSSQSL HSDGKT YLN	309
				LCD R2	LVSCLDS	304	LCD R2	LVSCLD S	304
				LCD R3	WQGTHFP QT	310	LCD R3	WQGTHF PQT	310
CD0 05	VH	QVQLQQ PGAELV KPGASV KLSCKA SGFSFIT YWMNW IKQRPG RGLEWI GRIHPSD SATQYD QKFKTK	269	HCD R1	GFSFITY	306	HCD R1	TYWMN	364
				HCD R2	HPSDSA	307	HCD R2	RIHPSD ATQYDQ KFKT	370
				HCD R3	STEGAH	308	HCD R3	STEGAH	308

		ATLTVD KSSSTA YIQLSSL TSEDSA VYYCAR STEGAH WGPGTL VTVSA							
	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SHSLLY TNGETY LNWLLQ RPGQSP KRLIYL VSNLDS GVPDRF SGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGIYY CLQSTH FPRTFG GGTKLE IK	267	LCD R1	KSSHSLLY TNGETYL N	314	LCD R1	KSSHSL YTNGET YLN	314
				LCD R2	LVSNLDS	315	LCD R2	LVSNLD S	315
				LCD R3	LQSTHFP R T	316	LCD R3	LQSTHFP RT	316
CD0 06	VH	EIQLQOS GTELVK PGASVK ISCKTSG YSFTDY NMNWW KQSHGK SLEWIG	270	HCD R1	GYSFTDY	319	HCD R1	DYNMN	371
				HCD R2	NPYYGS	320	HCD R2	NINPYY GSTGYT QNFEG	372
				HCD R3	EGHDYYA MDY	321	HCD R3	EGHDYY AMDY	321

		NINPYY GSTGYT QNFEGK ATLTVD KSSSTA YMQSNS LTSEDS ALYYCA REGHDY YAMDY WGQGTS VTVSA							
	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SQSLH SDGKTY LNWLLQ RPGQSP KRLIYL VSKLDS GVPDRF TGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGVYY CWQGT HFPQTF GGGTKL EIK	265	LCD R1	KSSQSLH SDGKTYL N	309	LCD R1	KSSQSLH HSDGKT YLN	309
				LCD R2	LVSKLDS	304	LCD R2	LVSKLD S	304
				LCD R3	WQGTHFP QT	310	LCD R3	WQGTHF PQT	310
602	VH	QVQLQL PGAELV KPGASV KVSCKA	271	HCD R1	GYTFTSY	322	HCD R1	SYWMH	373
				HCD R2	HPSDSD	323	HCD R2	RIHPSDS DTNYNQ	374

		SGYTFT SYWMH WVKQR PGQGLE WIGRIHP SDSDTN YNQNFK GKATLI VDKSSS TAYMQL SSLTSED SAVYYC ATGFSF WGQGT LTVVSA					NFKG		
				HCD R3	GFSF	324	HCD R3	GFSF	324
603	VH	QVQVQ VPGAEL VKPGAS VKVSCK ASGYTF TSYWM HWMKK RPGQGL EWIGRI HPSDSD TNYNQN FKGKAT LTVDKS SSTAYM QLSSLTS EDSAVY FCATGF SFWGQG TLVTVS A	272	HCD R1	GYTFTSY	322	HCD R1	SYWMH	373
				HCD R2	HPSDSD	323	HCD R2	RIHPSDS DTNYNQ NFKG	374
				HCD R3	GFSF	324	HCD R3	GFSF	324

	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SQSLLY SDGKTY LNWLLQ RPGESP KLLIYL VSKLDS GVPDRF TGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGVYY CLQTTS FPYTFG GGTKI.D IK	273	LCD R1	KSSQSLLY SDGKTYL N	325	LCD R1	KSSQSLL YSDGKT YLN	325
				LCD R2	LVSKLDS	304	LCD R2	LVSKLD S	304
				LCD R3	LQTTSFPY T	326	LCD R3	LQTTSFP YT	326
604	VH	QVQLQQ PGAELV KPGASV KVSCKA SGYNFI NYWMH WVKQR PGQGLE WIGRIHP SDSYTN YNQKFK GKATLT VDKSSS TAYMQL SSLTSED SAVYYC	274	HCD R1	GYNFINY	327	HCD R1	NYWMH	375
				HCD R2	HPSDSY	328	HCD R2	RIHPSDS YTNYNQ KFKG	376
				HCD R3	PISTLY	329	HCD R3	PISTLY	329

		ASPISTL YWGQG TTLTVSS							
	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SQSLLD SDGKTY LNWLLQ RPGESP KLLIYL VSKLDS GVPDRF TGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGVYY CLQATH FPQTFG GGTKLE IK	275	LCD R1	KSSQSLLD SDGKTYL N	330	LCD R1	KSSQSLL DSDGKT YLN	330
				LCD R2	LVSKLDS	304	LCD R2	LVSKLD S	304
				LCD R3	LQATHFPQ T	331	LCD R3	LQATHF PQT	331
607	VH	QVQLQL PGAELV RPGTSV KVSCKA SDYTFT TYWMH WVKQR PGQGLD WIGRIHP SDSDTN YNQNFK GKATLT VDKSSS	276	HCD R1	DYTFTTY	332	HCD R1	TYWMH	377
				HCD R2	HPSDSD	323	HCD R2	RIHPSDS DTNYNQ NFKG	374
				HCD R3	GFSF	324	HCD R3	GFSF	324

		TAYMHL SSLTSED SAVYYC ATGFSF WGQGT LVTVSA							
613	VH	QVQVQL PGAELV KPGASV KVSCKA SGYTFT SYWMH WVKKR PGQGLE WIGRIHP SDSDTN YNQNFK GKATLT VDKSSS TAYMLL SSLTSED SAVYYC ATGFSF WGQGT LITVSA	277	HCD R1	GYTFTSY	322	HCD R1	SYWMH	373
				HCD R2	HPSDSD	323	HCD R2	RIHPSDS DTNYNQ NFKG	374
				HCD R3	GFSF	324	HCD R3	GFSF	324
	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SQSLLY SDGKTY LNWLLQ RPGESP ELLIYLV SKMDSG	278	LCD R1	KSSQSLLY SDGKTYL N	325	LCD R1	KSSQSLL YSDGKT YLN	325
				LCD R2	LVSKMDS	333	LCD R2	LVSKMD S	333
				LCD R3	LPRTSFPY T	334	LCD R3	LPRTSFP YT	334

		VPDRFH GHGSGT AFTMKI SRMGGG GLGNYY CLPRTSF PYTFGG GTKLEI K							
614	VH	QVQLQL	279	HCD	GYTFTSY	322	HCD	SYWMH	373
		PGAELV		R1			R1		
		KPGASV		HCD	HPSDSD	323	HCD	RIHPSDS	374
	KVSCKA	R2			R2	DTNYNQ			
	SGYTFT					NFKG			
	SYWMH	HCD	GFSF	324	HCD	GFSF	324		
	WVKQR	R3			R3				
	PGQGLE								
	WIGRIHP								
SDSDTN									
YNQNFK									
GKATLT									
VDKSSN									
TAYMQL									
SSLTSED									
SAVYYC									
ATGFSF									
WGQGT									
LVTVSA									
	VL	DVVMTP	280	LCD	KSSQNLLY	335	LCD	KSSQNL	335
TSLHLL		R1		NEGKTYL		R1	LYNEGK		
VTIGQP				K			TYLK		
GFLFCK	LCD	LVFKMGF	336	LCD	LVFKMG	336			
SSQNLL	R2			R2	F				
YNEGKT	LCD	LPSTPFY	337	LCD	LPSTPFY	337			
YLKWLL	R3	T		R3	YT				

		PEPGAF SKVLIYL VFKMGF GVPDRF HGHGSG TDFPMK ISRMGG GGLGGY LCLPSTP FPYTFG GGTKLE IK							
616	VH	QIHLVQ	281	HCD R1	GYTFTTY	338	HCD R1	TYGMS	378
		SGPELK KPGETV RISCKAS GYTFTT		HCD R2	NTYSGV	339	HCD R2	WINTYS GVPTYA DDFKG	379
		YGMSW VKQAPG KALKW MGWINT YSGVPT YADDFK GRFAFS LETSAST AYLQIN NLKNED TATYFC TREGST MVTRY YFDYW GQGTTL TVSS		HCD R3	EGSTMVT RYYFDY	340	HCD R3	EGSTMV TRYFFD Y	340
	VL	DIVMTQ AAPSPV	282	LCD R1	RSSKSLH SNGNTYL	341	LCD R1	RSSKSLL HSNGNT	341

		VTPGES			Y			YLY	
		VSISCRS		LCD	RMSNLAS	342	LCD	RMSNLA	342
		SKSL LH		R2			R2	S	
		SNGNTY		LCD	MQHLESP	343	LCD	MQHLES	343
		LYWFLQ		R3	YT		R3	PYT	
		RPGQSP							
		QLLIYR							
		MSNLAS							
		GVPDRF							
		SGSGSG							
		TAFTLRI							
		SRVEAE							
		DVG VY							
		HCMQH							
		LESPYTF							
		GGGTTL							
		EIK							
617	VH	QVQLQL	283	HCD	AYTFTSY	344	HCD	SYWMH	373
		PGAELV		R1			R1		
		KPGASV		HCD	HPSDSD	323	HCD	RIHPSDS	374
		KVSCKA		R2			R2	DTNYNQ	
		SAYTFT						NFKG	
		SYWMH		HCD	GFSF	324	HCD	GFSF	324
		WVKQR		R3			R3		
		PGQGLE							
		WIGRIHP							
		SDSDTN							
		YNQNFK							
		GKATLT							
		VDKSSN							
		TAYMQL							
		SSLTSED							
		SAVYYC							
		ATGFSF							
		WGQGT							

		LVTVSA							
	VL	DIVMTQ SHKFMS TSVGDR VSITCK ASQDVS TTVAW YQQKPG QSPKLLI YSASYR YTGVPD RFTGSG SGTDFT FTISSVQ AEDLAV YYCQQH YSTRPT FGGGTK LEIK	284	LCD R1 LCD R2 LCD R3	KASQDVS TTVA SASYRYT QQHYSTRP T	345 346 347	LCD R1 LCD R2 LCD R3	KASQDV STTVA SASYRY T QQHYST RPT	345 346 347
619	VH	QIQLVQ SGPELK KPGETV KISCKAS GYTFTT YGMSW VKQAPG KGLKW MGWINT YSGVPT YADDFK GRFAFS LETSAST AYLQIN NLKNED TATYFC	285	HCD R1 HCD R2 HCD R3	GYTFTTY NTYSGV EGSTMVT RYYFDY	338 339 340	HCD R1 HCD R2 HCD R3	TYGMS WINTYS GVPTYA DDFKG EGSTMV TRYYPD Y	378 379 340

		AREGST MVTRY YFDYW GQGTTL TVSS							
	VL	DIVMTQ AAPSPV VTPGES VSISCRS SKSLLH SNGNTY LYWFLQ RPGQSP QVLIYR MSNLAS GVPDRF SGSGSG TAFTLRI SRVEAE DVGVY YCMQH LESPYTF GGGTKL EIK	286	LCD R1	RSSKSLLH SNGNTYL Y	341	LCD R1	RSSKSLL HSNGNT YLY	341
				LCD R2	RMSNLAS	342	LCD R2	RMSNLA S	342
				LCD R3	MQHLESP YT	343	LCD R3	MQHLES PYT	343
623	VH	QIQLVQ SGPELK KPGETV KISCKAS GYTFTT YGMSW VKQAPG KGLKW MGWINT YSGVPT YADDFK	287	HCD R1	GYTFTTY	338	HCD R1	TYGMS	378
				HCD R2	NTYSGV	339	HCD R2	WINTYS GVPTYA DDFKG	379
				HCD R3	EGSTMVT RYYFDY	340	HCD R3	EGSTMV TRYDFD Y	340

		GRFAFS LETSAST AYLQIN NLKNED TATFFC AREGST MVTRY YFDYW GQGTTL TVSS							
	VL	DIVMTQ AAPSVP VTPGES VSISCRS SKSLH SNGNTY LYWFLQ RPGQSP QLLIYR MSNLAS GVPDRF SGSGSG TAFTLRI SRVEAE DVG VY YCMQH LEYPSTF GGGTKL EIK	288	LCD R1	RSSKSLLH SNGNTYL Y	341	LCD R1	RSSKSLL HSNGNT YLY	341
				LCD R2	RMSNLAS	342	LCD R2	RMSNLA S	342
				LCD R3	MQHLEYP ST	348	LCD R3	MQHLEY PST	348
624	VH	QVQVQL PGAELV KPGASV KVSCKA SGYTFT SYWMH	289	HCD R1	GYTFTSY	322	HCD R1	SYWMH	373
				HCD R2	HPSDSD	323	HCD R2	RIHPSDS DTNYNQ NFKG	374
				HCD	GFSF	324	HCD	GFSF	324

		WVKKR PGQGLE WIGRIHP SDSDTN YNQNFK GKATLT VDKSSS TAYMQL TSLTSED FAVYYC STGFSF WGQGT LVTVSA		R3			R3		
	VL	DVVMT QTPLTLS VTIGQP ASISCKS SQSLLY SDGKTY LNWLLQ RPGESP KLLIYL VSKLDS GVPDRF TGSGSG TDFTLKI SRVEAE DLGVYY CLQTTY FPYTFG GGTKLE IK	290	LCD R1	KSSQSLLY SDGKTYL N	325	LCD R1	KSSQSLL YSDGKT YLN	325
				LCD R2	LVSKLDS	304	LCD R2	LVSKLD S	304
				LCD R3	LQTTYFPY T	349	LCD R3	LQTTYFP YT	349
1610	VH	QVQLHQ PGTSLV KPGASV	291	HCD R1	GYNFESSY	350	HCD R1	SYMH	380
				HCD	HPSDST	351	HCD	TIHPSDS	381

		KLSCKA SGYNFS SYMH WVKQR PGQGLE WIGTIHP SDSTN CNQKFK GKATLT VDKSSR TAYMQL NSLTFE DSAVYY CANFVY WGQGTS VTVSS		R2			R2	TTNCNQ KFKG	
				HCD R3	FVY		HCD R3	FVY	
	VL	DIVITQD ELSNPV TSGDSV SISCRSS KSLLYK DGKTYL NWFQR PGQSPQ LLIYVVS TRASGV SDRFSG SGSGTD FTLEISR VKAEDV GVYYCQ QLVEYP YTFGGG TKLEIK	292	LCD R1	RSSKSLLY KDGKTYL N	352	LCD R1	RSSKSLLY YKDGKT YLN	352
				LCD R2	VVSTRAS	353	LCD R2	VVSTRAS	353
				LCD R3	QQLVEYP YT	354	LCD R3	QQLVEYP PYT	354
2510	VH	QVQLHQ	293	HCD	GYNFSSY	350	HCD	SYMH	380

			R1			R1		
	KPGASV		HCD	HPSDST	351	HCD	TIHPSDS	382
	KLSCKA		R2			R2	TTNYNQ	
	SGYNFS						KFKG	
	SYMMH		HCD	FVY		HCD	FVY	
	WVKQR		R3			R3		
	PGQGLE							
	WIGTIHP							
	SDSTTN							
	YNQKFK							
	GKATLT							
	VDKSSR							
	TAYMQL							
	NSLTFE							
	DSAVYY							
	CANFVY							
	WGQGTS							
	VTVSS							
VL	DIVITQD	292	LCD	RSSKSLLY	352	LCD	RSSKSLL	352
	ELSNPV		R1	KDGKTYL		R1	YKDGKT	
	TSGDSV			N			YLN	
	SISCRSS		LCD	VVSTRAS	353	LCD	VVSTRA	353
	KSLLYK		R2			R2	S	
	DGKTYL		LCD	QQLVEYP	354	LCD	QQLVEY	354
	NWFLQR		R3	YT		R3	PYT	
	PGQSPQ							
	LLIYVVS							
	TRASGV							
	SDRFSG							
	SGSGTD							
	FTLEISR							
	VKAEDV							
	GVYYCQ							
	QLVEYP							
	YTFGGG							

		TKLEIK							
2610	VH	QVQLHQ PGTSLV KPGASV KLSCKA SGYSFSS YYMHW VKQRPG QGLEWI GTIHPSD STTNCN QKFKGK ATLTVD KSSRTA YMQSNS LTFEDS AVYYCA NFVYW GQGTSV TVSS	294	HCD R1 HCD R2 HCD R3	GYSFSSY HPSDST FVY	355 351	HCD R1 HCD R2 HCD R3	SYMMH TIHPSDS TTNCNQ KFKG FVY	380 381
	VL	DIVITQD ELSNPV TSGDSV SISCRSS KSLLYK DGKTYL NWFQR PGQSPQ LLIYVVS TRASGV SDRFSG SGSGTD FTLEISR VKAEDV GVYYCQ	292	LCD R1 LCD R2 LCD R3	RSSKSLLY KDGKTYL N VVSTRAS QQLVEYP YT	352 353 354	LCD R1 LCD R2 LCD R3	RSSKSL YKDGKT YLN VVSTRA S QQLVEY PYT	352 353 354

		QLVEYP YTFGGG TKLEIK							
2710	VH	QVQLHQ PGTSLV KPGASV KLSCKA SGYTFS SYYMH WVKQR PGQGLE WIGTIHP SDSTN CNQKFK GKATLT VDKSSR TAYMQL NSLTFE DSAVYY CANFVY WGQGTS VTVSS	295	HCD R1	GYTFSSY	356	HCD R1	SYYMH	380
				HCD R2	HPSDST	351	HCD R2	TIHPSDS TTNCNQ KFKG	381
				HCD R3	FVY		HCD R3	FVY	
	VL	DIVITQD ELSNPV TSGDSV SISCRSS KSLLYK DGKTYL NWFQR PGQSPQ LLIYVVS TRASGV SDRFSG SGSGTD FTLEISR	292	LCD R1	RSSKSLLY KDGKTYL N	352	LCD R1	RSSKSLLY YKDGKT YLN	352
				LCD R2	VVSTRAS	353	LCD R2	VVSTRAS	353
				LCD R3	QQLVEYP YT	354	LCD R3	QQLVEY PYT	354

		VKAEDV GVYYCQ QLVEYP YTFGGG TKLEIK							
2810	VH	QVQLHQ PGTSLV KPGASV KLSCKA SGYSFSS YYMHW VKQRPG QGLEWI GTIHPSD STTNYN QKFKGK ATLTVD KSSRTA YMQSNS LTFEDS AVYYCA NFVYW GQGTSV TVSS	296	HCD R1	GYSFSSY	355	HCD R1	SYMH	380
				HCD R2	HPSDST	351	HCD R2	TIHPSDS TTNYNQ KFKG	382
				HCD R3	FVY		HCD R3	FVY	
VL	DIVITQD ELSNPV TSGDSV SISCRSS KSLLYK DGKTYL NWFQR PGQSPQ LLIYVVS TRASGV SDRFSG	292	LCD R1	RSSKSLLY KDGKTYL N	352	LCD R1	RSSKSLLY YKDGKT YLN	352	
			LCD R2	VVSTRAS	353	LCD R2	VVSTRAS S	353	
			LCD R3	QQLVEYP YT	354	LCD R3	QQLVEYP PYT	354	

		SGSGTD FTLEISR VKAEDV GVYYCQ QLVEYP YTFGGG TKLEIK							
2910	VH	QVQLHQ	297	HCD R1	GYTFSSY	356	HCD R1	SYVMH	380
		PGTSLV KPGASV KLSCKA SGYTFS SYVMH WVKQR PGQGLE WIGTIHP SDSTN YNQKFK GKATLT VDKSSR TAYMQL NSLTFE DSAVYY CANFVY WGQGTS VTVSS		HCD R2	HPSDST	351	HCD R2	TIHPSDS TTNYNQ KFKG	382
				HCD R3	FVY		HCD R3	FVY	
	VL	DIVITQD	292	LCD R1	RSSKSLLY KDGKTYL N	352	LCD R1	RSSKSLLY YKDGKT YLN	352
		ELSNPV TSGDSV SISCRSS KSLLYK DGKTYL NWFQR PGQSPQ LLIYVVS		LCD R2	VVSTRAS	353	LCD R2	VVSTRAS	353
				LCD R3	QQLVEYP YT	354	LCD R3	QQLVEY PYT	354

		TRASGV SDRFSG SGSGTD FTLEISR VKAEDV GVYYCQ QLVEYP YTFGGG TKLEIK							
1409	VH	EVQLVE SGGGLV QPKGSL KLSCAA SGFTFN TYAMH WVRQA PGKGLE WVARIR SKSSNY ATYYAD SVKDRF TISRDDS QSMLYL QMNNL KTEDTA MYYCV RELRLR YAMDY WGQGTS VTVSS	298	HCD R1	GFTFNTY	357	HCD R1	TYAMH	383
				HCD R2	RSKSSNYA	358	HCD R2	RIRSKSS NYATYY ADSVKD	384
				HCD R3	ELRLRYA MDY	359	HCD R3	ELRLRY AMDY	359
	VL	DILMTQ TPLTSLV TIGQPAS ISCKSSQ SLLYTN	299	LCD R1	KSSQSLLY TNGKTYL N	360	LCD R1	KSSQSLL YTNGKT YLN	360
				LCD R2	LVSKLDS	304	LCD R2	LVSKLD S	304
		GKTYLN WLLQRP GQSPKR LIYLVSK LDSGVP DRFSGS GSGTDF TLKISRV EAEDLG VYYCLQ STHFPLT FGAGTK LELK		LCD R3	LQSTHFPL T	361	LCD R3	LQSTHF LT	361

Нуклеотидные последовательности переменных областей тяжелой цепи (VH) и переменных областей легкой цепи (VL) примеров антител против CD138

Антитело	Цепь	Нуклеотидная последовательность	SEQ ID NO
CD001	VH	GAAGTACAGTTGCAGCAATCTGGGCCTGAGC TGGTGAAGCCCGGTGCTTCCGTGAAAATTTCC TGCGAAACTTCAGGATTCTCATTTACTGCACA TCATATGCACTGGGTAAAACAATCTCCAGAG AAATCACTCGAATGGATAGGCGAGATTGATC CAAATACCGGGTCCACCACATACAATCAGAA ATTTTCGCGCTAAGGCCACCCTGACTGTCGATA AAAGTTCTAACACTACATACATGCAGCTTAA ATCCCTTACATTTCGAAGACAGTGCAGTGTACT ACTGTTACTCTAACTGGTTTCCATATTGGGGA CAGGGAACACTGGTAACCGTTTCCGCT	385
	VL	GACGTAGTTATGACTCAGACACCACTTACACT CTCTGCTACTATCGGACAACCAGCCTCAATCT ATTGCAAGTCCTCACAATCTTTGCTTGATGGC GACGGGAAGACCTATCTCAATTGGCTTCTCCA ACGACCTGGGCAAAGCCCCAAGAGACTCATA TATCTCGTTTCCAAGCTGGACAGTGGGGTGCC AGATAGATTTACTGGGTCAGGTAGTGGTACT GACTTTACTTTGAAAATATCAAGAGTAGAGG	386

		CTGAGGACCTCGGAGTCTATTACTGCTGGCAA GGAACCCATTTCCCCCGCACCTTCGGAGGAG GGACAAAATTGGAAATAAAA	
CD002	VH	CAAGTGCAACTTCAGCAACCCGGCGCCGAGC TTGTGAAGCCTGGTGCCTCCGTTAAACTTTCT TGCAAGGCATCCGGTTTCTCATTACCTA CTGGATGAACTGGATCAAACAAAGACCTGGA CGTGGTCTGGAGTGGATTGGGCGGATTACCC CCTCAGACTCCGCAACCCAATACAATCAGAA ATTCAAACAAAGGCCACCTTGACCGTTGAT AAAAGCAGTTCTACCGCTTATATTCAACTGTC CTCTCTGACCTCAGAAGACTCCGCAGTGTATT ACTGCGCTCGCTCTACTGAGGGTGCCCATTGG GGTCAGGGAACATTGGTACTGTTAGTGCT	387
	VL	GATGTTGTTATGACCCAACTCCCCTGACACT TTCTGTAACAATAGGTCAGCCTGCCTCTATCT CATGCAAGTCCTCACAGAGTCTGCTGCACTCT GATGGGAAGACTTATTTGAACTGGTTGCTCCA GCGCCCCGACAGTCTCCTAACGCCTGATTT ATTTGGTGAGCAAGTTGGACAGTGGCGTACC AGACCGATTACCGGATCTGGCTCCGGGACA GACTTTACTTTGAAAATAAGTCGTGTCGAGGC TGAGGATCTTGGCGTGTACTACTGCTGGCAGG GGACACACTTCCCCCAGACCTTTGGAGGTGG AACTAAGCTCGAAATCAAA	388
CD003	VH	AAGTACAGCTTCAGCAGCCAGGAGCAGA TGTTAAGCCCGGTGCTTCTGTGAAGCTGTCCT GTAAAGCTAGTGGTTACACTTTCCTAGCTTT TGGATGCACTGGGTGAAACAGAGGCCAGGAC AAGGCTTGGAGTGGATTGGAGAGATATACCC TAGCAGCGGTGTGACCAACTACAATGAAAGA TTTAAGAATAAAGCCACCCTGACAGTTGATA AATCCTCACGGACAGCATAATGCAACTCTC ATCTCTGACATCCGAGGACAGCGCCGTCTATT TTTGTACCCCAAATATTACTACGACGGCTTG	389

		TACTGGGGGCAGGGGACTTTGGTCACAGTGT CCGCT	
	VL	GATGTGGTAATGACTCAAACACCACTTACACT CAGTGTAACTATCGGCCAACCTGCCAGCATCT CCTGCAAATCCAGTCATAGCTTGTGTATACC AATGGCGAGACCTATCTCAACTGGCTTCTCCA GAGGCCAGGACAGTCTCCCAAAGACTTATA TATTTGGTGTCTAACTTGGACTCTGGTGTGCC CGATAGATTTTCAGGGTCTGGGTCTGGCACCG ATTTTACATTGAAAATATCCAGGGTGGAAAGC CGAAGACCTTGGAAATATACTACTGTCTCCAAT CAACCCATTTTCTCGCACATTGGCGGGCGGC ACTAAACTCGAAATAAAG	390
CD004	VH	CAGGTACAGCTCCAGCAACCAGGGGCAGAGT TGGTAAAGCCCGGAGCCAGTGTCAAGCTCTC ATGCAAGGCTTCCGGCTCAGTTTACCAGAT ACTGGATGAATTGGGTAAACAGCGCCCAGG ACGAGGGCTTGAATGGATAGGTAGGATTCAT CCCTCAGACTCAGCAAGTCAGTACAATCAGA AGTTTAAGTCAAAGCAACACTGACAGTAGA CAAAAGCAGCAGCACAGCTTACATTCAGTTG AGTAGCTTGACATCAGAGGATAGCGCAGTTT ATTATTGTGGCCGTAGTACAGAAGGGGCTTAT TGGGGGCAAGGAACACTTGTACAGTGAGTG CA	391
	VL	GATGTTGTTATGACCCAAACTCCCCTGACACT TTCTGTAACAATAGGTCAGCCTGCCTCTATCT CATGCAAGTCCTCACAGAGTCTGCTGCACTCT GATGGGAAGACTTATTTGAACTGGTTGCTCCA GCGCCCCGGACAGTCTCCTAAACGCCTGATTT ATTTGGTGAGCAAGTTGGACAGTGGCGTACC AGACCGATTACCGGATCTGGCTCCGGGACA GACTTTACTTTGAAAATAAGTCGTGTCGAGGC TGAGGATCTTGGCGTGTACTACTGCTGGCAGG GGACACACTTCCCCAGACCTTTGGAGGTGG	388

		AACTAAGCTCGAAATCAAA	
CD005	VH	CAAGTTCAATTGCAGCAGCCTGGTGCTGAGCT GGTGAAGCCAGGTGCAAGTGTTAAACTTTCA TGCAAGGCAAGCGGATTTCCTTCATCACTTA TTGGATGAATTGGATCAAACAACGTCCTGGG CGGGCCTGGAGTGGATTGGTCGCATACACC CATCTGACTCCGCTACCCAATATGACCAGAA ATTCAAAACCAAAGCAACCCTCACTGTGGAT AAAAGCAGCAGCACCGCATAACATACTCA GCTCCCTCACTCCGAGGACTCTGCCGTTTAC TATTGCGCACGAAGCACTGAAGGGGCTCATT GGGGTCCAGGAACATTGGTAACAGTCAGCGC A	392
	VL	GATGTGGTAATGACTCAAACACCACTTACACT CAGTGTAACTATCGGCCAACCTGCCAGCATCT CCTGCAAATCCAGTCATAGCTTGTTGTATACC AATGGCGAGACCTATCTCAACTGGCTTCTCCA GAGGCCAGGACAGTCTCCAAAAGACTTATA TATTTGGTGTCTAACTTGGACTCTGGTGTGCC CGATAGATTTTCAGGGTCTGGGTCTGGCACCG ATTTTACATTGAAAATATCCAGGGTGAAGC CGAAGACCTTGAATATACTACTGTCTCCAAT CAACCCATTTCTCGCACATTCGGCGGCGGC ACTAAACTCGAAATAAAG	390
CD006	VH	GAAATACAGCTTCAGCAGTCAGGCACTGAAC TGGTGAAACCCGGTGCTTCAGTGAAGATTTCC TGTAAGACCAGTGGTTACAGTTCACTGATTA CAACATGAACTGGGTGAAACAATCCCACGGA AAAAGTCTCGAATGGATAGGTAATATAAACC CTTATTACGGAAGCACCGCTACACTCAGAA TTTTGAAGGTAAGGCTACTTTGACCGTGGATA AATCTTCTAGTACAGCATATATGCAGCTTAAC TCACTTACTTCTGAGGACAGCGCCTTGTACTA CTGCGCTCGTGAAGGGCATGACTACTACGCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACATCTGTCA	393

		CAGTCAGCTCA	
	VL	GATGTTGTTATGACCCAAACTCCCCTGACACT TTCTGTAACAATAGGTCAGCCTGCCTCTATCT CATGCAAGTCCTCACAGAGTCTGCTGCACTCT GATGGGAAGACTTATTTGAACTGGTTGCTCCA GCGCCCCGGACAGTCTCCTAAACGCCTGATTT ATTTGGTGAGCAAGTTGGACAGTGGCGTACC AGACCGATTACCGGATCTGGCTCCGGGACA GACTTTACTTTGAAAATAAGTCGTGTCGAGGC TGAGGATCTTGGCGTGTACTACTGCTGGCAGG GGACACACTTCCCCAGACCTTTGGAGGTGG AACTAAGCTCGAAATCAAA	388
602	VH	CAGGTCCAACCTCAGCTGCCCGGAGCTGAAC TGGTAAAACCCGGTGCTTCCGTTAAGGTGTCT TGCAAAGCATCAGGCTACACATTTACTAGCTA CTGGATGCACTGGGTAAAGCAACGTCCAGGT CAGGGCCTTGAATGGATCGGTCGTATACATCC TTCAGACTCAGATACCAATTACAATCAAACT TTAAGGGTAAAGCTACTTTGATTGTCGATAAG TCTTCTCAACTGCATACATGCAGTTGTCTTCT CTTACATCCGAGGACAGTGCAGTGTATTACTG CGCTACAGGTTTCTTTTTGGGGACAGGGAA CCCTCGTAACCGTGAGTGCC	394
603	VH	CAGGTACAAGTGCAGGTGCCAGGAGCTGAGT TGGTCAAGCCAGGCGCTAGTGTGAAAGTCTC ATGTAAGGCCAGCGGCTATACTTTACTAGTT ACTGGATGCACTGGATGAAGAAGAGACCCGG ACAGGGGCTCGAATGGATAGGGCGAATCCAC CCATCTGACAGCGATACAAATTACAACCAGA ACTTTAAAGGAAAGGCAACACTTACAGTTGA TAAGTCTAGCAGCACAGCATACATGCAGCTT AGTTCACTCACATCAGAAGATTCCGCTGTCTA TTTTTGTGCTACTGGTTTCAGCTTTTGGGGTCA GGGAACTCTCGTAACTGTGTCCGCA	395
	VL	GATGTCGTTATGACCCAGACTCCATTGACTCT	396

		GTCTGTCACCATAGGACAACCCGCATCTATCT CCTGCAAATCATCACAGAGCTTGCTGTATTCT GACGGAAAGACATATTTGAACTGGCTGCTCC AACGGCCTGGGGAGTCCCCTAAACTCCTTATC TATCTCGTTTCTAAACTTGACAGTGGCGTCCC TGATCGTTTTACCGGCTCCGGGTCTGGCACTG ATTTTACACTCAAGATCAGCCGGGTGGAAGC AGAGGATTTGGGTGTCTACTATTGTCTTCAGA CCACTTCCTCCCATATACCTTCGGCGGCGGA ACTAAATTGGAAATCAAA	
604	VH	CAAGTCCAGTTGCAGCAGCCCGGTGCTGAGC TTGTCAAACCCGGCGCCTCAGTTAAAGTCTCA TGCAAGGCTTCTGGCTATAACTTTATAAATTA CTGGATGCACTGGGTCAAACAGCGACCAGGA CAGGGCCTCGAATGGATTGGTAGAATACACC CATCAGATAGTTACACTAATTACAATCAGAA GTTTAAAGGTAAGGCAACACTGACTGTGGAC AAAAGCAGCTCAACTGCCTACATGCAGCTCA GTTCTCTCACCTCCGAGGATAGTGCTGTGTAC TATTGTGCCAGTCCCATATCCACTCTTATTG GGGGCAGGGCACCACCTTGACCGTATCCTCA	397
	VL	GATGTCGTGATGACTCAAACCTCATTGACTCT GAGCGTCACTATTGGGCAACCTGCTAGTATAT CATGCAAGTCCTCTCAGTCTCTGTTGGACTCC GACGGGAAGACTTATCTCAACTGTTGCTGC AACGTCCTGGTGAGAGCCCCAAGCTCCTTATA TACCTGGTATCAAACTGGATTCTGGGGTTCC AGACCGTTTCACTGGGAGCGGGAGCGGCACA GACTTTACCCTCAAGATTTACGGGTAGAAGC TGAAGACCTGGGAGTGTATTACTGCCTTCAAG CCACACATTTTCTCAAACATTTGGGGGTGGT ACTAAGCTGGAAATTAAG	398
607	VH	CAAGTTCAGTTGCAGCTTCTGGAGCTGAGTT GGTTCGGCCAGGTACATCAGTTAAAGTAAGC TGCAAAGCAAGCGACTACACCTCACCACAT	399

		ATTGGATGCACTGGGTCAAACAGCGCCTGG ACAGGGGCTGGACTGGATCGGGAGGATACAT CCTAGCGATTCTGATACTAACTACAATCAGAA TTTCAAAGGTAAAGCCACACTCACTGTGGAC AAATCCTCTTCAACCGCTTACATGCACTTGTC ATCCTTGACATCCGAGGACTCAGCAGTTTATT ACTGCGCTACCGGTTTCAGCTTTTGGGGACAG GGTACTTTGGTGACAGTGAGCGCC	
613	VH	CAGGTTCAAGTGCAACTCCCTGGTGCCGA TGTGAAGCCCGGAGCCAGTGTGAAGGTTAGC TGTAAGGCCTCTGGGTACACATTTACTTCCTA CTGGATGCACTGGGTAAAAAAGCGGCCAGGA CAGGGACTCGAATGGATAGGACGTATTCACC CTTCCGACTCTGACACAACTACAACCAAAA CTTCAAAGGTAAAGCCACTCTCACCGTAGAC AAATCATCATCAACCGCATAACATGCTCCTCTC ATCCCTGACATCAGAAGACAGTGCTGTTTATT ATTGCGCTACAGGGTTTAGTTTTTGGGGCCAA GGAACCTTGATTACCGTGTCCGCA	400
	VL	GACGTGGTGATGACTCAGACACCTCTGACCCT GTCTGTAACCATTGGCCAGCCAGCCAGTATTA GTTGTAATCATCTCAAAGTCTCCTCTACTCA GACGGCAAGACCTATTTGAACTGGTTGCTCCA GCGGCCAGGCGAATCACCCGAGCTGCTCATT TACTTGGTCTCCAAGATGGATTCCGGTGTGCC AGATAGATTTTCATGGTCACGGAAGTGGGACA GCCTTCACAATGAAGATTCCCGGATGGGCG GCGGTGGATTGGGAAACTATTACTGTCTCCCT CGTACCTCCTCCCTTACACTTTCGGTGGTGG GACAAAACCTCGAGATAAAA	401
614	VH	CAAGTGCAGTTGCAGCTCCCCGGTGCCGAAC TCGTA AAAACCCGGCGCAAGCGTGAAAGTTTC CTGTAAGGCATCCGGCTATACATTCACATCAT ATTGGATGCATTGGGTCAAACAGCGTCCTGG GCAGGGTCTTGAATGGATTGGGCGGATACAT	402

		CCATCTGACAGTGATACCAACTACAATCAAA ATTTTAAAGGGAAGGCCACCCTCACAGTTGA CAAGTCTAGTAATACAGCCTACATGCAGCTTT CTAGCCTGACTAGCGAGGATTCTGCTGTTTAC TACTGTGCAACCGGATTCAGTTTTTGGGGACA AGGAACTTTGGTGACAGTATCCGCC	
	VL	GACGTGGTGATGACCCCAACATCACTTCATTT GCTTGTTACTATAGGGCAACCCGGCTTTTTGT TCTGTAAGTTACAGAAATCTCCTCTACAAT GAAGGAAAAACATACTTGAAGTGGCTTTTGC CTGAGCCAGGTGCTTTCTCCAAGGTACTTATA TACCTTGTCTTCAAGATGGGATTTGGGGTTC TGATCGCTTCCACGGCCACGGATCTGGCACCG ACTTCCCTATGAAAATAAGCCGAATGGGAGG GGGCGCCTTGGGGGCTACCTTGCCTTCCCT CTACCCCTTTCCTTATACCTTCGGCGGGGT ACTAACTTGAAATAAAA	403
616	VH	CAGATCCACTTGGTACAGTCTGGACCTGAGCT GAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAGGATCTCC TGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAACCTA TGGAATGAGCTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGA AAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACA CCTACTCTGGAGTGCCAACATATGCTGATGAC TTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTTTGGAAAC CTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAACA ACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTT CTGTACAAGAGAGGGATCTACTATGGTTACG AGGTACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCA CCACTCTCACAGTCTCCTCA	404
	VL	GACATTGTTATGACCCAAGCCGCCCAAGCG TACCAGTTACTCCTGGCGAGAGTGTCTCCATT AGTTGTCGGTCTTCAAAAAGTTTGTCCACTC CAATGGGAATACTTACCTTTATTGGTTCCTTC AGCGTCCTGGTCAATCTCCACAGCTGCTGATT TATCGAATGAGTAACCTGGCCTCAGGAGTCC	405

		CTGATCGCTTCAGTGGTTCAGGGTCCGGTACT GCCTTTACTTAGGATCTCCAGGGTAGAAGC CGAGGATGTAGGCGTCTACCATTGTATGCAA CATCTCGAATCACCTATACTTTCGGTGGAGG TACAAAACTCGAAATAAAA	
617	VH	CAAGTACAACCTGCAACTCCCAGGCGCCGAGT TGGTTAAACCTGGCGCTTCAGTGAAGGTATCC TGCAAAGCATCTGCCTACACTTTCACATCTTA CTGGATGCACTGGGTAAAACAGCGACCAGGG CAGGGACTTGAATGGATTGGACGCATTCATC CTCCGATAGCGACACTAACTATAACCAAAA TTTTAAGGGGAAGGCCACCTTGACTGTGGAT AAATCTAGCAACACAGCCTACATGCAACTCA GTTCACTGACTTCTGAGGATTCTGCCGTTTAT TATTGTGCCACAGGCTTCTCCTTCTGGGGGCA AGGAACCTTGGTGACCGTGTCAAGCT	406
	VL	GACATAGTAATGACTCAAAGCCACAAATTCA TGTCCACCAGTGTGGTGACCGGTATCAATC ACTTGCAAGGCCAGTCAGGACGTATCCACAA CAGTTGCATGGTATCAGCAAAAGCCAGGACA ATCACCCAACTTCTGATTTACAGTGCCAGTT ATCGATACTGGGGTCCCGACAGATTAC AGGATCAGGCAGCGGAACTGATTTTACCTTC ACCATTAGCTCAGTGCAAGCCGAAGATCTGG CCGTGTATTATTGTCAACAGCACTATAGTACC AGGCCACCTTCGGCGGGGAACTAAATTGG AAATAAAG	407
619	VH	CAGATCCAGTTGGTACAGTCTGGACCTGAGCT GAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCC TGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAACCTA TGGAATGAGCTGGGTGAAACAGGCTCCAGGA AAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACA CCTACTCTGGAGTGCCAACATATGCTGATGAC TTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTTTGGAAAC CTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAACA	408

		ACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATT CTGTGCAAGAGAGGGATCTACTATGGTTACG AGGTACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCA CCACTCTCACAGTCTCCTCA	
	VL	GATATTGTGATGACCCAAGCTGCCCCCTCCGT CCCCGTCACACCCGGTGAGTCCGTGTCTATAA GCTGTGCGTAGTTCCAAGAGCTTGCTTCACTCA AATGGCAATACATACCTTTATTGGTTCCCTGCA ACGCCCCGGCCAGAGCCCACAGGTGTTGATT TATCGTATGTCAAACCTGGCCTCCGGCGTTCC CGACAGGTTTTCCGGCAGTGAAGCGGGACC GCATTTACTGCGAATATCTCGTGTGAGGC AGAAGACGTTGGAGTCTATTACTGTATGCAA CACCTCGAAAGCCCATACACTTTCGGCGGTG GGACTAAGCTGGAAATTA	409
623	VH	CAGATCCAGTTGGTTCAGTCTGGACCTGAGCT GAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCC TGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAACCTA TGGAATGAGCTGGGTGAAACAGGCTCCAGGA AAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACA CCTACTCTGGAGTGCCAACATATGCTGATGAC TTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTTTGGAAAC CTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAACA ACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACGTTTTTC TGTGCAAGAGAGGGATCTACTATGGTTACGA GGTACTACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCAC CACTCTCACAGTCTCCTCA	410
	VL	GATATTGTCATGACCCAGGCAGCCCCAGTGT CCCCGTGACTCCTGGAGAAAGTGTTAGTATTA GCTGTGCGATCAAGTAAATCACTTCTTCATAGT AACGGAAATACTTACTTGTATTGGTTCCCTCCA AAGGCCAGGCCAGTCTCCACAGTTGCTCATCT ATCGCATGAGTAATCTTGCTTCAGGTGTGCCT GATCGCTTCAGTGGCAGTGGATCAGGTACTG CTTTCACACTCCGTATAAGTAGGGTGGGAAGCC	411

		GAGGATGTCGGTGTCTACTATTGTATGCAGCA CCTGGAGTATCCCTCAACATTTGGTGGGGGG ACAAAACCTGGAGATTAAG	
624	VH	CAAGTCCAGGTGCAACTGCCTGGCGCCGAAC TTGTGAAACCCGGAGCCTCCGTTAAGGTCTCC TGCAAGGCTAGTGGCTATACCTTTACATCTTA TTGGATGCACTGGGTGAAAAACGCCAGGG CAGGGCCTCGAATGGATCGGCCGCATCCACC CATCTGATAGCGACACTAACTATAACCAGAA CTTTAAAGGCAAGGCTACTCTGACCGTTGATA AAAGCAGTTCCACTGCCTACATGCAACTGAC ATCCCTTACCAGTGAGGATTCGCCGTGTACT ACTGCTCCACAGGGTTCCTTCTGGGGCCAG GGGACCCTTGTTACCGTGTCCGCA	412
	VL	GATGTCGTTATGACCCAGACTCCATTGACTCT GTCTGTCACCATAGGACAACCCGCATCTATCT CCTGCAAATCATCACAGAGCTGCTGTATTCT GACGGAAAGACATATTTGAACTGGCTGCTCC AACGGCCTGGGGAGTCCCCTAAACTCCTTATC TATCTCGTTTCTAAACTTGACAGTGGCGTCCC TGATCGTTTTACCGCTCCGGTCTGGCACTG ATTTTACACTCAAGATCAGCCGGGTGGAAGC AGAGGATTTGGGTGTCTACTATTGTCTTCAGA CCACTTACTCCCATATACTTCGGCGGGCGGA ACTAAATTGGAAATCAAA	413
1610	VH	CAAGTTCAGTTGCACCAACCTGGTACAAGCCT CGTTAAGCCCGGTGCGAGTGTCAAACCTTAGCT GCAAAGCATCTGGTTACAATTTTCCAGTTAT TACATGCACTGGGTAAACAGCGGCCCGGCC AAGGACTGGAGTGGATCGGAACCATCCACCC CTCAGACTCAACTACGAACTGCAATCAGAAG TTCAAGGGGAAGGCCACGCTTACCGTGGACA AGTCAAGTAGGACTGCTTACATGCAACTCAA TAGCTTGACATTCGAGGATTCGCGGTCTATT ATTGTGCGAATTCGTCTATTGGGGACAAGGT	414

		ACCAGCGTGACGGTCTCCAGC	
	VL	GACATTGTTATTACGCAAGACGAGCTGTCAA ACCCTGTTACGAGTGGTGATTCTGTATCCATA TCCTGTCGCTCCTCAAAAAGTCTGTTGTACAA GGATGGAAAAACTTATCTGAACTGGTTTCTGC AACGGCCAGGCCAATCTCCTCAATTGCTTATA TACGTCGTTTCAACGAGAGCCTCAGGAGTGTC TGACAGATTTTCCGGCTCCGGCTCTGGGACCG ATTTTACTCTCGAAATCAGCCGGGTTAAGGCC GAAGACGTTGGTGTGTATTATTGCCAACAGCT CGTAGAGTACCCATATACATTCCGGCGGGGGC ACAAAACTCGAAATAAAG	415
2510	VH	CAAGTTCAGTTGCACCAACCTGGTACAAGCCT CGTTAAGCCCGGTGCGAGTGTCAAACCTTAGCT GCAAAGCATCTGGTTACAATTTTCCAGTTAT TACATGCACTGGGTTAAACAGCGCCCGGCC AAGGACTGGAGTGGATCGGAACCATCCACCC CTCAGACTCAACTACGAACTACAATCAGAAG TTCAAGGGGAAGGCCACGCTTACCGTGGACA AGTCAAGTAGGACTGCTTACATGCAACTCAA TAGCTTGACATTCGAGGATTCCGCGGTCTATT ATTGTGCGAATTCGTCTATTGGGGACAAGGT ACCAGCGTGACGGTCTCCAGC	416
	VL	GACATTGTTATTACGCAAGACGAGCTGTCAA ACCCTGTTACGAGTGGTGATTCTGTATCCATA TCCTGTCGCTCCTCAAAAAGTCTGTTGTACAA GGATGGAAAAACTTATCTGAACTGGTTTCTGC AACGGCCAGGCCAATCTCCTCAATTGCTTATA TACGTCGTTTCAACGAGAGCCTCAGGAGTGTC TGACAGATTTTCCGGCTCCGGCTCTGGGACCG ATTTTACTCTCGAAATCAGCCGGGTTAAGGCC GAAGACGTTGGTGTGTATTATTGCCAACAGCT CGTAGAGTACCCATATACATTCCGGCGGGGGC ACAAAACTCGAAATAAAG	415
2610	VH	CAAGTTCAGTTGCACCAACCTGGTACAAGCCT	417

		CGTTAAGCCCGGTGCGAGTGTCAAACCTTAGCT GCAAAGCATCTGGTTACAGCTTTTCCAGTTAT TACATGCACTGGGTAAACAGCGGCCCGGCC AAGGACTGGAGTGGATCGGAACCATCCACCC CTCAGACTCAACTACGAACTGCAATCAGAAG TTCAAGGGGAAGGCCACGCTTACCGTGGACA AGTCAAGTAGGACTGCTTACATGCAACTCAA TAGCTTGACATTCGAGGATTCCGCGGTCTATT ATTGTGCGAATTCGTCTATTGGGGACAAGGT ACCAGCGTGACGGTCTCCAGC	
	VL	GACATTGTTATTACGCAAGACGAGCTGTCAA ACCCTGTTACGAGTGGTGATTCTGTATCCATA TCCTGTCGCTCCTCAAAAAGTCTGTTGTACAA GGATGGAAAACTTATCTGAACTGGTTTCTGC AACGGCCAGGCCAATCTCCTCAATTGCTTATA TACGTCGTTTCAACGAGAGCCTCAGGAGTGTC TGACAGATTTTCCGGCTCCGGCTCTGGGACCG ATTTTACTCTCGAAATCAGCCGGGTTAAGGCC GAAGACGTTGGTGTGTATTATTGCCAACAGCT CGTAGAGTACCCATATACATTCCGGCGGGGGC ACAAAACCTCGAAATAAAG	415
2710	VH	CAAGTTCAGTTGCACCAACCTGGTACAAGCCT CGTTAAGCCCGGTGCGAGTGTCAAACCTTAGCT GCAAAGCATCTGGTTACACCTTTTCCAGTTAT TACATGCACTGGGTAAACAGCGGCCCGGCC AAGGACTGGAGTGGATCGGAACCATCCACCC CTCAGACTCAACTACGAACTGCAATCAGAAG TTCAAGGGGAAGGCCACGCTTACCGTGGACA AGTCAAGTAGGACTGCTTACATGCAACTCAA TAGCTTGACATTCGAGGATTCCGCGGTCTATT ATTGTGCGAATTCGTCTATTGGGGACAAGGT ACCAGCGTGACGGTCTCCAGC	418
	VL	GACATTGTTATTACGCAAGACGAGCTGTCAA ACCCTGTTACGAGTGGTGATTCTGTATCCATA TCCTGTCGCTCCTCAAAAAGTCTGTTGTACAA	415

		GGATGGAAAACTTATCTGAACTGGTTTCTGC AACGGCCAGGCCAATCTCCTCAATTGCTTATA TACGTCGTTTCAACGAGAGCCTCAGGAGTGTC TGACAGATTTTCCGGCTCCGGCTCTGGGACCG ATTTACTCTCGAAATCAGCCGGGTTAAGGCC GAAGACGTTGGTGTGTATTATTGCCAACAGCT CGTAGAGTACCCATATACATTCCGGCGGGGGC ACAAAACCTCGAAATAAAG	
2810	VH	CAAGTTCAGTTGCACCAACCTGGTACAAGCCT CGTTAAGCCCGGTGCGAGTGTCAAACTTAGCT GCAAAGCATCTGGTTACAGCTTTTCCAGTTAT TACATGCACTGGGTAAACAGCGGCCCGGCC AAGGACTGGAGTGGATCGGAACCATCCACCC CTCAGACTCAACTACGAACTACAATCAGAAG TTCAAGGGGAAGGCCACGCTTACCGTGGACA AGTCAAGTAGGACTGCTTACATGCAACTCAA TAGCTTGACATTCGAGGATTCCGCGGTCTATT ATTGTGCGAATTCGTCTATTGGGGACAAGGT ACCAGCGTGACGGTCTCCAGC	419
	VL	GACATTGTTATTACGCAAGACGAGCTGTCAA ACCCTGTTACGAGTGGTGATTCTGTATCCATA TCCTGTCGCTCCTCAAAAAGTCTGTTGTACAA GGATGGAAAACTTATCTGAACTGGTTTCTGC AACGGCCAGGCCAATCTCCTCAATTGCTTATA TACGTCGTTTCAACGAGAGCCTCAGGAGTGTC TGACAGATTTTCCGGCTCCGGCTCTGGGACCG ATTTACTCTCGAAATCAGCCGGGTTAAGGCC GAAGACGTTGGTGTGTATTATTGCCAACAGCT CGTAGAGTACCCATATACATTCCGGCGGGGGC ACAAAACCTCGAAATAAAG	415
2910	VH	CAAGTTCAGTTGCACCAACCTGGTACAAGCCT CGTTAAGCCCGGTGCGAGTGTCAAACTTAGCT GCAAAGCATCTGGTTACACCTTTTCCAGTTAT TACATGCACTGGGTAAACAGCGGCCCGGCC AAGGACTGGAGTGGATCGGAACCATCCACCC	420

		CTCAGACTCAACTACGAACTACAATCAGAAG TTCAAGGGGAAGGCCACGCTTACCGTGGACA AGTCAAGTAGGACTGCTTACATGCAACTCAA TAGCTTGACATTCGAGGATCCGCGGTCTATT ATTGTGCGAATTCGTCTATTGGGGACAAGGT ACCAGCGTGACGGTCTCCAGC	
	VL	GACATTGTTATTACGCAAGACGAGCTGTCAA ACCCTGTTACGAGTGGTGATTCTGTATCCATA TCCTGTCGCTCCTCAAAAAGTCTGTTGTACAA GGATGGAAAACTTATCTGAACTGGTTTCTGC AACGGCCAGGCCAATCTCCTCAATTGCTTATA TACGTCGTTTCAACGAGAGCCTCAGGAGTGTC TGACAGATTTCCGGCTCCGGCTCTGGGACCG ATTTACTCTCGAAATCAGCCGGGTTAAGGCC GAAGACGTTGGTGTGTATTATTGCCAACAGCT CGTAGAGTACCCATATACATTCGGCGGGGGC ACAAACTCGAAATAAAG	415
1409	VH	GAAGTTCAATTGGTTGAGTCAGGGGCGGTC TTGTTCAACCTAAAGGCTCCCTCAAGTTGTCC TGTGCAGCCTCTGGATTACGTTTAACTTA TGCTATGCACTGGGTTCCGCAAGCACCGGGG AAAGGGCTCGAGTGGGTGGCCCGCATTAGAT CAAAATCATCCAATATGCCACCTACTATGCC GATTCCGTGAAGGACAGATTCACAATATCAC GCGATGATAGCCAAAGTATGCTCTATTTGCAA ATGAATAATCTTAAAACCGAAGACACAGCTA TGTATTATTGTGTCAGAGAGTTGAGACTTAGG TATGCTATGGATTACTGGGGCCAAGGTAATTC AGTGACCGTTTCATCC	421
	VL	GATATACTGATGACCCAACTCCACTGACTCT GTCTGTCACCATCGGTCAGCCCGCATCAATCA GTTGTAAATCTAGTCAGTCCCTGCTGTATACT AACGGAAAGACTTATCTGAATTGGCTTTTGCA ACGGCCCGGTCAATCACCCAAAAGGCTTATA TACCTGGTAAGCAAGTTGGACAGTGGAGTTC	422
		CGGATCGCTTCAGTGGCTCTGGTAGTGGGAC AGATTTTACGCTCAAAATTAGTAGGGTGGAG GCCGAGGATCTTGGCGTCTATTATGCCTCCA ATCTACGCACTTCCACTCACGTTTGGGGCCG GAACCAAACCTCGAACTTAAA	

Далее представлены аминокислотные последовательности варибельной области тяжелой цепи (VH) и варибельной области легкой цепи (VL) антитела В-В4. Указаны CDR, определенные по системам Kabat или Chothia.

Таблица 4

Анти-тело	Цепь	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO	CDR по Chothia		SE Q ID NO	CDR по Kabat		SE Q ID NO			
				HC	DR		HC	DR				
BB4	VH	QVQLQQSGSELM MPGASVKISCKA TGYSFSNYWIEW VKQRPGHGLEWI GEILPGTGRTIYN EKFKGKATFTAD ISSNTVQMQLSSL TSEDSAVYYCAR RDYYGNFYIAM DYWGQGTSVTVSS	423	HC	GYTFSN	425	HC	NYWIE	431			
				DR	Y		DR					
				1			1					
						HC	LPGTGR	426	HC	EILPGT	432	
						DR			DR	GRTIYN		
						2			2	EKFKG		
						HC	RDYYG	427	HC	RDYYG	427	
						DR	NFYA		DR	NFYA		
						3	MDY		3	MDY		
	VL	DIQMTQSTSSLSA SLGDRVITISCSAS QGINNYLNWYQ QKPDGTVLLIY YTSTLQSGVPSRF SGSGSGTDYSLTI SNLEPEDIGTYIC QQYSKLPRTFGG GTKLEIK	424	LC	SASQGI	428	LC	SASQGI	428			
								DR		NNYLN	DR	NNYLN
								1			1	
					LC	YTSTLQ	429	LC	YTSTLQ	429		
					DR	S		DR	S			
					2			2				
					LC	QQYSK	430	LC	QQYSKL	430		
					DR	LPRT		DR	PRT			
					3			3				

Таблица 5

Нуклеотидные последовательности переменных областей тяжелой цепи (VH) и переменных областей легкой цепи (VL) антитела B-B4

Анти-тело	Цепь	Нуклеотидная последовательность	SEQ ID NO
BB4	VH	CAGGTTTCAGTTGCAGCAGTCTGGTCCGAATTGATGATG CCAGGAGCTTCCGTGAAGATAAGCTGTAAGGCCACAGGT TACACTTTCAGTAACTATTGGATAGAATGGGTAAGCAA AGACCTGGTCACGGTTTGAATGGATCGGGGAGATACTG CCTGGTACCGGCAGAACTATCTACAACGAGAAATTTAAG GGTAAAGCCACTTTTACAGCAGACATATCCAGTAATACA GTCAAATGCAGCTGTCATCACTCACCAGTGAAGATAGC GCCGTGTATTACTGCGCCAGGCGGATTATTACGGCAAC TTTTATTATGCTATGGATTACTGGGGCCAAGGTAAGTCTG TAACTGTAAGCTCC	433
	VL	GATATACAGATGACGCAGTCTACTTCTCCCTCTGCGT CCCTTGGCGACCGGTCACAATAAGCTGTCTGCTTCCC AGGGTATAAATAACTACCTGAATTGGTATCAGCAAAAAC CGGATGGGACGGTTCGAACCTCTGATATATTACACATCTA CACTTCAGTCTGGTGTCCCTCTCGCTTTTCAGGTTCCGG TTCCGGCACTGATTATAGCCTTACAATTAGCAACCTCGA ACCGGAGGACATCGGAACATATTATTGCCAGCAATATAG TAAACTGCCAGGACGTTTGGCGGTGGCACCAAGTTGGA AATCAAA	

В варианте осуществления молекула антитела содержит одну, две или три CDR области VH моле-

кулы антитела, представленной в настоящем описании, например, в табл. 1, с использованием определенных CDR по Kabat или Chothia. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну, две или три CDR области VL молекулы антитела, представленной в настоящем описании, например, в табл. 1, с использованием определенных CDR по Kabat или Chothia. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более (например, две или три) CDR области VH и одну или более (например, две или три) CDR области VL молекулы антитела, представленной в настоящем описании, например, в табл. 1, с использованием определенных CDR по Kabat или Chothia.

В варианте осуществления молекула антитела содержит одну, две или три HCDR, приведенные в табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну, две или три LCDR, приведенные в табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более (например, две или три) HCDR и одну или более (например, две или три) LCDR, приведенные в табл. 1.

В варианте осуществления молекула антитела содержит один, два, три или четыре каркаса области VH молекулы антитела, приведенные в табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит один, два, три или четыре каркаса области VL молекулы антитела, приведенные в табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит один или более (например, два, три или четыре) каркаса области VH и один или более (например, два, три или четыре) каркаса области VL молекулы антитела, приведенные в табл. 1.

В варианте осуществления молекула антитела содержит VH молекулы антитела, представленную в настоящем описании, например, в табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит VL молекулы антитела, представленную в настоящем описании, например, в табл. 1. В варианте осуществления молекула антитела содержит VH и VL молекулы антитела, представленные в настоящем описании, например, в табл. 1.

В варианте осуществления молекула антитела содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в табл. 1, или аминокислотную последовательность, по существу, идентичную ей (например, отличающуюся от нее на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или являющуюся по меньшей мере на 85, 90, 95 или 99% идентичной ей). В варианте осуществления молекула антитела содержит VL, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в табл. 1, или аминокислотную последовательность, по существу, идентичную ей (например, отличающуюся от нее на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или являющуюся по меньшей мере на 85, 90, 95 или 99% идентичной ей). В варианте осуществления молекула антитела содержит VH, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в табл. 1 (или аминокислотную последовательность, по существу, идентичную ей), и VL, имеющую аминокислотные последовательности, приведенные в табл. 1 (или аминокислотную последовательность, по существу, идентичную ей).

В варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2, или нуклеотидной последовательностью, по существу, идентичной ей (например, отличающейся от нее на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов или являющейся по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95% или 99% идентичной ей). В варианте осуществления молекула антитела содержит VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2, или нуклеотидной последовательностью, по существу, идентичной ей (например, отличающейся от нее на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов или являющейся по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95% или 99% идентичной ей). В варианте осуществления молекула антитела содержит VH, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2 (или нуклеотидной последовательностью, по существу, идентичной ей), и VL, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2 (или нуклеотидной последовательностью, по существу, идентичной ей).

В варианте осуществления VH содержит одну, две или все из: (i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность GYNFSSY (SEQ ID NO: 350); (ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность HPSDST (SEQ ID NO: 351); или (iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность FVY; и VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность RSSKSLLYKDGKTYLN (SEQ ID NO: 352); (ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность VVSTRAS (SEQ ID NO: 353); или (iii) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность QQLVEYPYT (SEQ ID NO: 354). В варианте осуществления VH содержит: (i) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность GYNFSSY (SEQ ID NO: 350); (ii) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность HPSDST (SEQ ID NO: 351); и (iii) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность FVY; и VL содержит: (i) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность RSSKSLLYKDGKTYLN (SEQ ID NO: 352); (ii) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность VVSTRAS (SEQ ID NO: 353); и (iii) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность QQLVEYPYT (SEQ ID NO: 354).

В варианте осуществления VH содержит одну, две или все из: (i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность SYMH (SEQ ID NO: 380); (ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность TИHPSDSTTNCNQKFKG (SEQ ID NO: 381); или (iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность FVY; и VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокис-

RIRSKSSNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 384); и (iii) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность ELRLRYAMDY (SEQ ID NO: 359); и VL содержит: (i) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность KSSQSLLYTNGKTYLN (SEQ ID NO: 360); (ii) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность LVSKLDS (SEQ ID NO: 304); и (iii) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность LQSTHFPLT (SEQ ID NO: 361).

В варианте осуществления VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291. В варианте осуществления VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 298. В варианте осуществления VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 298, и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 292.

В варианте осуществления молекула антитела против CD138 содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарности области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит одну, две или все из: (i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность G-F-Y-S/T-F-T/I-A/T/S/R/T/D-H/Y/F; (ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность D/H/Y/N-P-N/S/Y-T/D/S/Y-G/S-S/A/V; или (iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность N/S/E-W/Y/G-H/X-D/X-Y/X-T/Y/X-D/E/A/X-G/F/M/X-P/A/L/D-Y/H (X=отсутствие); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарности области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность K-S-S-Q/H-S-L-L-D/H/Y-G/S/T-D/N-G-K/E-T-Y-L-N (SEQ ID NO: 435); (ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность L-V-S-K/N-L-D-S (SEQ ID NO: 436); или (iii) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность W/L-Q-G/S-T-H-F-P-R/Q-T (SEQ ID NO: 437).

В варианте осуществления молекула антитела против CD138 содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарности области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит одну, две или все из: (i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность A/T/S/R/D/N-H/Y-F-H/W/N/G-M-H/N/S; (ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность E/R/N/W-I-D/H/Y/N-P/T-N/S/Y-T/D/S/Y-G/S-S/A/V/D/Y-T/S/P-T/Q/N/G-Y-N/D/T/A-Q/E/D-K/R/N/D-F-R/K/E-A/T/N/S/G; или (iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность N/S/E-W/Y/G-H/X-D/X-Y/X-T/Y/X-D/E/A/X-G/F/M/X-P/A/L/D-Y/H (X=отсутствие); и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарности области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность K-S-S-Q/H-S-L-L-D/H/Y-G/S/T-D/N-G-K/E-T-Y-L-N (SEQ ID NO: 435); (ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность L-V-S-K/N-L-D-S (SEQ ID NO: 436); или (iii) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность W/L-Q-G/S-T-H-F-P-R/Q-T (SEQ ID NO: 437).

В варианте осуществления молекула антитела содержит: (a) VH, содержащую: (i) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность HCDR1 антитела против CD138, представленного в настоящем описании, например, выбранного из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619 или 623; (ii) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность HCDR2 антитела против CD138; и (iii) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность HCDR3 антитела против CD138, и (b) VL, содержащую: (i) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность LCDR1 антитела против CD138; (ii) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность LCDR2 антитела против CD138; и (iii) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность LCDR3 антитела против CD138.

В варианте осуществления молекула антитела против CD138 содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарности области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит три определяющие комплементарности области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит одну, две или все из: (i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность G-Y-N/S/T-F-S-S-Y (SEQ ID NO: 438); (ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность H-P-S-D-S-T (SEQ ID NO: 351); или (iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность F-V-Y; и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарности области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность R-S-S-K-S-L-L-Y-K-D-G-K-T-Y-L-N (SEQ ID NO: 352); (ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность V-V-S-T-R-A-S (SEQ ID NO: 353); или (iii) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность Q-Q-L-V-E-Y-P-Y-T (SEQ ID NO: 354).

В варианте осуществления HCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 350, 355 или 356, HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 351, и HCDR3 содержит аминокислотную последовательность F-V-Y. В варианте осуществления LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 352; LCDR2 содержит аминокис-

лотную последовательность SEQ ID NO: 353; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 354.

В варианте осуществления молекула антитела против CD138 содержит:

(а) вариабельную область тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит три определяющие комплементарности области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит одну, две или все из: (i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность S-Y-Y-M-H (SEQ ID NO: 380); (ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность T-I-H-P-S-D-S-T-T-N-C/Y-N-Q-K-F-K-G (SEQ ID NO: 439); или (iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность F-V-Y; и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарности области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность R-S-S-K-S-L-L-Y-K-D-G-K-T-Y-L-N (SEQ ID NO: 352); (ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность V-V-S-T-R-A-S (SEQ ID NO: 353); или (iii) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность Q-Q-L-V-E-Y-P-Y-T (SEQ ID NO: 354).

В варианте осуществления HCDR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 380, HCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 381 или 382, и HCDR3 содержит аминокислотную последовательность F-V-Y. В варианте осуществления LCDR1 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 352; LCDR2 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 353; и LCDR3 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 354.

В варианте осуществления молекула антитела содержит: (а) VH, содержащую: (i) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность HCDR1 антитела против CD138, представленного в настоящем описании, например, выбранного из антител 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409; (ii) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность HCDR2 антитела против CD138; и (iii) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность HCDR3 антитела против CD138, и (b) VL, содержащую: (i) LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность LCDR1 антитела против CD138; (ii) LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность LCDR2 антитела против CD138; и (iii) LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность LCDR3 антитела против CD138.

В варианте осуществления VH содержит аминокислотную последовательность VH антитела против CD138, и VL содержит аминокислотную последовательность VL антитела против CD138.

В варианте осуществления молекула антитела содержит две VH и две VL.

В варианте осуществления молекула антитела является синтетической молекулой антитела. В варианте осуществления молекула антитела является выделенной молекулой антитела. В варианте осуществления молекула антитела является молекулой гуманизированного антитела. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более каркасных областей, полученных из последовательности каркаса зародышевой линии человека.

В варианте осуществления молекула антитела содержит область VH, содержащую одну или более мутаций относительно антитела против CD138, представленного в настоящем описании (например, антитела CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409). В варианте осуществления мутации включают одну или более замен относительно последовательности VH антитела 1610. В варианте осуществления замена представляет собой С60Y. В варианте осуществления замена представляет собой N28S. В варианте осуществления замена представляет собой N28T. В варианте осуществления замены представляют собой N28S и С60Y. В варианте осуществления замены представляют собой N28T и С60Y. В варианте осуществления мутантную молекулу антитела экспрессируют в транзитивно трансфицированных клетках HEK293 на уровнях, равных уровням антитела 1610 или выше.

В варианте осуществления молекула антитела связывается с внеклеточным доменом CD138. В варианте осуществления молекула антитела связывается с внеклеточной областью CD138, проксимальной к трансмембранному домену. В варианте осуществления молекула антитела может связываться с одним или более (например, двумя, тремя или всеми) из следующих пептидов: пептида, содержащего аминокислотную последовательность ENTAVVAVEPDRRNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG (SEQ ID NO: 440), пептида, содержащего аминокислотную последовательность TAVVAVEPDRRNQSPVDQGATGASQ (SEQ ID NO: 441), пептида, содержащего аминокислотную последовательность ENTAVVAVEPDRRNQSPVDQGATG (SEQ ID NO: 442), или пептида, содержащего аминокислотную последовательность ENTAVVAVEPDRRNQ (SEQ ID NO: 443). В варианте осуществления молекула антитела может связываться с одним или более (например, двумя или всеми) из следующих пептидов: пептида, содержащего аминокислотную последовательность ENTAVVAVEPDRRNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG (SEQ ID NO: 440), пептида, содержащего аминокислотную последовательность RNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG (SEQ ID NO: 444), или пептида, содержащего аминокислотную последовательность ENTAVVAVEPDRRNQ (SEQ ID NO: 443).

В варианте осуществления молекула антитела дополнительно связывается с внеклеточной областью

CD138, дистальной по отношению к трансмембранному домену, например, областью, соответствующей или проксимальной к интегрин-связывающему домену (IBD) CD138. В варианте осуществления молекула антитела может связываться с одним или обоими из следующих пептидов: пептида, содержащего аминокислотную последовательность ASTSTLPAEGEPKGEAVVLPEVEPGLTAREQEA (SEQ ID NO: 10), или пептида, содержащего аминокислотную последовательность GEAVVLPEVEPGLTA (SEQ ID NO: 445).

В варианте осуществления молекула антитела является синтетической молекулой антитела. В варианте осуществления молекула антитела является выделенной молекулой антитела. В варианте осуществления молекула антитела является молекулой гуманизированного антитела. В варианте осуществления молекула антитела содержит одну или более каркасных областей, полученных из последовательности каркаса зародышевой линии человека.

В варианте осуществления молекула антитела является антителом IgG. В варианте осуществления молекула антитела содержит константную область тяжелой цепи IgG, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В варианте осуществления молекула антитела содержит константную область легкой цепи каппа или ламбда.

В варианте осуществления молекула антитела содержит Fc-область, содержащую одну или более мутаций для повышения аффинности связывания с неонатальным рецептором FcRn и/или времени полужизни молекулы антитела. В варианте осуществления молекула антитела содержит Fc-область, содержащую одну или более мутаций, представленных в настоящем описании, например, для повышения одного или более из времени полужизни, ADCC, CDC или ADCP.

В варианте осуществления молекула антитела является антителом IgG. В варианте осуществления молекула антитела содержит константную область тяжелой цепи IgG, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В варианте осуществления молекула антитела содержит константную область легкой цепи каппа или ламбда.

В варианте осуществления молекула антитела содержит Fc-область, содержащую одну или более мутаций для повышения аффинности связывания с неонатальным рецептором FcRn и/или времени полужизни молекулы антитела. В варианте осуществления молекула антитела содержит Fc-область, содержащую одну или более мутаций, представленных в настоящем описании, например, для повышения одного или более из времени полужизни, ADCC, CDC или ADCP.

В варианте осуществления молекула антитела дополнительно содержит константную область тяжелой цепи. В варианте осуществления константная область тяжелой цепи является константной областью IgG1 или ее функциональной частью. В другом варианте осуществления константная область тяжелой цепи является константной областью IgG2 или ее функциональной частью. В варианте осуществления молекула антитела дополнительно содержит константную область легкой цепи. В варианте осуществления молекула антитела дополнительно содержит константную область тяжелой цепи и константную область легкой цепи. В варианте осуществления молекула антитела содержит константную область тяжелой цепи, константную область легкой цепи и переменные области тяжелой и легкой цепи молекулы антитела, приведенные в табл. 1. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела содержит константную область тяжелой цепи, константную область легкой цепи и переменные области, содержащие одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR молекулы антитела, приведенные в табл. 1.

Примеры константных областей тяжелой цепи приведены ниже.

Константная область HC IgG1:

ASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 446)

Константная область HC IgG2:

ASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 447)

В варианте осуществления молекула антитела является мультивалентной (например, бивалентной, тривалентной или тетравалентной) молекулой антитела. В варианте осуществления молекула антитела связывается с двумя или более (например, тремя или четырьмя) разными областями в CD138. Например, молекула антитела может содержать два или более набора идентичных или, по существу, идентичных пар VH-VL, где каждая пара VH-VL связывается с двумя или более разными областями в CD138. В качестве другого примера, молекула антитела может содержать два или более набора разных пар VH-VL, где

каждая пара VH-VL связывается с разными областями в CD138.

В варианте осуществления молекула антитела является мультиспецифической (например, биспецифической, триспецифической или тетраспецифической) молекулой антитела. В варианте осуществления молекула антитела имеет первую специфичность связывания с CD138 и вторую специфичность связывания, иную, чем в отношении CD138. Например, молекула антитела может содержать два или более набора идентичных или, по существу, идентичных пар VH-VL, где каждая пара VH-VL имеет и первую специфичность связывания, и вторую специфичность связывания. В качестве другого примера, молекула антитела может содержать два или более набора разных пар VH-VL, где каждая пара VH-VL имеет разную специфичность связывания.

Конъюгаты молекула антитела-лекарственное средство.

В рамках изобретения термин "конъюгат молекула антитела-лекарственное средство" или ADC относится к молекуле антитела, соединенной с неантительным функциональным фрагментом, например, терапевтическим средством или меткой, например, цитотоксическим средством. Молекулу антитела можно соединять с неантительным функциональным фрагментом прямо или косвенно, например, через линкер.

В варианте осуществления молекулу антитела соединяют с неантительным функциональным фрагментом посредством ковалентной связи. В варианте осуществления молекулу антитела соединяют с неантительным функциональным фрагментом посредством пептидной связи. В варианте осуществления молекулу антитела соединяют с неантительным функциональным фрагментом посредством непептидной связи. В варианте осуществления молекулу антитела не соединяют с неантительным функциональным фрагментом посредством непептидной связи. В варианте осуществления неантительный функциональный фрагмент также обозначают как "нагрузку".

В варианте осуществления неантительный функциональный фрагмент соединяют с остовом молекулы антитела. В другом варианте осуществления неантительный функциональный фрагмент соединяют с боковой цепью молекулы антитела. В варианте осуществления с молекулой антитела соединяют два или более (например, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более) неантительных функциональных фрагментов.

В варианте осуществления ADC содержит молекулу антитела, связывающуюся с CD138, например, молекулу антитела против CD138, представленную в настоящем описании.

В варианте осуществления ADC содержит одну, две или три CDR области VH молекулы антитела, приведенные в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409), при использовании определений CDR по Kabat или Chothia. В варианте осуществления ADC содержит одну, две или три CDR области VL молекулы антитела, приведенные в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409), при использовании определений CDR по Kabat или Chothia. В варианте осуществления ADC содержит одну или более (например, две или три) CDR области VH и/или одну или более (например, две или три) CDR области VL молекулы антитела, приведенные в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409), при использовании определений CDR по Kabat или Chothia.

В варианте осуществления ADC содержит одну, две или три CDR VH, приведенные в табл. 1. В варианте осуществления ADC содержит одну, две или три CDR VL, приведенные в табл. 1. В варианте осуществления ADC содержит одну или более (например, две или три) CDR VH и/или одну или более (например, две или три) CDR VL, приведенные в табл. 1.

В варианте осуществления ADC содержит один, два, три или четыре каркаса области VH молекулы антитела, приведенные в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409). В варианте осуществления ADC содержит один, два, три или четыре каркаса области VL молекулы антитела, приведенные в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409). В варианте осуществления ADC содержит один или более (например, два, три или четыре) каркаса области VH и/или один или более (например, два, три или четыре) каркаса области VL молекулы антитела, приведенные в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409).

В варианте осуществления ADC содержит переменную область тяжелой цепи молекулы антитела, приведенную в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409). В варианте осуществления ADC содержит переменную область легкой цепи молекулы антитела, приведенную в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409). В варианте осуществления ADC содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи молеку-

лы антитела, приведенные в табл. 1 (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409).

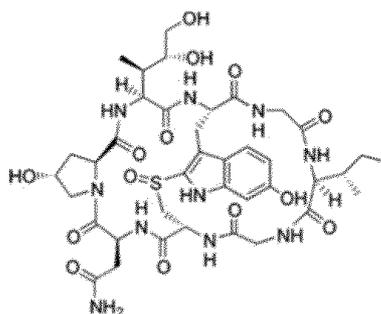
В варианте осуществления ADC содержит вариabельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в табл. 1. В варианте осуществления ADC содержит вариabельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в табл. 1. В варианте осуществления ADC содержит вариabельную область тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в табл. 2, и вариabельную область легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, приведенную в табл. 1.

В варианте осуществления молекула антитела содержит вариabельную область тяжелой цепи, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2. В варианте осуществления молекула антитела содержит вариabельную область легкой цепи, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2. В варианте осуществления молекула антитела содержит вариabельную область тяжелой цепи, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2, и вариabельную область легкой цепи, кодируемую нуклеотидной последовательностью, приведенной в табл. 2.

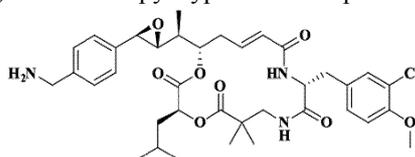
В варианте осуществления ADC содержит константную область тяжелой цепи. В варианте осуществления ADC содержит константную область легкой цепи. В варианте осуществления ADC содержит константную область тяжелой цепи и константную область легкой цепи. В варианте осуществления ADC содержит константную область тяжелой цепи, константную область легкой цепи и вариabельные области тяжелой и легкой цепи молекулы антитела, приведенные в табл. 1. В некоторых вариантах осуществления ADC содержит константную область тяжелой цепи, константную область легкой цепи и вариabельные области, содержащие одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR молекулы антитела, приведенные в табл. 1.

В варианте осуществления неантительная молекула содержит цитотоксическое средство (например, любое цитотоксическое средство, активное в отношении злокачественного новообразования). В варианте осуществления цитотоксическое средство выбрано из ингибитора полимеризации тубулина (например, ауристати́на), средства, ассоциированного с деполимеризацией тубулина (например, майтанзина), средства, ассоциированного с расщеплением ДНК (например, калихимидина), средства, алкилирующего малую бороздку ДНК (например, дуокармицина), кросслинкера малой бороздки ДНК (например, димеров PBD) или ингибитора РНК-полимеразы II (например, α -аманитина).

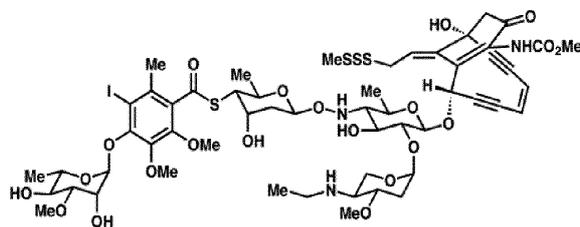
В варианте осуществления цитотоксическое средство является α -аманитином. α -аманитин является бициклическим октапептидом, принадлежащим к большой группе протоплазматических токсинов грибов, известных как аматоксины. α -аманитин связывается с мостиковой спиралью РНК-полимеразы II, ингибируя транслокацию РНК и ДНК, необходимую для освобождения участка для следующего раунда синтеза, таким образом, снижая скорость транскрипции, α -аманитин и его использование в ADC описаны, например, в Moldenhauer et al. *J Natl Cancer Inst.* 2012; 104(8): 622-634. Структура α -аманитина является следующей:



В варианте осуществления цитотоксическое средство является аналогом криптофицина. Криптофицины представляют собой группу депсипептидов цианобактерий с выраженной биологической активностью против злокачественных клеток с множественной лекарственной устойчивостью (MDR). Криптофицины истощают микротрубочки посредством взаимодействия с тубулином, таким образом, предотвращая деление клеток. Они могут индуцировать апоптоз, возможно, с помощью других механизмов в дополнение к механизмам, опосредуемым ингибированием микротрубочек. Криптофицин, аналоги и их использование в ADC описаны, например, в Shih & Teicher. *Curr Pharm Des.* 2001;7(13): 1259-1276; Eggen & Georg. *Med Res Rev.* 2002;22(2): 85-101. Структура аналога криптофицина является следующей:

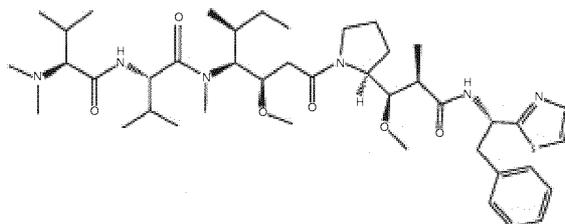


В варианте осуществления цитотоксическое средство является калихимимицином (также известным как LL-E33288). Калихимимицин контактирует с ДНК и вызывает циклизацию Бергмана, приводящую к расщеплению ДНК и, таким образом, разрушению клеток. Калихимимицин и его использование в ADC описаны, например, в Maiese et al. *J Antibiot (Tokyo)*. 1989;42(4): 558-563; Watanabe et al. *Chem Biol*. 2002;9(2): 245-251; Ricart & Tolcher. *Nat Clin Pract Oncol*. 2007;4: 245-255. Структура калихимимицина является следующей.

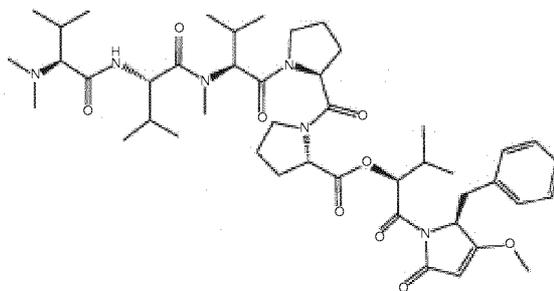


В варианте осуществления цитотоксическое средство является центамицином. Центамицин также известен как ML-970, AS-I-145, NSC 716970 или N-[4-амино-1-(2-хлорэтил)-2-нафтил]-5,6,7-триметокси-1H-индол-2-карбоксамид). Центамицин связывается с А-Т-богатой малой бороздкой ДНК и алкилирует ДНК. Центамицин и его использование в ADC описаны, например, в Rayburn et al. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012;69(6): 1423-31.

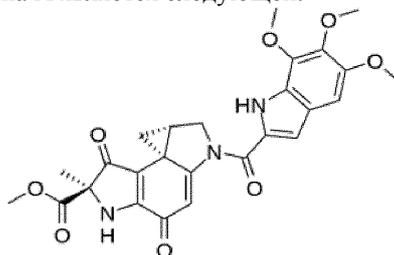
В варианте осуществления цитотоксическое средство является доластатином. В варианте осуществления доластатин является доластатином 10 или доластатином 15. Доластатины неконкурентно ингибируют связывание винкристина с тубулином в области алкалоида барвинка/пептида). Аналоги доластатинов включают, например, симпlostатин 1, симпlostатин 3 и ауристатин. Доластатины, аналоги и их использование описаны, например, в Amador et al. *Annals of Oncology*. 2003; 14: 1607-1615; Kijjoa & Sawangwong. *Mar Drugs*. 2004; 2(2): 73-82; Luesch et al. *J Nat Prod*. 2001;64(7): 907-910; Luesch et al. *J Nat Prod*. 2002;65(1): 16-20. Структура доластатина 10 является следующей:



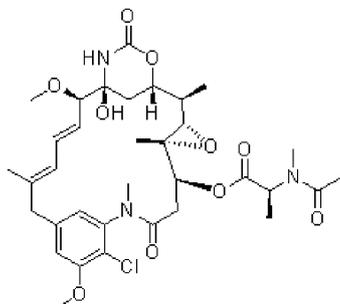
Структура доластатина 15 является следующей:



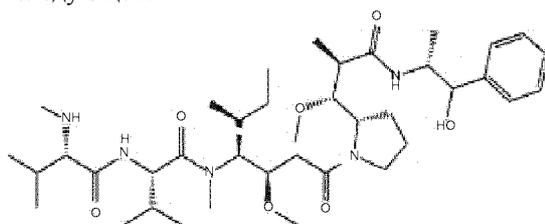
В варианте осуществления цитотоксическое средство является аналогом дуокармицина. Аналоги дуокармицина являются селективными в отношении малой бороздки ДНК, селективными в отношении АТ-последовательности и аденин-N3-алкилирующими средствами. Дуокармицин, аналоги и их использование в ADC описаны, например, в Tietze & Krewer. *Chem Biol Drug Des*. 2009;74(3): 205-211; Cacciari et al. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2000; 10 (12): 1853-1871; Terzel et al. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2013;52(21): 5442-5446. Примеры дуокармицина и его аналогов включают, например, дуокармицин А, дуокармицин В1, дуокармицин В2, дуокармицин С1, дуокармицин С2, дуокармицин D, дуокармицин SA и CC-1065. Структура дуокармицина А является следующей:



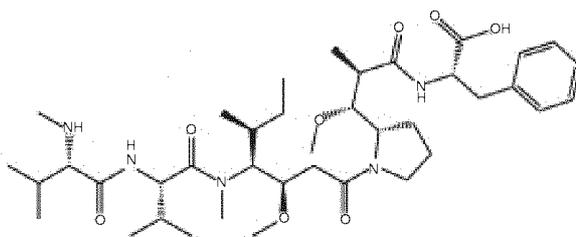
В варианте осуществления цитотоксическое средство является майтанзином. Майтанзин, бензоансамacroлид, является очень мощным, направленно воздействующим на микротрубочки соединением, индуцирующим митотический блок и уничтожающим опухолевые клетки в субнанолярных концентрациях. Майтанзин и его аналоги (майтанзиноиды DM1 и DM4) являются мощными, направленно воздействующими на микротрубочки соединениями, ингибирующими пролиферацию клеток посредством митоза. Майтанзин описан, например, в Lopus et al. *Mol Cancer Ther.* 2010;9(10): 2689-2699; Widdison et al. *J Med Chem.* 2006;49(14): 4392-4408; Liu et al. *J Mass Spectrom.* 2005;40(3): 389-399; Tassone et al. *Cancer Res.* 2004;64(13): 4629-4636; Sawada et al. *Bioconjug Chem.* 1993;4(4): 284-289. Структура майтанзина является следующей:



В варианте осуществления цитотоксическое средство является монометил ауристатином E (MMAE, ведотином). MMAE является очень мощным антimitotическим средством, ингибирующим деление клеток посредством блокирования полимеризации тубулина. MMAE и его использование в ADC описано, например, в Francisco et al. *Blood.* 2003;102(4):1458-1465; Junutula et al. *Nat Biotechnol.* 2008;26(8): 925-932; Asundiet al. *Clin Cancer Res.* 2011;17(5): 965-975; Younes et al. *J Clin Oncol.* 2012;30(18): 2183-2189; Pettit et al. *Anticancer Drug Des.* 1995;10(7): 529-544; Doronina et al. *Nat Biotechnol.* 2003;21(7): 778-784. Структура MMAE является следующей:

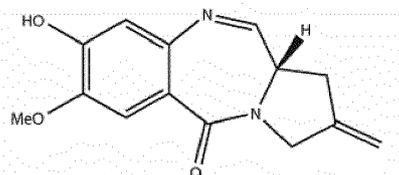


В варианте осуществления цитотоксическое средство является монометил ауристатином F (MMAF). MMAF является антитубулиновым средством, ингибирующим деление клеток посредством блокирования полимеризации тубулина. Он является производным ауристатина с заряженным С-концевым фенилаланином, снижающим его цитотоксическую активность по сравнению с соответствующим незаряженным аналогом, монометил ауристатином E (MMAE). MMAF может вызывать мощные противоопухолевые эффекты при конъюгации посредством расщепляемых протеазой линкеров с моноклональным антителом, нацеленным на интернализирующиеся, опухолеспецифические антигены поверхности клетки. Например, линкер к моноклональному антителу является стабильным во внеклеточной жидкости, но может расщепляться катепсином, после того как конъюгат попадает в опухолевую клетку, таким образом, активируя антimitotический механизм. MMAF и его использование в ADC описано, например, в Smith et al. *Mol Cancer Ther.* 2006 5; 1474-1482; Doronina et al., *Bioconjug Chem.* 2006; 17(1):114-24; Oflazoglu et al. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(19): 6171-6180; Nilsson et al. *Cancer.* 2010;116(4 Suppl): 1033-1042. Структура MMAF является следующей:



В варианте осуществления цитотоксическое средство является пирролобензодиазепином (PBD). PBD представляют собой класс селективных в отношении последовательности, связывающихся с малой бороздкой ДНК, перекрестно-сшивающих средств. Механизм действия PBD ассоциирован с их способностью образовывать аддукт в малой бороздке, таким образом, противодействуя процессингу ДНК. Неограничивающие примеры средств, принадлежащих к группе пирролобензодиазепиновых антибиотиков,

включают антрамицин, эбимицин, чикамицин, DC-81, мазетрамицин, неотрамицин А, неотрамицин В, поротрамицин, протракарцин, сибаномицин (DC-102), сибиромидин и томамицин. PBD и их использование в ADC описаны, например, в Antonow & Thurston DE. Chem Rev. 2011; 111: 2815-2864; Cipolla et al. Anticancer Agents Med Chem. 2009; 9: 1-31; Gerratana. Med Res Rev. 2012; 32: 254-293; Li et al. Appl Environ Microbiol. 2009; 75(9): 2869-2878; Rahman et al. Org. Biomol. Chem. 2011; 9: 1632-1641; Saunders et al. Sci Transl Med. 2015; 7(302): 302ral36; Hu et al. Chem Biol. 2007; 14(6):691-701. Структура PBD является следующей:



В варианте осуществления ADC дополнительно содержит линкер, например, линкер, с помощью которого соединяют молекулу антитела с неантительным функциональным фрагментом. В варианте осуществления линкер содержит гидразоновую, дисульфидную, пептидную или тиоэфирную связь.

В варианте осуществления линкер является нерасщепляемым линкером. Примеры нерасщепляемых линкеров включают, например, нерасщепляемый тиоэфирный линкер (например, N-сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC)) или нерасщепляемый малеимидокапроиловый линкер.

В варианте осуществления линкер является расщепляемым линкером. В варианте осуществления расщепляемый линкер является химически лабильным линкером, например, расщепляемым кислотой линкером (например, расщепляемым кислотой гидразоном) или восстанавливаемым линкером (например, дисульфидным линкером). В варианте осуществления расщепляемый линкер является ферментативно расщепляемым линкером, например, линкером на основе пептида (например, дипептидным линкером (например, валин-цитруллиновым (Val-Cit) линкером или фенилаланин-лизиновым (Phe-Lys) дипептидным линкером)) или β-глокуронидным линкером. Другие линкеры и их использование в ADC описаны, например, в Lu et al. Int J Mol Sci. 2016; 17(4): 561, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

В варианте осуществления линкер является полиэтиленгликолевым (PEG) линкером.

Модели на животных.

Молекулы антител, представленные в настоящем описании, можно оценивать *in vivo*, например, с использованием различных моделей на животных. Например, модель на животных можно использовать для тестирования эффективности молекулы антитела, представленной в настоящем описании, в ингибировании CD138 и/или лечении или профилактике нарушения, представленного в настоящем описании, например, миеломы (например, множественной миеломы). Модели на животных также можно использовать, например, для исследования наличия побочных эффектов, измерения концентраций молекул антител *in situ*, демонстрации корреляции между функцией CD138 и нарушением, представленным в настоящем описании, например, миеломой (например, множественной миеломой). Неограничивающие примеры типов животных, которые можно использовать для оценки молекул антител, представленных в настоящем описании, включают мышей, крыс, кроликов, морских свинок и обезьян.

Неограничивающие примеры моделей миеломы (например, множественной миеломы) на животных, которые можно использовать для оценки молекулы антитела, представленной в настоящем описании, включают модели иммунокомпетентных мышей, например, модели 5TMM (5T Radl), 5T2, 5T33 и 5TGMA (Radl et al. Am J Pathol. 1988; 132: 593-597); модели иммунокомпрометированных мышей, например, модель RAG-2 (Fowler et al. Dis Model Mech. 2009; 2: 604-611), мышинные модели ксенотрансплантатов миеломы, например, модели SCID и NOD/SCID (Huang et al. Cancer Res. 1993; 53: 1392-1396; Tsunenari et al. Blood. 1997; 90: 2437-2444; Torcia et al. Exp Hematol. 1996; 24: 868-874; Hjorth-Hansen et al. J Bone Miner Res. 1999; 14: 256-263); модели SCID-Hu и SCID-Rab (Urashima et al. Blood. 1997; 90: 754-765; Yaccoby et al. Blood. 1998; 92: 2908-2913; Yata & Yaccoby. Leukemia. 2004; 18: 1891-1897); генетически сконструированные модели, например, ИЛ-6- и MYC-управляемые модели (Kovalchuk et al. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 1509-1514; Adams et al. Nature. 1985; 318: 533-538; Chesi et al. Blood. 2012; 120: 376-385); модель Eμ-xbp-1s (Carrasco et al. Cancer Cell. 2007; 11(4):349-360); модель L-GP130 (Dechowet al. J Clin Invest. 2014; 124(12):5263-5274).

В доклинических моделях *in vivo* можно использовать различные линии клеток миеломы мыши и человека и первичные миеломные клетки человека. Неограничивающие примеры линий клеток миеломы мыши и человека, которые можно использовать для приживления, включают миеломные клетки 5T (Radl et al. Am J Pathol. 1988; 132: 593-597), лимфобластоидные клетки человека ARH-77 (Huang et al. Cancer Res. 1993; 53(6): 1392-1396), линию клеток миеломы человека JN3 (Hjorth-Hansen et al. J Bone Miner Res. 1999; 14(2): 256-263) и ИЛ-6-зависимые линии клеток миеломы (Tsunenari et al. Blood. 1997; 90(6): 2437-

2444). Желаемую линию клеток можно выбирать с учетом, например, скорости приживления опухоли, характеристик конкретного типа опухоли (например, склонности к развитию литических очагов в костях) или типа продуцируемого моноклонального белка.

Другие модели миеломы (например, множественной миеломы) на животных описаны, например, в Lwin et al. Bonekey Rep. 2016; 5: 772; Libouban et al. Morphologic 2015; 99(325): 63-72; Campbell et al. CurrProtocPharmacol. 2008; Chapter 14: Unit 14.9.

Фармацевтические композиции и наборы.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композициям, например, фармацевтически приемлемым композициям, включающим молекулу антитела против CD138, представленную в настоящем описании (например, молекулу гуманизированного антитела, представленную в настоящем описании), составленную вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

В рамках изобретения термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые и все растворители, дисперсионные среды, изотонические и замедляющие абсорбцию средства и т.п., являющиеся физиологически совместимыми. Носитель может подходить для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, ректального, спинального или эпидермального введения (например, посредством инъекции или инфузии). В некоторых вариантах осуществления менее приблизительно 5%, например, менее приблизительно 4%, 3%, 2% или 1% молекул антител в фармацевтической композиции находятся в виде агрегатов. В других вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 95%, например, по меньшей мере приблизительно 96%, 97%, 98%, 98,5%, 99%, 99,5%, 99,8% или более молекул антител в фармацевтической композиции находятся в виде мономеров. В некоторых вариантах осуществления уровень агрегатов или мономеров определяют посредством хроматографии, например, высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (HP-SEC).

Композиции, представленные в настоящем описании, могут иметь множество форм. Они включают, например, жидкие, полутвердые и твердые лекарственные формы, такие как жидкие растворы (например, инъекционные и инфузионные растворы), дисперсии или суспензии, липосомы и суппозитории. Подходящая форма зависит от предполагаемого способа введения и терапевтического использования. Типичные подходящие композиции находятся в форме инъекционных или инфузионных растворов. Одним из подходящих способов введения является парентеральный (например, внутривенный, подкожный, интраперитонеальный, внутримышечный). В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела вводят посредством внутривенной инфузии или инъекции. В некоторых вариантах осуществления антитело вводят посредством внутримышечной или подкожной инъекции.

Фразы "парентеральное введение" и "введенный парентерально" в рамках изобретения означают способы введения, иные, чем энтеральное и местное введение, как правило, посредством инъекции, и включают, в качестве неограничивающих примеров, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, интракапсульную, интраорбитальную, внутрисердечную, интрадермальную, интраперитонеальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидермальную и интрасеральную инъекцию и инфузию.

Терапевтические композиции, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях производства и хранения. Композицию можно составлять в виде раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации антитела. Стерильные инъекционные растворы можно получать посредством включения активного соединения (т.е. антитела или части антитела) в необходимом количестве в соответствующем растворителе с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрацией. Как правило, дисперсии получают посредством включения активного соединения в стерильный носитель, содержащий основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов, предпочтительными способами получения являются сушка в вакууме и лиофилизация, с помощью которых получают порошок активного ингредиента и любого дополнительного желаемого ингредиента из его раствора, полученного ранее и стерилизованного фильтрацией. Можно поддерживать соответствующую текучесть раствора, например, с использованием покрытия, такого как лецитин, посредством поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и посредством использования поверхностно-активных веществ. Можно достигать пролонгированной абсорбции инъекционных композиций посредством включения в них средства, замедляющего абсорбцию, например, моностеаратных солей и желатина.

Молекулы антител, представленные в настоящем описании, можно вводить разными способами. Несколько из них известны в этой области, и для многих областей терапевтического, профилактического или диагностического использования подходящим путем/способом введения является внутривенная инъекция или инфузия. Например, молекулы антител можно вводить посредством внутривенной инфузии со скоростью менее 10 мг/мин; предпочтительно - 5 мг/мин или менее, для достижения дозы приблизительно от 1 до 100 мг/м², предпочтительно - приблизительно от 5 до 50 мг/м², приблизительно от 7 до 25 мг/м², и более предпочтительно - приблизительно 10 мг/м². Как будет понятно специалистам в этой области, путь и/или способ введения будет варьироваться в зависимости от желаемых результатов. В

некоторых вариантах осуществления активное соединение можно получать с использованием носителя, который будет защищать соединение от быстрого высвобождения, такого как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты, трансдермальные пластыри и микроинкапсулированные системы доставки. Можно использовать биodeградируемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфиры и полимолочная кислота. Многие способы получения таких составов запатентованы или, как правило, известны специалистам в этой области. См., например, *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

В некоторых вариантах осуществления антитело молекулу можно вводить перорально, например, с инертным дилуэтом или усваиваемым съедобным носителем. Молекулу антитела (и другие ингредиенты, при желании) также можно заключать в твердую или мягкую желатиновую капсулу, прессовать в таблетки или включать непосредственно в пищу индивидуума. В случае перорального терапевтического введения молекулу антитела можно включать вместе с эксципиентами и использовать в форме проглатываемых таблеток, буккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, пластинок и т.п. Для введения молекулы антитела иначе, чем посредством парентерального введения, необходимым может являться покрытие соединения материалом для предотвращения инактивации или совместное введение материала с ним. Терапевтические, профилактические или диагностические композиции также можно вводить с использованием медицинских устройств, и несколько из них известны в этой области.

Для достижения желаемого ответа (например, терапевтического, профилактического или диагностического ответа) корректируют режимы дозирования. Например, можно вводить единственный болюс, можно вводить несколько дробных доз с течением времени или можно пропорционально снижать или повышать дозу в зависимости от требований терапевтической ситуации. Особенно предпочтительно составлять парентеральные композиции в стандартной лекарственной форме для простоты введения и единообразия дозировки. В рамках изобретения термин "стандартная лекарственная форма" относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве однократных доз для индивидуумов, подлежащих лечению; каждая единица содержит заранее определенное количество активного соединения, вычисленное для достижения желаемого терапевтического эффекта, вместе с необходимым фармацевтическим носителем. Характеристика стандартных лекарственных форм напрямую зависит от (а) уникальных характеристик молекулы антитела и конкретного терапевтического, профилактического или диагностического эффекта, которого хотят добиться, и (б) ограничений, присущих области экстремального составления молекулы антитела для лечения чувствительности у индивидуумов.

Неограничивающий пример диапазона терапевтически, профилактически или диагностически эффективного количества молекулы антитела представляет собой приблизительно 0,1-50 мг/кг массы тела индивидуума, например, приблизительно 0,1-30 мг/кг, например, приблизительно 1-30, 1-15, 1-10, 1-5, 5-10 или 1-3 мг/кг, например, приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40 или 50 мг/кг. Молекулу антитела можно вводить посредством внутривенной инфузии со скоростью менее 10 мг/мин, например, 5 мг/мин или менее, для достижения дозы приблизительно от 1 до 100 мг/м², например, приблизительно от 5 до 50 мг/м², приблизительно от 7 до 25 мг/м², например, приблизительно 10 мг/м². Следует отметить, что значения доз могут варьироваться в зависимости от типа и тяжести состояния, которое необходимо облегчить. Также следует понимать, что для любого конкретного индивидуума необходимо корректировать конкретные режимы дозирования с течением времени в соответствии с потребностями индивидуума и профессионального мнения специалиста, вводящего композиции или руководящего введением композиций, и что диапазоны доз, приведенные в настоящем описании, представляют собой исключительно примеры и не предназначены для ограничения объема или практического применения композиций по изобретению.

Фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, могут включать "терапевтически эффективное количество", "профилактически эффективное количество" или "диагностически эффективное количество" молекулы антитела, представленной в настоящем описании.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество молекулы антитела может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст, пол и масса тела индивидуума, и способности антитела или части антитела вызывать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также является количеством, при котором любой токсический или неблагоприятный эффект молекулы антитела перевешивается терапевтически благоприятными эффектами. "Терапевтически эффективная доза", как правило, ингибирует измеримый параметр по меньшей мере на приблизительно 20%, например, по меньшей мере на приблизительно 40%, по меньшей мере на приблизительно 60% или по меньшей мере на приблизительно 80% относительно индивидуумов, неподвергнутых лечению. Измеримым параметром может являться, например, гематурия, окрашивание мочи, пенящаяся моча, боль, отек кистей рук и стоп или высокое артериальное давление. Способность молекулы антитела ингибировать измеримый параметр можно оценивать в модельной системе на животных, прогностической в отношении эффективности лечения или профилактики миеломы. Альтернативно, это свойство композиции

можно оценивать посредством исследования способности молекулы антитела ингибировать CD138, например, посредством анализа *in vitro*.

Термин "профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, т.к. профилактическую дозу используют у индивидуумов до развития заболевания или на ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньше терапевтически эффективного количества.

Термин "диагностически эффективное количество" относится к количеству, эффективному в необходимых дозах и в течение необходимых периодов времени для достижения желаемого диагностического результата. Как правило, диагностически эффективное количество является количеством, при котором нарушение, например, нарушение, представленное в настоящем описании, например, миелому, можно диагностировать *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*.

Настоящее изобретение также относится к набору, содержащему молекулу антитела, представленную в настоящем описании. Набор может включать один или более других элементов, включая: инструкции по использованию; другие реагенты, например, метку, терапевтическое средство, или средство, которое можно использовать для хелатирования или иного соединения молекулы антитела с меткой или терапевтическим средством, или композицию радиопротектора; устройства или другие материалы для подготовки молекулы антитела к введению; фармацевтически приемлемые носители; и устройства или другие материалы для введения индивидууму.

Нуклеиновые кислоты.

Настоящее изобретение также относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие молекулы антител против CD138 (например, переменные области тяжелой и легкой цепи и CDR молекул антител), как представлено в настоящем описании.

Например, настоящее изобретение относится к первой и второй нуклеиновой кислоте, кодирующим переменные области тяжелой и легкой цепи, соответственно, молекулы антитела, выбранной из одной или более молекул антител, представленных в настоящем описании, например, молекулы антитела из табл. 2 или части молекулы антитела, например, переменных областей из табл. 2. Нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую любую из аминокислотных последовательностей из таблиц, приведенных в настоящем описании, или последовательность, по существу, идентичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей или отличающуюся на не более чем 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, представленных в таблицах, приведенных в настоящем описании).

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, представленную в таблицах, приведенных в настоящем описании, или последовательность, по существу, гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или содержащую одну или более замен, например, консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области легкой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, представленную в таблицах, приведенных в настоящем описании, или последовательность, по существу, гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или содержащую одну или более замен, например, консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR из переменных областей тяжелой и легкой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, представленную в таблицах, приведенных в настоящем описании, или последовательность, по существу, гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или содержащую одну или более замен, например, консервативных замен).

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области тяжелой цепи, имеющих нуклеотидную последовательность, приведенную в табл. 2, последовательность, по существу, гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях строгости, представленных в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области легкой цепи, имеющих нуклеотидную последовательность, приведенную в табл. 2, или последовательность, по существу, гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях строгости, представленных в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей

мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR из переменных областей тяжелой и легкой цепи, имеющих нуклеотидную последовательность, приведенную в табл. 2, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях строгости, представленных в настоящем описании).

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, приведенную в табл. 2, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях строгости, представленных в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота содержит часть нуклеотидной последовательности, приведенной в табл. 2, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей, и/или способную гибридизоваться в условиях строгости, представленных в настоящем описании). Часть может кодировать, например, переменную область (например, VH или VL); одну, две или три или более CDR; или одну, две, три или четыре или более каркасных областей.

Нуклеиновые кислоты, представленные в настоящем описании, включают дезоксирибонуклеотиды, или рибонуклеотиды, или их аналоги. Полинуклеотид может являться одноцепочечным или двухцепочечным, и, если он является одноцепочечным, то может являться кодирующей цепью или некодирующей (антисмысловой) цепью. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов может прерываться ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид можно дополнительно модифицировать после полимеризации, например, посредством конъюгации с компонентом-меткой. Нуклеиновая кислота может являться рекомбинантным полинуклеотидом или полинуклеотидом геномного, кДНК-, полусинтетического или синтетического происхождения, не встречающимся в природе или связанным с другим полинуклеотидом в неприродной конфигурации.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к клеткам-хозяевам и векторам, содержащим нуклеиновые кислоты, представленные в настоящем описании. Нуклеиновые кислоты могут находиться в одном векторе или отдельных векторах, находящихся в одной клетке-хозяине или отдельных клетках-хозяевах, как более подробно описано ниже.

Векторы.

Настоящее изобретение дополнительно относится к векторам, содержащим нуклеотидные последовательности, кодирующие молекулу антитела против CD138, представленную в настоящем описании.

В варианте осуществления вектор содержит нуклеотид, кодирующий молекулу антитела, представленную в настоящем описании, например, приведенную в табл. 1. В другом варианте осуществления вектор содержит нуклеотидную последовательность, представленную в настоящем описании, например, в табл. 2. Векторы включают, в качестве неограничивающих примеров, вирус, плазмиду, космиду, фаг лямбда или искусственную дрожжевую хромосому (YAC).

Можно использовать многочисленные векторные системы. Например, в одном из классов векторов используют элементы ДНК, полученные из вирусов животных, таких как, например, вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус полиомы, аденовирус, вирус осповакцины, бакуловир, ретровирусы (вирус саркомы Рауса, MMTV или MOMLV) или вирус SV40. В другом классе векторов используют элементы РНК, полученные из РНК-вирусов, таких как вирус леса Семлики, вирус восточного энцефалита лошадей и флавивирусы.

Кроме того, клетки, имеющие стабильно интегрированную ДНК в своих хромосомах, можно подвергать селекции посредством включения одного или более маркеров, делающих возможной селекцию трансфицированных клеток-хозяев. Маркер может обеспечивать, например, прототрофию аутокотрофному организму-хозяину, резистентность к биоцидам (например, антибиотикам) или резистентность к тяжелым металлам, таким как медь, или т.п. Ген селективного маркера можно напрямую связывать с последовательностями ДНК, подлежащими экспрессии, или встраивать в ту же клетку посредством ко-трансформации. Для оптимального синтеза мРНК также могут потребоваться дополнительные элементы. Эти элементы могут включать сигналы сплайсинга, а также транскрипционные промоторы, энхансеры и сигналы терминации.

После подготовки экспрессирующего вектора или последовательности ДНК, содержащей конструкции, к экспрессии, экспрессирующие векторы можно трансфицировать или встраивать в подходящую клетку-хозяина. Для достижения этого можно использовать различные способы, такие как, например, слияние протопластов, осаждение фосфатом кальция, электропорация, ретровирусная трансдукция, вирусная трансфекция, генная пушка, трансфекция с использованием липидов или другие общепринятые способы. В случае слияния протопластов клетки выращивают в средах и подвергают скринингу на соответствующую активность.

Специалистам в этой области известны способы и условия культивирования получаемых трансфицированных клеток и выделения продуцируемой молекулы антитела, и их можно варьировать или оптимизировать на основе настоящего описания в зависимости от конкретного используемого экспресси-

рующего вектора и клеток-хозяев млекопитающих.

Клетки.

Настоящее изобретение также относится к клеткам (например, клеткам-хозяевам), содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу антитела против CD138, представленную в настоящем описании. Например, клетки-хозяева могут содержать молекулу нуклеиновой кислоты, имеющую нуклеотидную последовательность, приведенную в табл. 2, последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях строгости, представленных в настоящем описании), или часть одной из указанных нуклеиновых кислот. Кроме того, клетки-хозяева могут содержать молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность из табл. 1, последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей), или часть одной из указанных последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева генетически конструируют так, чтобы они содержали нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулу антитела, представленную в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева генетически конструируют с использованием экспрессирующей кассеты. Фраза "экспрессирующая кассета" относится к нуклеотидным последовательностям, которые могут влиять на экспрессию гена в организмах-хозяевах, совместимых с такими последовательностями. Такие кассеты могут включать промотор, открытую рамку считывания с интронами или без них и сигнал терминации. Также можно использовать дополнительные факторы, необходимые или полезные для экспрессии, такие как, например, индуцибельный промотор.

Настоящее изобретение также относится к клеткам-хозяевам, содержащим векторы, представленные в настоящем описании.

В качестве неограничивающих примеров, клетка может являться эукариотической клеткой, бактериальной клеткой, клеткой насекомого или клеткой человека. Подходящие эукариотические клетки включают, в качестве неограничивающих примеров, клетки Vero, клетки HeLa, клетки COS, клетки CHO, клетки HEK293, клетки ВНК и клетки MDCKII. Подходящие клетки насекомых включают, в качестве неограничивающих примеров, клетки Sf9. В варианте осуществления клетка (например, клетка-хозяин) является выделенной клеткой.

Применение молекул антител.

Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, а также фармацевтические композиции, представленные в настоящем описании, обладают терапевтическим, профилактическим и/или диагностическим применением *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*.

В варианте осуществления молекула антитела вызывает осуществление (например, индуцирует или повышает) эффекторной функции в отношении клетки, экспрессирующей CD138. Например, молекулы антител можно вводить индивидууму, например, человеку, чтобы вызывать антителозависимую клеточную цитотоксичность в отношении пораженной клетки (например, злокачественной клетки или предзлокачественной клетки), с которой они связываются. В варианте осуществления молекула антитела вызывает комплементзависимую цитотоксичность активность в отношении клетки, экспрессирующей CD138. В варианте осуществления молекула антитела снижает (например, ингибирует, блокирует или нейтрализует) один или более видов биологической активности клетки, экспрессирующей CD138. В варианте осуществления молекула антитела ингибирует действие протеазы на мембраносвязанный CD138, например, для снижения шеддинга CD138. Например, эти молекулы антител можно вводить в клетки в культуре, *in vitro* или *ex vivo*, или индивидууму, например, человеку, например, *in vivo*, для снижения (например, ингибирования, блокирования или нейтрализации) одного или более видов биологической активности клетки.

Таким образом, в одном из аспектов настоящее изобретение относится к способу лечения, профилактики или диагностики нарушения, например, нарушения, представленного в настоящем описании (например, множественной миеломы), у индивидуума, включающему введение индивидууму молекулы антитела против CD138, представленной в настоящем описании, таким образом, что осуществляют лечение, профилактику или диагностику нарушения. Например, настоящее изобретение относится к способу, включающему приведение молекулы антитела, представленной в настоящем описании, в контакт с клетками в культуре, например, *in vitro* или *ex vivo*, или введение молекулы антитела, представленной в настоящем описании, индивидууму, например, *in vivo*, для лечения, профилактики или диагностики нарушения, например, нарушения, ассоциированного с CD138 (например, множественной миеломы).

В рамках изобретения термин "индивидуум" предназначен для включения человека и не являющегося человеком животных. В некоторых вариантах осуществления индивидуум является человеком, например, пациентом-человеком, имеющим нарушение, представленное в настоящем описании (например, множественную миелому), или имеющим риск развития нарушения, представленного в настоящем описании (например, множественной миеломы). Термин "не являющиеся человеком животные" включает млекопитающих, например, не являющихся человеком приматов, и не-млекопитающих. В некоторых

вариантах осуществления индивидуум является человеком. Способы и композиции, представленные в настоящем описании, подходят для лечения нарушения, представленного в настоящем описании (например, множественной миеломы), у пациентов-людей. Пациенты, имеющие нарушение, представленное в настоящем описании, включают, например, пациентов, у которых развилось нарушение, представленное в настоящем описании, но демонстрирующих (по меньшей мере временно) симптомы, пациентов, у которых наблюдают симптом нарушения, представленного в настоящем описании, и пациентов, имеющих нарушение, родственное или ассоциированное с нарушением, представленным в настоящем описании.

Способы лечения или профилактики нарушений.

Молекулы антител, представленные в настоящем описании, можно применять для лечения или профилактики нарушений, ассоциированных с CD138, или их симптомов.

Неограничивающие примеры нарушений или состояний, которые могут быть ассоциированы с CD138, включают злокачественные новообразования (например, гемобластозы (например, миелому, например, множественную миелому) или солидные опухоли) и предзлокачественные состояния (например, вялотекущую миелому или моноклональную гаммапатию неясного генеза (MGUS)). В варианте осуществления нарушения ассоциировано с аномальной экспрессией CD138. В варианте осуществления молекулу антитела используют для лечения индивидуума, имеющего нарушение, представленное в настоящем описании, или имеющего риск развития нарушения, представленного в настоящем описании. В варианте осуществления молекулу антитела используют для уменьшения прогрессирования нарушения, например, для уменьшения прогрессирования предзлокачественного состояния до злокачественного новообразования.

Молекулы антител, представленные в настоящем описании, как правило, вводят с частотой, с помощью которой поддерживают терапевтически эффективный уровень молекул антител в кровотоке пациента до выздоровления пациента. Например, молекулы антител можно вводить с частотой, с помощью которой достигают концентрации в сыворотке, достаточной для того, чтобы по меньшей мере приблизительно 1,2, 5, 10, 20, 30 или 40 молекул антител связывались с каждой молекулой CD138. В варианте осуществления молекулу антител вводят каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней, каждые 1, 2, 3, 4, 5 или 6 недель или каждые 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев.

Способы введения различных молекул антител известны в этой области и описаны ниже. Подходящие дозы используемых молекул антител будут зависеть от возраста и массы тела индивидуума и конкретного используемого лекарственного средства.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят индивидууму (например, человеку) внутривенно. В варианте осуществления молекулу антитела вводят индивидууму в дозе от 0,1 мг/кг до 50 мг/кг, например, от 0,2 мг/кг до 25 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 10 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 3 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 2,5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 2 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 1,5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 1 мг/кг, от 1 мг/кг до 1,5 мг/кг, от 1 мг/кг до 2 мг/кг, от 1 мг/кг до 2,5 мг/кг, от 1 мг/кг до 3 мг/кг, от 1 мг/кг до 2,5 мг/кг или от 1 мг/кг до 5 мг/кг. В варианте осуществления молекулу антитела вводят индивидууму в фиксированной дозе от 10 мг до 1000 мг, например, от 10 мг до 500 мг, от 10 мг до 250 мг, от 10 мг до 150 мг, от 10 мг до 100 мг, от 10 мг до 50 мг, от 250 мг до 500 мг, от 150 мг до 500 мг, от 100 мг до 500 мг, от 50 мг до 500 мг, от 25 мг до 250 мг, от 50 мг до 150 мг, от 50 мг до 100 мг, от 100 мг до 150 мг, от 100 мг до 200 мг или от 150 мг до 250 мг. В варианте осуществления молекулу антитела вводят раз в неделю, два раза в неделю, раз в две недели, раз в три недели, раз в четыре недели, раз в восемь недель, раз в месяц, раз в два месяца или раз в три месяца. В варианте осуществления молекулу антитела вводят в дозе от 0,5 мг/кг до 3 мг/кг или от 50 мг до 150 мг раз в неделю, два раза в неделю, раз в две недели или раз в четыре недели.

Молекулы антител можно использовать в отдельности или в виде конъюгатов со вторым средством, например, бактериальным средством, токсином или белком, например, второй молекулой антитела против CD138. Этот способ включает введение молекулы антитела в отдельности или в виде конъюгата со вторым средством индивидууму, нуждающемуся в таком лечении. Молекулы антител можно использовать для доставки различных терапевтических средств, например, токсина, или их смеси.

Злокачественное новообразование.

Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать для лечения или профилактики злокачественного новообразования или предзлокачественного состояния.

Экспрессия CD138 подвергается дисрегуляции во многих злокачественных новообразованиях, например, раке предстательной железы, раке молочной железы, раке поджелудочной железы, раке яичников, раке толстого кишечника, раке легких и миеломе (Kiviniemi et al. *APMIS*. 2004; 112(2): 89-97; Lendorf et al. *J Histochem Cytochem*. 2011; 59(6): 615-629; Juuti et al. *Oncology*. 2005; 68 (2-3): 97-106; Kusumoto et al. *Oncol Rep*. 2010; 23 (4): 917-25; Hashimoto et al. *BMC Cancer*. 2008; 8: 185; Joensuu et al. *Cancer Res*. 2002; 62(18):5210-5217; Seidel et al. *Blood*. 2000; 95(2):388-392). CD138 может модулировать несколько ключевых процессов образования опухоли, например, пролиферации злокачественных клеток, апоптоз и ангиогенез (Teng et al. *Matrix Biol*. 2012;31(1): 3-16).

Молекулярные и клинические профили CD138 в солидных опухолях и гемобластозах описаны, например, в Akl et al. *Oncotarget*. 2015;6(30): 28693-28715.

CD138 может влиять на образование опухоли посредством регуляции медиаторов выживания и пролиферации опухолевых клеток (например, онкогенов или факторов роста). Например, мыши *Sdc1*-/- защищены от индуцируемого *Wnt-1* образования опухоли молочной железы (Alexander et al. *Nat Genet.* 2000; 25(3): 329-32). Фактор роста гепатоцитов (HGF) связывается с CD138 на миеломных клетках (Derksen et al. *Blood.* 2002; 99(4):1405-1410). Взаимодействие HGF с CD138 потенцировало передачу сигнала *Met*, вносящую вклад в рост, выживание и распространение ряда злокачественных новообразований (Birchmeier et al. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003; 4(12): 915-925; Derksen et al. *Blood.* 2002; 99(4): 1405-1410). Экспрессия CD138 повышена в реактивной строме ткани карциномы молочной железы (Stanley et al. *Am J Clin Pathol.* 1999; 112(3): 377-383). MEF, экспрессирующие CD138, повышали рост линий клеток рака молочной железы в совместной культуре и стимулировали прогрессирование карциномы молочной железы *in vivo* (Maeda et al. *Cancer Res.* 2004; 64(2): 612-621).

CD138 может регулировать апоптоз опухолевых клеток. Нокдаун CD138 в миеломных клетках индуцировал прекращение роста и апоптоз (Khotskaya et al. *J Biol Chem.* 2009; 284 (38): 26085-26095). Рекомбинантные эктодомены CD138 индуцировали апоптоз клеток рака молочной железы MCF-7 и культивируемых клеток рака предстательной железы человека (Sun et al. *Cancer Res.* 2008; 68 (8): 2912-2919; Hu et al. *Neoplasia.* 2010; 12 (10): 826-836).

CD138 может связываться с проангиогенными факторами (например, FGF-2 и VEGF) и презентировать эти факторы соответствующим рецепторам на эндотелиальных клетках для инициации эндотелиальной инвазии и отпочковывания (Teng et al. *Matrix Biol.* 2012; 31(1): 3-16). Повышенную экспрессию CD138 в стромальных фибробластах наблюдали в некоторых карциномах, таких как карциномы молочной железы, желудка и щитовидной железы (Stanley et al. *Am J Clin Pathol.* 1999; 112(3): 377-383; Wiksten et al. *Int J Cancer.* 2001; 95(1): 1-6; Barbareschi et al. *Cancer.* 2003; 98(3): 474-483). В модели ксенотрансплантата клеток карциномы молочной железы человека и имплантации трансфицированных CD138 фибробластов мышам стромальная экспрессия CD138 была ассоциирована со значительно повышенной плотностью микрососудов и большей площадью сосудов (Maeda et al. *Oncogene.* 2006; 25(9): 1408-1412).

Неограничивающие примеры злокачественных новообразований, которые можно подвергать лечению или профилактике с помощью молекул антител, представленных в настоящем описании включают острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелолейкоз (AML), карциному коры надпочечников, саркому Капоши, СПИД-ассоциированную лимфому, первичную лимфому центральной нервной системы (ЦНС), рак анального канала, рак аппендикса, астроцитому, атипичную тератоидную/рабдоидную опухоль, базальноклеточную карциному, рак желчных протоков, рак мочевого пузыря, злокачественное новообразование костной ткани (например, саркому Юинга или остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому), опухоль головного мозга (например, астроцитомы, глиому ствола головного мозга, атипичную тератоидную/рабдоидную опухоль центральной нервной системы, эмбриональную опухоль центральной нервной системы, эмбрионально-клеточную опухоль центральной нервной системы, краунофарингиому или эпендимому), рак молочной железы, бронхиальную опухоль, лимфому Беркита, карциноидную опухоль (например, карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта), опухоль сердца, эмбриональную опухоль, эмбрионально-клеточную опухоль, лимфому, рак шейки матки, холангиокарциному, хордому, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CML), хроническую миелопролиферативную неоплазию, рак толстого кишечника, колоректальный рак, краунофарингиому, кожную Т-клеточную лимфому, протоковую карциному *in situ* (DCIS), рак эндометрия, эпендимому, рак пищевода, эстезионеробластому, саркому Юинга, внечерепную эмбрионально-клеточную опухоль, внегонадную эмбрионально-клеточную опухоль, злокачественное новообразование глаза (например, интраокулярную меланому или ретинобластому), рак фаллопиевых труб, фиброзную гистиоцитому костной ткани, остеосаркому, рак желчного пузыря, рак желудка, карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта, гастроинтестинальные стромальные опухоли (GIST), эмбрионально-клеточную опухоль (например, опухоль центральной нервной системы, внечерепную опухоль, внегонадную опухоль, рак яичников или рак яичек), гестационную трофобластическую болезнь, глиому, волосатоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, почечно-клеточный рак, лимфому Ходжкина, гипофарингеальный рак, интраокулярную меланому, инсулому, нейроэндокринную опухоль поджелудочной железы, саркому Капоши, рак почки (например, почечно-клеточный рак или опухоль Вильмса), гистиоцитоз из клеток Лангерганса (LCH), рак гортани, лейкоз (например, острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелолейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), хронический миелогенный лейкоз (CML) или волосатоклеточный лейкоз), рак губ и ротовой полости, рак печени, рак легких (например, немелкоклеточный рак легких (NSCLC) или мелкоклеточный рак легких), лимфому (например, СПИД-ассоциированную лимфому, лимфому Беркита, кожную Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому или первичную лимфому центральной нервной системы (ЦНС)), макроглобулинемию Вальденстрема, рак молочной железы у мужчин, злокачественную фиброзную гистиоцитому костной ткани и остеосаркому, меланому (например, интраокулярную меланому), карциному из клеток Меркеля, мезотелиому, метастазирующий плоскоклеточный рак шеи, срединную карциному, рак ротовой полости, синдром множественной эндокринной неоплазии, множественную миелому/неоплазию плазматических клеток, грибовидный микоз, миелодиспластический синдром, миелодиспластиче-

скую/миелопролиферативную неоплазию, хроническую миелопролиферативную неоплазию, рак носовой полости и придаточных пазух носа, рак носоглотки, нейробластому, рак ротовой полости, рак губ и ротовой полости, рак ротоглотки, остеосаркому и злокачественную фиброзную гистиоцитому костной ткани, рак яичников (например, эпителиальный рак яичников или эмбрионально-клеточную опухоль яичников), рак поджелудочной железы, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (инсуломы), папилломатоз, парагангиома, рак носовой полости и придаточных пазух носа, рак паразитовидной железы, рак полового члена, рак глотки, феохромоцитому, опухоль гипофиза, плевроролечную бластому, перитонеальный рак, рак предстательной железы, рак прямой кишки, ретинобластому, рабдомиосаркому, рак слюнных желез, саркому (например, саркому Юинга, саркому Капоши, остеосаркому, рабдомиосаркому, саркому мягких тканей или саркому матки), синдром Сезари, рак кожи (например, меланому, карциному из клеток Меркеля или немеланомный рак кожи), рак тонкого кишечника, плоскоклеточную карциному, рак яичек, рак горла, тимому и карциному тимуса, рак щитовидной железы, переходо-клеточный рак почечной лоханки и мочеточника, рак уретры, рак эндометрия, рак влагалища, рак женских наружных половых органов или их метастатический очаг.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является гемобластомом, например, миеломой, лимфомой или лейкозом. В варианте осуществления злокачественное новообразование является миеломой. В варианте осуществления злокачественное новообразование является множественной миеломой.

В другом варианте осуществления злокачественное новообразование является солидной опухолью. В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком шейки матки (например, плоскоклеточной карциномой шейки матки или эндоцервикальной аденокарциномой), раком матки (например, эндометриальной карциномой тела матки), злокачественным новообразованием головного мозга (например, глиобластомой), раком легких (например, плоскоклеточной карциномой легких) или раком молочной железы (например, инвазивной карциномой молочной железы).

В варианте осуществления злокачественное новообразование выбрано из рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака шейки матки, колоректального рака, рака эндометрия, рака желчного пузыря, рака желудка, глиомы, рака головы и шеи, рака гортани, рака печени, рака легких, мезотелиомы, рака носоглотки, рака ротовой полости, рака яичников, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы или рака щитовидной железы.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком мочевого пузыря. CD138 экспрессируется при раке мочевого пузыря (Kim & Park. *Hum Pathol.* 2014; 45: 1830-1838). В варианте осуществления рак мочевого пузыря является уротелиальной карциномой, плоскоклеточной карциномой или аденокарциномой. В варианте осуществления рак мочевого пузыря является неинвазивным, не-мышечно-инвазивным или мышечно-инвазивным. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака мочевого пузыря. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством (например, трансуретральной резекцией опухоли мочевого пузыря (TURBT) или цистэктомией), внутрипузырной терапией (например, внутрипузырной иммунотерапией (например, терапией бациллой Кальмета-Герена (BCG)) или внутрипузырной химиотерапией (например, митомицином, валрубицином, доцетакселом, тиотепа или гемцитабином)), химиотерапией (например, внутрипузырной химиотерапией или системной химиотерапией (например, цисплатином, фторурацилом (5-FU), митомицином, гемцитабином, метотрексатом, винбластином, доксорубицином, карбоплатином, паклитакселом, доцетакселом, ифосфамидом или пеметрекседом), лучевой терапией или иммунотерапией (например, внутрипузырной терапией BCG, ингибитором иммунных контрольных точек (например, ингибитором PD-L1 (например, атезолизумабом, дурвалумабом или авелумабом) или ингибитором PD-1 (например, ниволумабом или пембролизумабом)).

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком молочной железы. CD138 экспрессируется при раке молочной железы (Akl et al. *Oncotarget.* 2015;6(30): 28693-28715; Barbareschi et al. *Cancer.* 2003; 98: 474-483; Lim et al. *Singapore Med J.* 2014; 55: 468-472; Nguyen et al. *Am J Clin Pathol.* 2013; 140: 468-474; Lendorf et al. *J HistochemCytochem.* 2011; 59: 615-629; Gotte et al. *Breast Cancer Res.* 2007; 9(1): R8; Tsanou et al. *J Exp Clin Cancer Res.* 2004; 23(4): 641-650). В варианте осуществления рак молочной железы является протоковой карциномой (например, протоковой карциномой *in situ* (DCIS) или инвазивной протоковой карциномой (IDC) (например, тубулярной карциномой, медуллярной карциномой, коллоидной карциномой, папиллярной карциномой или криброзной карциномой), лобулярной карциномой (например, лобулярной карциномой *in situ* (LCIS) или инвазивной лобулярной карциномой (ILC)) или отечно-инфильтративным раком молочной железы. В варианте осуществления рак молочной железы является ER-положительным, PR-положительным, HER2-положительным или тройным негативным (ER-, PR- и HER2-). Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака мочевого пузыря. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством (например, органосохраняющими операциями на молочной железе или мастэктомией), лучевой терапией, химиотерапией (например, ан-

трациклином (например, доксорубицином, липосомальным доксорубицином, эпирубицином), таксаном (например, паклитакселом, альбумин-связанным паклитакселом (например, наб-паклитакселом) или доцетакселом), 5-фторурацилом (5-FU), циклофосфамидом, средством на основе платины (например, цисплатином или карбоплатином), винорелбином, капецитабином, гемцитабином, митоксантроном, иксабепилоном или эрибулином), гормональной терапией (например, тамоксифеном, торемифеном, фулвестрантом, ингибитором ароматазы (например, летрозолом, анастрозолом или экземестаном), овариальной абляцией (например, оофорэктомией, аналогом рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LHRH) или химиотерапевтическим лекарственным средством)), таргетированной терапией (например, трастузумабом, пертузумабом, адо-трастузумаб эмтанзином, лапатинибом, нератинибом, ингибитором CDK4/6 (например, палбоциклибом или рибоциклибом), ингибитором mTOR (например, эверолимусом) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком шейки матки. CD138 экспрессируется при раке шейки матки (Akl et al. *Oncotarget*. 2015;6(30):28693-28715). В варианте осуществления рак шейки матки является микроинвазивным раком шейки матки или инвазивным раком шейки матки. В варианте осуществления рак шейки матки является плоскоклеточной карциномой или аденокарциномой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака шейки матки. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством (например, криохирургией, лазерной хирургией, конизацией, простой гистерэктомией, радикальной гистерэктомией, трохелэктомией или экзентерацией органов малого таза), лучевой терапией, химиотерапией (например, цисплатином, карбоплатином, паклитакселом, топотеканом, гемцитабином, доцетакселом, ифосфамидом, 5-фторурацилом (5-FU), иринотеканом или митомицином), таргетированной терапией (например, ингибитором ангиогенеза (например, бевацизумабом)) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком эндометрия. CD138 экспрессируется при раке эндометрия (Hasengaowa et al. *Ann Oncol*. 2005; 16:1109-1115). В варианте осуществления рак эндометрия является эндометриодной карциномой, серозной карциномой, светлоклеточной карциномой, коллоидной карциномой, смешанной или недифференцированной карциномой, плоскоклеточной карциномой, переходноклеточной карциномой или стромальной саркомой эндометрия. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака эндометрия. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, гормональной терапией (например, прогестинном (например, ацетатом медроксипрогестерона) или мегестрол ацетатом), тамоксифеном, агонистом рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LHRH) (например, гозерелином или лейпролидом), ингибитором ароматазы (например, летрозолом, анастрозолом или экземестаном), химиотерапией (например, паклитакселом, карбоплатином, доксорубицином, липосомным доксорубицином или цисплатином) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком желчного пузыря. CD138 гиперэкспрессирован при раке желчного пузыря (Roh et al. *Eur Surg Res*. 2008; 41(2): 245-250). В варианте осуществления рак желчного пузыря является аденокарциномой или папиллярной аденокарциномой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака желчного пузыря. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (например, гемцитабином, цисплатином, 5-фторурацилом (5-FU), капецитабином или оксалиплатином) или паллиативной терапией (например, билиарным стентом, билиарным катетером, обходным анастомозом на желчных путях, инъекциями спирта, болеутоляющими средствами или их комбинацией).

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком желудка. Высокая стромальная экспрессия CD138 ассоциирована с раком желудка (Wiksten et al. *Int J Cancer*. 2001; 95(1): 1-6). В варианте осуществления рак желудка является аденокарциномой (ACA). Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака желудка. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, химиотерапией (например, 5-FU (фторурацилом), капецитабином, карбоплатином, цисплатином, доцетакселом, эпирубицином, иринотеканом, оксалиплатином или паклитакселом) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является злокачественным новообразованием головного мозга (например, глиомой). CD138 экспрессируется при глиоме (Xu et al. *Mol Biol Rep*. 2012;39(9): 8979-8985). В варианте осуществления глиома является астроцитомой, эпендимомой или олигодендроглиомой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения глиомы. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации

с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (например, карбоплатином, кармустином (BCNU), цисплатином, циклофосфамидом, этопозидом, иринотеканом, ломустинном (CCNU), метотрексатом, прокарбазином, темозоломидом или винкристином), таргетированной терапией (например, бевацизумабом или эверолимусом), кортикостероидом (например, дексаметазоном), противосудорожным лекарственным средством, гормоном или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком гортани. CD138 экспрессируется при раке гортани (Klatka et al. *Otolaryngol Pol.* 2004; 58: 933-940). В варианте осуществления рак гортани является плоскоклеточной карциномой или аденокарциномой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака гортани. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (например, цисплатином, карбоплатином, 5-фторурацилом (5-FU), доцетакселом, паклитакселом, блеомицином, метотрексатом или ифосфамидом), таргетированной терапией (например, ингибитором EGFR (например, цетуксимабом)) или их комбинацией. В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком печени. В варианте осуществления рак печени является печеночноклеточной карциномой (HCC), холангиокарциномой, ангиосаркомой или вторичным раком печени. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака печени. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, абляцией опухоли, эмболизацией опухоли, лучевой терапией, таргетированной терапией (например, сорафенибом или регорафенибом), химиотерапией (например, доксорубицином, 5-фторурацилом (5-FU) или цисплатином) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком легких. CD138 экспрессируется при раке легких (Anttonen et al. *Lung Cancer.* 2001; 32: 297-305). В варианте осуществления рак легких является немелкоклеточным раком легких (NSCLC) (например, аденокарциномой, плоскоклеточной карциномой, крупноклеточной карциномой или крупноклеточной нейроэндокринной опухолью) или мелкоклеточным раком легких (SCLC). Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака легких. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, радиочастотной абляцией (RFA), лучевой терапией, химиотерапией (цисплатином, карбоплатином, паклитакселом, альбумин-связанным паклитакселом (наб-паклитакселом), доцетакселом, гемцитабином, винорелбином, иринотеканом, этопозидом, винбластином или пеметрекседом), таргетированной терапией (ингибитором ангиогенеза (например, бевацизумабом или рамуцирумабом), ингибитором EGFR (например, эрлотинибом, афатинибом, gefитинибом, осимертинибом или нецитумумабом), ингибитором ALK (например, кризотинибом, церитинибом, алектинибом или бригаинибом), ингибитором BRAF (например, дабрафенибом или траметинибом), иммунотерапией (например, ингибитором PD-1 (например, ниволумабом или пембролизумабом) или ингибитором PD-L1 (например, атезолизумабом) или их комбинацией, например, для лечения немелкоклеточного рака легких. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (цисплатином, этопозидом, карбоплатином или иринотеканом) или их комбинацией, например, для лечения мелкоклеточного рака легких.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является мезотелиомой. CD138 экспрессируется при мезотелиоме (Kumar-singhet al. *J Pathol.* 1998; 186: 300-305). В варианте осуществления мезотелиома является эпителиоидной мезотелиомой, саркоматоидной мезотелиомой или бифазной мезотелиомой. В варианте осуществления мезотелиома является плевральной мезотелиомой, перитонеальной мезотелиомой или перикардиальной мезотелиомой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения мезотелиомы. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (например, пеметрекседом, цисплатином, карбоплатином, гемцитабином, метотрексатом, винорелбином, митомицином или доксорубицином) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком носоглотки. CD138 экспрессируется при раке носоглотки (Kim et al. *Head Neck.* 2011; 33: 1458-1466). В варианте осуществления рак носоглотки является ороговевающей плоскоклеточной карциномой, неороговевающей дифференцированной карциномой или недифференцированной карциномой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака носоглотки. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (например, карбоплатином, доксорубицином, эпирубицином, паклитакселом, доцетакселом, гемцитабином, блеомицином или метотрексатом), таргетированной терапией (например, цетуксимабом) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком носоглотки. CD138 экспрессируется при раке ротовой полости (Al-Otaibi et al. *J Oral Pathol Med.* 2013; 42:186-193). В варианте осуществления рак ротовой полости является плоскоклеточной карциномой, бородавчатой карциномой или карциномой малых слюнных желез. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака ротовой полости. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (например, цисплатином, карбоплатином, 5-фторурацилом (5-FU), паклитакселом, доцетакселом, метотрексатом, ифосфамидом или блеомицином), таргетированной терапией (например, цетуксимабом) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком яичников. CD138 экспрессируется при раке яичников (Kusumoto et al. *Oncol Rep.* 2010; 23: 917-925; Davies et al. *Clin Cancer Res.* 2004; 10:5178-5186). В варианте осуществления рак яичников является эпителиальным раком, эмбрионально-клеточной карциномой, стромальной карциномой или мелкоклеточной карциномой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рак яичников. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, химиотерапией (например, цисплатином, карбоплатином, паклитакселом, альбумин-связанным паклитакселом (наб-паклитакселом), доцетакселом, алтретамином, капецитабином, циклофосфамидом, этопозидом, гемцитабином, ифосфамидом, иринотеканом, липосомным доксорубицином, мелфаланом, пеметрекседом, топотеканом или винорелбином), гормональной терапией (например, агонистом рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LHRH) (например, гозерелином или лейпролидом), тамоксифеном или ингибитором ароматазы (например, летрозолом, анастрозолом или экземестаном), таргетированной терапией (например, ингибитором ангиогенеза (например, бевацизумабом), ингибитором PARP (например, олапарибом, рупапарибом или нирапарибом), лучевой терапией или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком поджелудочной железы. CD138 экспрессируется при раке поджелудочной железы (Juuti et al. *Oncology.* 2005; 68: 97-106). В варианте осуществления рак поджелудочной железы является экзокринной опухолью или эндокринной опухолью. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака поджелудочной железы. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, абляцией, эмболизацией, лучевой терапией или химиотерапией (гемцитабином, 5-фторурацилом (5-FU), иринотеканом, оксалиплатином, альбумин-связанным паклитакселом, капецитабином, цисплатином, паклитакселом, доцетакселом или липосомным иринотеканом).

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком предстательной железы. CD138 экспрессируется при раке предстательной железы (Ledezma et al. *Asian J Androl.* 2011; 13:476-480; Shariat et al. *BJU Int.* 2008; 101: 232-237; Kiviniemi et al. *Apmis.* 2004; 112: 89-97; Zellweger et al. *Prostate.* 2003; 55: 20-29). В варианте осуществления рак предстательной железы является аденокарциномой, переходно-клеточным (или уротелиальным) раком, плоскоклеточным раком или мелкоклеточным раком предстательной железы. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака предстательной железы. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, криотерапией, гормональной терапией (например, орхиэктомией, агонистом LHRH (например, лейпролидом, гозерелином, трипторелином или гистрелином), антагонистом LHRH (например, дегареликсом), ингибитором CYP17 (например, абиратероном), антиандрогенным средством (например, флутамидом, бикалутамидом, нилутамидом или энзалутамидом), эстрогеном или кетоконазолом), химиотерапией (например, доцетакселом, кабазитакселом, митоксантроном или эстрамустином), вакцинным лечением (например, сипулейцел-Т) или лечением костной ткани (например, бисфосфонатом (например, золедроновой кислотой), деносумабом, кортикостероидом (например, преднизолом или дексаметазоном), наружной лучевой терапией, радиофармацевтическим средством (например, стронцием-89, самарием-153 или радием-223) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком головы и шеи. CD138 экспрессируется при раке головы и шеи (Anttonen et al. *Br J Cancer.* 1999; 79: 558-564; Inki et al. *Br J Cancer.* 1994; 70: 319-323). В варианте осуществления рак головы и шеи является плоскоклеточной карциномой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака головы и шеи. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лучевой терапией, химиотерапией (например, метотрексатом, блеомицином или доцетакселом), таргетированной терапией (например, цетуксимабом), иммунотерапией (на-

пример, ингибитором PD-1 (например, ниволумабом или пембролизумабом)) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является раком щитовидной железы. CD138 экспрессируется при раке щитовидной железы (Oh & Park. *J Korean Med Sci.* 2006; 21:397-405). В варианте осуществления рак щитовидной железы является папиллярной карциномой, фолликулярной карциномой, карциномой из клеток Гюртле, медуллярной карциномой щитовидной железы или анапластической карциномой. Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака щитовидной железы. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с хирургическим вмешательством, лечением радиоактивным йодом, гормональной терапией щитовидной железы, лучевой терапией, химиотерапией, таргетированной терапией (например, ингибитором киназ (например, сорафенибом или ленватинибом) или их комбинацией).

В варианте осуществления злокачественное новообразование является хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL). CD138 экспрессируется при хроническом лимфоцитарном лейкозе (Jilani et al. *Int J Lab Hematol.* 2009; 31: 97-105). Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения рака щитовидной железы. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с химиотерапией (например, аналогом пурина (например, флударабином, пентостатином или кладрибином), алкилирующим средством (например, хлорамбуцилом, циклофосфамидом или бендамустином), кортикостероидом (например, преднизолоном, метилпреднизолоном или дексаметазоном), доксорубицином, метотрексатом, оксалиплатином, винкристином, этопозидом и цитарабином), антителом против CD20 (ритуксимабом, обинутузумабом или офатумумабом), антителом против CD52 (например, алемтузумабом), таргетированной терапией (например, ибрутинибом, идедалисибом или венетоклаксом), трансплантацией стволовых клеток (SCT) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является лимфомой (например, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомой (DLBCL)). CD138 экспрессируется при DLBCL (Oh & Park. *J Korean Med Sci.* 2006; 21: 397-405; Bodoor et al. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012; 13: 3037-3046). Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения DLBCL. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с химиотерапией (например, алкилирующим средством (например, циклофосфамидом, хлорамбуцилом, бендамустином или ифосфамидом), кортикостероидом (например, преднизолоном или дексаметазоном), лекарственным средством на основе платины (цисплатином, карбоплатином или оксалиплатином), аналогом пурина (например, флударабином, пентостатином или кладрибином), антиметаболитом (например, цитарабином, гемцитабином, метотрексатом или пралатрексатом), винкристином, доксорубицином, митоксантроном, этопозидом или блеомицином), иммунотерапией (например, антителом против CD20 (ритуксимабом, обинутузумабом или офатумумабом), антителом против CD52 (например, алемтузумабом), антителом против CD30 (например, брентуксимаб ведотином), интерфероном, иммуномодулирующим лекарственным средством (например, талидомидом или леналидомидом), таргетированной терапией (например, ингибитором протеасом (например, бортезомибом), ингибитором гистоновой деацетилазы (HDAC) (например, ромидепсином или белиностабом) или ингибитором киназ (например, ибрутинибом или идедалисибом)), лучевой терапией, трансплантацией стволовых клеток (SCT) или их комбинацией.

В варианте осуществления злокачественное новообразование является лимфомой Ходжкина. CD138 экспрессируется при лимфоме Ходжкина (Gharbaran et al. *J Hematol Oncol.* 2013; 6:62; Vassilakopoulos et al. *Anticancer Res.* 2005; 25: 4743-4746). Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать в отдельности или в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения лимфомы Ходжкина. В варианте осуществления молекулу антитела против CD138 используют в комбинации с химиотерапией (например, доксорубицином, блеомицином, винбластином, дакарбазином, этопозидом, циклофосфамидом, винкристином, прокарбазином, преднизолоном, мехлоретамином, винкристином или винбластином), лучевой терапией, иммунотерапией (например, антителом против CD30 (например, брентуксимаб ведотином)), трансплантацией стволовых клеток или их комбинацией.

В варианте осуществления молекулу антитела используют для лечения или профилактики предзлокачественного состояния. Термин "предзлокачественное состояние", также известное как потенциально предзлокачественное состояние, относится к состоянию нарушенной морфологии клеток, ассоциированной с повышенным риском развития злокачественного новообразования. Если оставить их без лечения, предзлокачественные состояния могут приводить к злокачественному новообразованию. В варианте осуществления предзлокачественный очаг представляет собой морфологически атипичную ткань, кажущуюся аномальной при микроскопическом исследовании, и в котором развитие злокачественного новообразования является более вероятным, чем в соответствующей кажущейся нормальной ткани. В варианте осуществления предзлокачественное состояние представляет собой вялотекущую миелому или бессимптомную миелому. В варианте осуществления предзлокачественное состояние представляет собой моноклональную гаммапатию неясного генеза (MGUS). Другие неограничивающие примеры предзлока-

чественных состояний включают актинический кератоз, пищевод Барретта, атрофический гастрит, протоковую карциному *in situ*, врожденный дискератоз, сидеропеническую дисфагию, красный плоский лишай, подслизистый фиброз полости рта, солнечный эластоз, дисплазию шейки матки, лейкоплакию и эритроплакию.

Множественная миелома.

Молекулу антитела, представленную в настоящем описании, можно использовать для лечения или профилактики множественной миеломы.

Множественная миелома, также известная как миелома плазматических клеток, является злокачественным новообразованием плазматических клеток, в норме отвечающих за продукцию антител (Raab et al. *Lancet*. 2009; 374(9686): 324-39).

Признаки или симптомы множественной миеломы включают, например, боль в костях, анемию (например, нормоцитарную и/или нормохромную анемию), почечную недостаточность (например, острую или хроническую почечную недостаточность), инфекцию (например, пневмонию или пиелонефрит), неврологический симптом (например, слабость, спутанность сознания, утомляемость, головную боль, нарушение зрения, ретинопатию, корешковую боль, потерю контроля над дефекацией или мочеиспусканием, синдром запястного канала или параплегию).

Факторы риска развития множественной миеломы включают, например, вялотекущую миелому (также известную как бессимптомная миелома), моноклональную гаммапатию неясного генеза (MGUS), ожирение или семейную предрасположенность. В варианте осуществления молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать для снижения (например, профилактики) прогрессирования вялотекущей миеломы или MGUS до множественной миеломы.

Диагностические критерии симптоматической миеломы, бессимптомной миеломы и MGUS описаны, например, в Kyle & Rajkumar *Leukemia*. 2009; 23(1): 3-9.

Диагностические критерии симптоматической миеломы (необходимо соответствие всем трем критериям) включают, например, клональные плазматические клетки >10% при биопсии костного мозга или (в любом количестве) при биопсии других тканей (плазмоцитомы), моноклональный белок (миеломный белок) в сыворотке или моче (за исключением случаев истинной несекреторной миеломы) и признаки ишемического поражения органов, по-видимому, связанное с нарушением плазматических клеток (связанное повреждение органов или тканей, сокращенно обозначаемое как "CRAB"): гиперкальциемию (кальций с поправкой на содержание альбумина >2,75 ммоль/л, >11 мг/дл), почечную недостаточность, приписываемую миеломе, анемию (гемоглобин <10 г/дл), очаги в костях (литические очаги или остеопороз с компрессионными переломами). Диагностические критерии бессимптомной/вялотекущей миеломой включают, например, М-белок в сыворотке >30 г/л (3 г/дл) и/или клональные плазматические клетки >10% при биопсии костного мозга и отсутствие связанного с миеломой повреждения органов или тканей. Диагностические критерии моноклональной гаммапатии неясного генеза (MGUS) включают, например, парапротеин в сыворотке <30 г/л (3 г/дл) и клональные плазматические клетки <10% при биопсии костного мозга и отсутствие связанного с миеломой повреждения органов или тканей или связанного В-клеточного лимфопролиферативного нарушения.

Родственные состояния включают, например, солитарную плазмоцитому, плазмноклеточную дискразию (например, AL-амилоидоз), периферическую невропатию, органомегалию, эндокринопатию, нарушение моноклональных плазматических клеток и изменения кожи.

Международная система стадирования (ISS) для миеломы описана, например, в Greipp et al. *J Clin Oncol*. 2005;23(15): 3412-20. Например, ISS включает следующее: стадия I: $\beta 2$ -микроглобулин ($\beta 2M$) <3,5 мг/л, альбумин $\geq 3,5$ г/дл; стадия II: $\beta 2M$ <3,5 мг/л и альбумин <3,5 г/дл; или $\beta 2M$ 3,5-5,5 мг/л независимо от сывороточного альбумина; стадия III: $\beta 2M \geq 5,5$ мг/л.

ISS можно использовать вместе с системой стадирования Дьюри-Сэлмона. Система стадирования Дьюри-Сэлмона описана, например, в Durie & Salmon *Cancer*. 1975; 36(3): 842-54. Например, система стадирования Дьюри-Сэлмона включают следующее: стадия I (все из Hb >10 г/дл, нормального кальция, исследования скелета: норма, или единственная плазмоцитома, или остеопороз, уровня парапротеина в сыворотке <5 г/дл в случае IgG, <3 г/дл в случае IgA, экскреции легкой цепи с мочой <4 г/24 ч.); стадия II (не соответствует критериям для стадий I и III); стадия III (один или более из Hb <8,5 г/дл, высокого кальция >12 мг/дл, исследования скелета: три или более литических очага в костной ткани, парапротеина в сыворотке >7 г/дл в случае IgG, >5 г/дл в случае IgA, экскреции легкой цепи с мочой >12 г/24 ч.). Стадии I, II и III системы стадирования Дьюри-Сэлмона можно разделять на А или В в зависимости от креатинина сыворотки: А: креатинин сыворотки <2 мг/дл (<177 мкмоль/л); В: креатинин сыворотки >2 мг/дл (>177 мкмоль/л).

Другие средства для лечения множественной миеломы, которые можно использовать в комбинации с молекулой антитела против CD138, представленной в настоящем описании, включают, например, ингибитор протеазы (например, бортезомиб (VELCADE®), карфилзомиб (KYPROLIS®) или иксазомиб (NINLARO®)), иммуномодулирующее средство (например, талидомид (THALOMID®), леналидомид (REVLIMID®) или помалидомид (POMALYST®)), химиотерапевтическое средство (например, мелфа-

лан, винкристин (ONCOVIN®), циклофосфамид, этопозид, доксорубин (ADRIAMYCIN®), липосомный доксорубин (DOXIL®) или бендамустин (TREANDA®), кортикостероид (например, преднизон или дексаметазон), ингибитор гистоновой деацетилазы (HDAC) (например, панобиностат (FARYDAK®), антитело против CD38 (например, даратумаб (DARZALEX®)), антитело против SLAMF7 (например, элотузумаб (EMPLICITI®)), интерферон или трансплантацию костного мозга (например, трансплантацию аутологичных стволовых клеток (ASCT) или трансплантацию аллогенных стволовых клеток), бисфосфонат (например, памидронат (AREDIA®) и золедроновую кислоту (ZOMETA®), лучевую терапию, хирургическое вмешательство, внутривенный иммуноглобулин (IVIG), лечение уменьшенного содержания форменных элементов крови (например, эритропоэтин (PROCRIT®) или дарбэпоэтин (ARANESP®)), плазмаферез или их комбинацию.

Неограничивающие примеры способов комбинированного лечения, которые можно использовать в комбинации с молекулой антитела против CD138, представленной в настоящем описании, для лечения множественной миеломы включают мелфалан и преднизон (MP), с талидомидом или бортезомибом или без них; винкристин, доксорубин (ADRIAMYCIN®) и дексаметазон (VAD); талидомид (или леналидомид) и дексаметазон; бортезомиб, доксорубин и дексаметазон; бортезомиб, дексаметазон и талидомид (или леналидомид); липосомный доксорубин, винкристин и дексаметазон; карфилзомиб, леналидомид и дексаметазон; дексаметазон, циклофосфамид, этопозид и цисплатин (DCEP); дексаметазон, талидомид, цисплатин, доксорубин, циклофосфамид, и этопозид (DT-PACE) с бортезомибом или без него; панобиностат, бортезомиб и дексаметазон; иксазомиб, леналидомид, и дексаметазон и элотузумаб, леналидомид и дексаметазон.

Способы комбинированного лечения.

Молекулы антител, представленные в настоящем описании, можно использовать в комбинации с другими терапевтическими средствами. Например, комбинированное лечение может включать молекулу антитела, составляемую совместно и/или вводимую совместно с одним или более дополнительными терапевтическими средствами, например, одним или более дополнительными терапевтическими средствами, представленными в настоящем описании. В других вариантах осуществления молекулы антител вводят в комбинации с другими способами терапии, например, другими способами терапии, представленными в настоящем описании. В таких способах комбинированного лечения, предпочтительно, можно использовать более низкие дозы вводимых терапевтических средств, таким образом, избегая возможной токсичности или осложнений, ассоциированных с различными способами монотерапии.

В рамках изобретения термин введение "в комбинации" означает, что два (или более) разных способа лечения используют в отношении индивидуума до или во время развития нарушения у индивидуума. В варианте осуществления два или более способа лечения используют профилактически, например, до развития или диагностики нарушения у индивидуума. В другом варианте осуществления два или более способа лечения используют после развития или диагностики нарушения у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления один из способов лечения все еще используют, когда начинают использование второго способа лечения, таким образом, что они перекрываются. Иногда в настоящем описании это обозначают как "одновременное" или "сопутствующее использование". В других вариантах осуществления использование одного из способов лечения заканчивают до начала использования другого способа лечения. В некоторых вариантах осуществления в любом случае лечение является более эффективным из-за комбинированного введения. Например, второй способ лечения является более эффективным, например, наблюдают равный эффект при меньшем эффекте второго способа лечения, или с помощью второго способа лечения уменьшают симптомы в большей степени, чем если бы второй способ лечения использовали в отсутствие первого способа лечения, или аналогичную ситуацию наблюдают в случае первого способа лечения. В некоторых вариантах осуществления использование является таким, что уменьшение симптома или другого параметра, связанного с нарушением, превышает уменьшение, которое могли бы наблюдать при использовании одного способа лечения в отсутствие другого. Эффект двух способов лечения может являться частично аддитивным, полностью аддитивным или превышающим аддитивный. Использование может являться таким, что эффект первого способа лечения все еще является детектируемым, когда используют второй способ лечения.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство является второй молекулой антитела, например, молекулой антитела, отличающейся от первой молекулы антитела. Неограничивающие примеры молекул антител, которые можно использовать в комбинации, включают любую комбинацию молекул антител, приведенных в табл. 1.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации со вторым терапевтическим средством или способом для лечения или профилактики миеломы, например, множественной миеломы.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с ингибитором протеазы. Примеры ингибиторов протеаз включают бортезомиб (VELCADE®), карфилзомиб (KYPROLIS®) и иксазомиб (NINLARO®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с иммуномодулирующим средством. Примеры иммуномодулирующих средств включают талидомид (THALOMID®), леналидомид

(REVLIMID®) и помалидомид (POMALYST®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с химиотерапевтическим средством. Примеры химиотерапевтических средств включают мелфалан, винкристин (ONCOVIN®), циклофосфамид, этопозид, доксорубин (ADRIAMYCIN®), липосомный доксорубин (DOXIL®) и бендамустин (TREANDA®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с кортикостероидом, например, преднизолоном и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с ингибитором гистоновой деацетилазы (HDAC), например, панобиностатом (FARYDAK®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с антителом против CD38, например, даратумумабом (DARZALEX®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с антителом против SLAMF7, например, элотузумабом (EMPLICITI®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с интерфероном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с трансплантацией костного мозга (например, трансплантацией аутологичных стволовых клеток (ASCT) или трансплантацией аллогенных стволовых клеток).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с бисфосфонатом, например, памидронатом (AREDIA®) или золедроновой кислотой (ZOMETA®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с лучевой терапией.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с хирургическим вмешательством.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с внутривенным иммуноглобулином (IVIG).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с лечением низкого содержания форменных элементов крови, например, эритропоэтином (PROCRIT®) или дарбэпоэтином (ARANESP®).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с плазмаферезом.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с мелфаланом и преднизолоном (MP) с талидомидом или бортезомибом или без них.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с винкристином, доксорубицином (ADRIAMYCIN®) и дексаметазоном (VAD).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с талидомидом (или леналидомидом) и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с бортезомибом, доксорубицином и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с бортезомибом, дексаметазоном и талидомидом (или леналидомидом).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с липосомным доксорубицином, винкристином и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с карфилзомибом, леналидомидом и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с дексаметазоном, циклофосфамидом, этопозидом и цисплатином (DCEP).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с дексаметазоном, талидомидом, цисплатином, доксорубицином, циклофосфамидом и этопозидом (DT-PACE) с бортезомибом или без него.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с панобиностатом, бортезомибом и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с иксазомибом, леналидомидом и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с элотузумабом, леналидомидом и дексаметазоном.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации со вторым средством, направленно воздействующим на путь CD138. Примеры средств, направленно воздействующих на путь CD138 включают средство, направленно воздействующее на внеклеточный домен CD138 (например, синстатин, BT-062-DM4 (индатуксимаб равтанзин), B-B4, конъюгированное с ¹³¹I, OC-46F2, или GLVGLIFAV (SEQ ID NO: 448)), средство, направленно воздействующее на подвергнутый шеддингу CD138 (например, NSC 405020, BB-94, PI-88, PG545, M402, SST00001 или пентраксин-3), и средство, направленно воздействующее на генетическую экспрессию CD138 (например, полностью транс-ретиноевую кислоту, нимесулид, золедроновую кислоту или иматиниб). Другие средства, направленно воздействующие на путь

CD138, описаны, например, в Akl et al. *Oncotarget*. 2015;6 (30): 28693-28715, содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с леналидомидом и/или дексаметазоном, например, для лечения множественной миеломы (например, рецидивирующей множественной миеломы).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с антагонистом FGFR2 (например, антителом против FGFR2, например, FPA144) для лечения солидной опухоли (например, солидной опухоли на поздней стадии).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с ингибитором $\alpha_v\beta_3$ (например, ADC против интегрина $\alpha_v\beta_3$, например, брентуксимаб вендотином), например, для лечения лимфомы Ходжкина (например, рецидивирующей или рефрактерной лимфомы Ходжкина).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с гепарином или ингибитором гепараназы (например, ронепарстатом (SST0001)), например, для лечения множественной миеломы (например, множественной миеломы на поздней стадии).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с ингибитором VEGFR (например, бевацизумабом или цедиранибом), например, для лечения злокачественного новообразования (например, злокачественного новообразования на поздней стадии).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с ингибитором пути передачи сигнала Wnt (например, ипафрицептом (OMP-54F28)), например, для лечения солидной опухоли.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с ингибитором FAK (например, дефактинином (VS-6063) или GSK2256098), например, для лечения солидной опухоли, например, рака легких (например, немелкоклеточного рака легких, например, с мутацией KRAS).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с гликозаминогликаном или ингибитором гепараназы (например, некупаранибом (M402)), необязательно, дополнительно в комбинации с химиотерапевтическим средством (например, наб-паклитакселом или гемцитабином), например, для лечения рака поджелудочной железы (например, метастазирующего рака поджелудочной железы).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с маннозным олигосахаридом или ингибитором FGF, гепараназы и/или VEGF (например, мупарфостатом (PI-88)), например, для лечения злокачественного новообразования (например, меланомы).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с химически модифицированным гепарансульфатом/ингибитором гепараназы (например, PG545), например, для лечения солидной опухоли (например, солидной опухоли на поздней стадии).

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с аминокислотой или ингибитором матричных металлопротеиназ (например, внутривезикулярным батимастатом (BB-94)), например, для лечения злокачественного плеврального выпота.

В варианте осуществления молекулу антитела вводят в комбинации с Т-клетками с химерным антигенным рецептором против CD138, например, для лечения множественной миеломы (например, рецидивирующей и/или рефрактерной множественной миеломы). Примеры терапевтических средств и способов, которые можно использовать в комбинации с молекулой антитела или композицией, представленными в настоящем описании, для лечения или профилактики других нарушений, также описаны в настоящем описании в разделе "Способы лечения или профилактики нарушений".

Способы диагностики.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к диагностическому способу детекции наличия CD138 *in vitro* (например, в биологическом образце, таком как биоптат или образец крови) или *in vivo* (например, при визуализации *in vivo* у индивидуума). Способ включает: (i) приведение образца в контакт с молекулой антитела против CD138, представленной в настоящем описании, или введение молекулы антитела индивидууму; (необязательно) (ii) приведение референсного образца, например, контрольного образца (например, контрольного биологического образца, такого как биоптат или образец крови) или контрольного индивидуума в контакт с молекулой антитела, представленной в настоящем описании; и (iii) детекцию образования комплекса между молекулой антитела и CD138 в образце или индивидууме или контрольным образце или индивидууме, где изменение, например, статистически значимое изменение, в образовании комплекса в образце или индивидууме относительно контрольного образца или индивидуума свидетельствует о наличии CD138 в образце. Молекулу антитела можно прямо или косвенно метить детектируемым веществом для облегчения детекции связанной или несвязанной молекулы антитела. Подходящие детектируемые вещества включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы и радиоактивные материалы, как описано выше и более подробно описано ниже.

Термин "образец", в том смысле, в котором он относится к образцам, используемым для детекции полипептида (например, CD138) или нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид, включает, в качестве неограничивающих примеров, клетки, лизаты клеток, белки или экстракты мембран клеток, физиологические жидкости, такие как кровь, или образцы ткани, такие как биоптаты.

Образование комплекса между молекулой антитела и CD138 можно определять посредством измерения или визуализации молекулы антитела, связанной с CD138, или несвязанной молекулы антитела. Можно использовать любые подходящие анализы для детекции, и общепринятые анализы для детекции включают твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммунологический анализ (RIA) или иммуногистохимию ткани. Альтернативно мечению молекулы антитела, наличие CD138 можно анализировать в образце посредством конкурентного иммунологического анализа с использованием стандартов, меченых детектируемым веществом, и немеченой молекулы антитела. В этом анализе комбинируют биологический образец, меченые стандарты и молекулу антитела и определяют количество меченого стандарта, связанного с немеченой связывающей молекулой. Количество CD138 в образце обратно пропорционально количеству меченого стандарта, связанного с молекулой антитела.

Молекулы антител против CD138, представленные в настоящем описании, можно использовать для диагностики нарушений, которые можно подвергать лечению или профилактике с помощью молекул антител против CD138, представленных в настоящем описании. Способы детекции или диагностики, представленные в настоящем описании, можно использовать в комбинации с другими способами, представленными в настоящем описании для лечения или профилактики нарушения, представленного в настоящем описании.

Настоящее описание также включает любые из следующих пронумерованных параграфов:

1. Молекула антитела против CD138, которая:
 - (i) связывается или, по существу, связывается, с CD138 во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену CD138; и
 - (ii) вызывает антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) в отношении клетки, экспрессирующей CD138.
2. Молекула антитела по п.1, где С-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.
3. Молекула антитела по п.1 или 2, где N-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену расположен в пределах 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.
4. Молекула антитела по любому из пп.1-3, связывающаяся с эпитопом на CD138, содержащим пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области.
5. Молекула антитела по любому из пп.1-4, где внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 210-250 или 220-245 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.
6. Молекула антитела по любому из пп.1-5, связывающаяся с Fc-рецептором (FcR) (например, одним или более из FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa или FcγRIIIb) на поверхности иммунной клетки (например, естественного киллера (NK), макрофага, моноцита или эозинофила).
7. Молекула антитела по любому из пп.1-5, где клетка, экспрессирующая CD138, является злокачественной клеткой или предзлокачественной клеткой.
8. Молекула антитела по п.7, где злокачественная или предзлокачественная клетка является миеломной клеткой.
9. Молекула антитела по любому из пп.1-8, несвязывающаяся или связывающаяся с низкой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.
10. Молекула антитела по любому из пп.1-9, не связывающаяся с эпитопом на CD138, содержащим пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.
11. Молекула антитела по любому из пп.1-8, связывающаяся или, по существу, связывающаяся с эпитопом на CD138, содержащим пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.
12. Молекула антитела по любому из пп.9-11, где С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.
13. Молекула антитела по любому из пп.9-12, где внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.
14. Молекула антитела по любому из пп.1-13, несвязывающаяся или связывающаяся с низкой аффинностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138, областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138, или и тем, и другим.
15. Молекула антитела по любому из пп.1-13, связывающаяся с IBD CD138, областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138, или и тем, и другим.

16. Молекула антитела по любому из пп.1-15, связывающаяся с CD138 с константой диссоциации (K_D) менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ.

17. Молекула антитела по любому из пп.1-16, где аффинность связывания молекулы антитела с мембраносвязанным CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200 или 500 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138.

18. Молекула антитела по любому из пп.1-17, связывающаяся с мембраносвязанным CD138 с K_D менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ.

19. Молекула антитела по любому из пп.1-18, связывающаяся с растворимым CD138 с K_D менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ или с K_D более приблизительно 100, 200, 300, 400 или 500 нМ.

20. Молекула антитела по любому из пп.1-19, преимущественно связывающаяся с мембраносвязанным CD138 по сравнению с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138; или связывающаяся со схожей аффинностью с мембраносвязанным CD138 и растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 является менее чем приблизительно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, или 100% более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138.

21. Молекула антитела по любому из пп.1-20, связывающаяся с C1q и вызывающая комплементзависимую цитотоксичность (CDC) в отношении клетки, экспрессирующей CD138.

22. Молекула антитела по любому из пп.1-21, снижающая (например, ингибирующая, блокирующая или нейтрализующая) один или более видов биологической активности клетки, экспрессирующей CD138 *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*.

23. Молекула антитела по любому из пп.1-22, опосредующая гомотипическую адгезию одной или более CD138-экспрессирующих клеток.

24. Молекула антитела по любому из пп.1-23, ингибирующая действие протеазы на мембраносвязанный CD138, например, для снижения шеддинга CD138.

25. Молекула антитела по любому из пп.1-24, снижающая (например, ингибирующая) пролиферацию злокачественной или предзлокачественной клетки, экспрессирующей CD138.

26. Молекула антитела по любому из пп.1-25, содержащая одну или более (например, две или три) CDR тяжелой цепи и/или одну или более (например, две или три) CDR легкой цепи моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании.

27. Молекула антитела по любому из пп.1-26, содержащая вариабельную область тяжелой цепи (VH) и/или вариабельную область легкой цепи (VL) моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании.

28. Молекула антитела по любому из пп.1-27, содержащая Fc-область.

29. Молекула антитела против CD138, связывающаяся или, по существу, связывающаяся с эпитопом на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену CD138.

30. Молекула антитела по п.29, где С-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

31. Молекула антитела по п.29 или 30, где N-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

32. Молекула антитела по любому из пп.29-31, где внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 176-250 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

33. Молекула антитела по любому из пп.29-32, несвязывающаяся или связывающаяся с низкой аффинностью с внеклеточной областью CD138, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.

34. Молекула антитела по любому из пп.29-33, где эпитоп не содержит пять или более (например, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35 или более) последовательных аминокислотных остатков во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену.

35. Молекула антитела по п.33 или 34, где С-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

36. Молекула антитела по любому из пп.33-35, где внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит аминокислоты 23-50, 51-95, 88-121 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

37. Молекула антитела по любому из пп.33-36, несвязывающаяся или связывающаяся с низкой аф-

финностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138, областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138, или и тем, и другим.

38. Молекула антитела по любому из пп.33-36, связывающаяся с IBD CD138, областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138, или и тем, и другим.

39. Молекула антитела против CD138, связывающаяся или, по существу, связывающаяся с эпителием на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену CD138, где эпитоп не состоит из аминокислотных остатков 107-111 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

40. Молекула антитела по п.39, где эпитоп не содержит аминокислоты 107-111 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

41. Молекула антитела по п.39 или 40, где C-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

42. Молекула антитела по любому из пп.39-41, где внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 88-121 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

43. Молекула антитела против CD138, связывающаяся или, по существу, связывающаяся с эпителием на CD138, содержащим четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену CD138; и четыре или более (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или более) последовательных аминокислотных остатка во внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену CD138.

44. Молекула антитела по п.43, где C-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

45. Молекула антитела по п.43 или 44, где N-конец внеклеточной области, проксимальной к трансмембранному домену, расположен в пределах 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или 5 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

46. Молекула антитела по любому из пп.43-45, где внеклеточная область, проксимальная к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 176-250 или аминокислот 210-250 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

47. Молекула антитела по любому из пп.43-46, где C-конец внеклеточной области, отдаленной по отношению к трансмембранному домену, расположен на расстоянии по меньшей мере 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200 аминокислот от N-конца трансмембранного домена.

48. Молекула антитела по любому из пп.43-47, где внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 23-50, 51-95, 88-121 или 111-150 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

49. Молекула антитела по любому из пп.43-48, где внеклеточная область, отдаленная по отношению к трансмембранному домену, содержит или состоит из аминокислот 88-121 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

50. Молекула антитела по любому из пп.43-49, несвязывающаяся или связывающаяся с низкой аффинностью с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138.

51. Молекула антитела по любому из пп.43-50, несвязывающаяся или связывающаяся с низкой аффинностью с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138.

52. Молекула антитела по п.51, где эпитоп не содержит аминокислоты 107-111 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

53. Молекула антитела по любому из пп.43-49, связывающаяся с IBD CD138.

54. Молекула антитела по любому из пп.43-50, связывающаяся с областью, являющейся N-концевой по отношению к IBD CD138.

55. Молекула антитела по п.54, где эпитоп содержит аминокислоты 107-111 любой из SEQ ID NO: 1-3 или 450.

56. Молекула антитела по любому из пп.29-55, связывающаяся с Fc-рецептором (FcR) (например, одним или более из FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa или FcγRIIIb) на поверхности иммунной клетки (например, естественного киллера (NK), макрофага, моноцита или эозинофила).

57. Молекула антитела по любому из пп.29-56, которая может вызывать ADCC в отношении клетки, экспрессирующей CD138.

58. Молекула антитела по п.57, где клетка, экспрессирующая CD138, является злокачественной клеткой или предзлокачественной клеткой.

59. Молекула антитела по п.58, где злокачественная или предзлокачественная клетка является миеломной клеткой.

60. Молекула антитела по любому из пп.29-59, связывающаяся с CD138 с константой диссоциации (K_D) менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ.

61. Молекула антитела по любому из пп.29-60, где аффинность связывания молекулы антитела с мембраносвязанным CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200 или 500 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138; или связывается со схожей аффинностью с мембраносвязанным CD138 и растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 является на менее чем приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138.

62. Молекула антитела по любому из пп.29-61, связывающаяся с мембраносвязанным CD138 с K_D менее чем приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ.

63. Молекула антитела по любому из пп.29-62, связывающаяся с растворимым CD138 с K_D менее приблизительно 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 8, 6, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 или 0,001 нМ, или приблизительно 10-0,001, 10-0,01, 5-0,01, 3-0,05 или 1-0,1 нМ, или более приблизительно 100, 200, 300, 400 или 500 нМ.

64. Молекула антитела по любому из пп.29-63, преимущественно связывающаяся с мембраносвязанным CD138 по сравнению с растворимым CD138, например, аффинность связывания с мембраносвязанным CD138 является по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более высокой, чем аффинность связывания с растворимым CD138.

65. Молекула антитела по любому из пп.29-63, связывающаяся с C1q и вызывающая комплементзависимую цитотоксичность (CDC) в отношении клетки, экспрессирующей CD138.

66. Молекула антитела по любому из пп.29-65, снижающая (например, ингибирующая, блокирующая или нейтрализующая) один или более видов биологической активности клетки, экспрессирующей CD138 *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*.

67. Молекула антитела по любому из пп.29-66, опосредующая гомотипическую адгезию одной или более CD138-экспрессирующих клеток.

68. Молекула антитела по любому из пп.29-67, ингибирующая действие протеазы на мембраносвязанный CD138, например, для снижения шеддинга CD138.

69. Молекула антитела по любому из пп.29-68, снижающая (например, ингибирующая) пролиферацию злокачественной или предзлокачественной клетки, экспрессирующей CD138.

70. Молекула антитела по любому из пп.29-69, содержащая одну или более (например, две или три) CDR тяжелой цепи и/или одну или более (например, две или три) CDR легкой цепи моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании.

71. Молекула антитела по любому из пп.29-70, содержащая переменную область тяжелой цепи (VH) и/или переменную область легкой цепи (VL) моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании.

72. Молекула антитела по любому из пп.29-71, содержащая Fc-область.

73. Молекула антитела против CD138, содержащая одну или обе из:

(a) переменной области тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит одну, две или все из следующего:

(i) HCDR1, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности HCDR1 моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании (например, любых из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409);

(ii) HCDR2, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности HCDR2 антитела против CD138; или

(iii) HCDR3, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности HCDR3 антитела против CD138; или

(b) переменной области легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из следующего:

(i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности LCDR1 антитела против CD138;

(ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2 или 3 аминокислотных остатка или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности LCDR2 антитела против CD138; или

ность, отличающуюся на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности VH антитела против CD138.

81. Молекула антитела по любому из пп.73-80, где VH содержит аминокислотную последовательность VH антитела против CD138.

82. Молекула антитела по любому из пп.73-81, где VL содержит аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности VL антитела против CD138.

83. Молекула антитела по любому из пп.73-82, где VL содержит аминокислотную последовательность VL антитела против CD138.

84. Молекула антитела по любому из пп.73-83, где:

(a) VH содержит аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности VH антитела против CD138; и

(b) VL содержит аминокислотную последовательность, отличающуюся на не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотных остатков или имеющую по меньшей мере 85, 90, 95, 99 или 100% гомологии по отношению к аминокислотной последовательности VH антитела против CD138.

85. Молекула антитела по любому из пп.73-84, где VH содержит аминокислотную последовательность VH антитела против CD138, и VL содержит аминокислотную последовательность VL антитела против CD138.

86. Молекула антитела по любому из пп.73-85, содержащая Fc-область.

87. Молекула антитела против CD138, содержащая:

(I) (a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит: (i) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность G-Y-N/S/T-F-S-S-Y (SEQ ID NO: 438); (ii) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность H-P-S-D-S-T (SEQ ID NO: 351); или (iii) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность F-V-Y; и (b) вариабельную область легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность R-S-S-K-S-L-L-Y-K-D-G-K-T-Y-L-N (SEQ ID NO: 352); (ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность V-V-S-T-R-A-S (SEQ ID NO: 353); или (iii) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность Q-Q-L-V-E-Y-P-Y-T (SEQ ID NO: 354); или

(II) (a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), где VH содержит: (i) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность S-Y-Y-M-H (SEQ ID NO: 380); (ii) HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность T-I-H-P-S-D-S-T-T-N-C/Y-N-Q-K-F-K-G (SEQ ID NO: 439); или (iii) HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность F-V-Y; и (b) вариабельную область легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3), где VL содержит одну, две или все из: (i) LCDR1, содержащей аминокислотную последовательность R-S-S-K-S-L-L-Y-K-D-G-K-T-Y-L-N (SEQ ID NO: 352); (ii) LCDR2, содержащей аминокислотную последовательность V-V-S-T-R-A-S (SEQ ID NO: 353); или (iii) LCDR3, содержащей аминокислотную последовательность Q-Q-L-V-E-Y-P-Y-T (SEQ ID NO: 354).

88. Молекула антитела по любому из пп.1-87, содержащая две VH и две VL.

89. Молекула антитела по любому из пп.1-88, являющаяся синтетической молекулой антитела или выделенной молекулой антитела.

90. Молекула антитела по любому из пп.1-89, являющаяся моновалентной молекулой антитела, мультивалентной (например, бивалентной, тривалентной или тетравалентной) молекулой антитела, моноспецифической молекулой или мультиспецифической (например, биспецифической, триспецифической или тетраспецифической) молекулой антитела.

91. Молекула антитела по любому из пп.1-90, являющаяся молекулой гуманизованного антитела.

92. Молекула антитела по любому из пп.1-91, содержащая одну или более каркасных областей, полученных из последовательности каркаса зародышевой линии человека.

93. Молекула антитела по любому из пп.1-92, являющаяся антителом IgG.

94. Молекула антитела по любому из пп.1-93, содержащая константную область тяжелой цепи IgG, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

95. Молекула антитела по любому из пп.1-94, содержащая константную область легкой цепи каппа или ламбда.

96. Молекула антитела по любому из пп.1-95, содержащая Fc-область, содержащую одну или более мутаций для повышения аффинности связывания с неонатальным рецептором FcRn и/или времени полужизни молекулы антитела.

97. Молекула антитела по любому из пп.1-96, содержащая Fc-область, содержащую одну или более мутаций, представленных в настоящем описании, например, для повышения одного или более из времени полужизни, ADCC, CDC или ADCP.

98. Молекула антитела, конкурирующая за связывание с CD138 с молекулой антитела против CD138, представленной в настоящем описании, например, моноклональным антителом против CD138, представленным в настоящем описании (например, любым из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409).

99. Молекула антитела, связывающаяся или, по существу, связывающаяся с эпитопом, полностью или частично перекрывающимся с эпитопом молекулы антитела против CD138, представленной в настоящем описании, например, моноклонального антитела против CD138, представленного в настоящем описании (например, любого из антител CD001, CD002, CD003, CD004, CD005, CD006, 602, 603, 604, 607, 613, 614, 617, 624, 632, 616, 619, 623, 1610, 2510, 2610, 2710, 2810, 2910 или 1409).

100. Конъюгат молекула антитела-лекарственное средство (ADC), содержащий молекулу антитела по любому из пп.1-99, необязательно, содержащий цитотоксическое средство, дополнительно, необязательно, содержащий линкер.

101. Композиция, содержащая молекулу антитела по любому из пп.1-99 или ADC по п.100, необязательно, где композиция является фармацевтической композицией.

102. Композиция по п.101, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель.

103. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи (VH), вариабельную область легкой цепи (VL) или и ту, и другую, из молекулы антитела по любому из пп.1-99.

104. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п.103.

105. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п.103 или вектор по п.104, необязательно, где клетка является выделенной клеткой.

106. Набор, содержащий молекулу антитела по любому из пп.1-99, ADC по п.100 или композицию по п.101 или 102 и инструкции по использованию молекулы антитела или композиции.

107. Контейнер, содержащий молекулу антитела по любому из пп.1-99, ADC по п.100 или композицию по п.101 или 102.

108. Способ получения молекулы антитела против CD138, включающий культивирование клетки по п.105 в условиях, делающих возможной продукцию молекулы антитела, и, таким образом, получение молекулы антитела.

109. Способ по п.108, дополнительно включающий выделение или очистку молекулы антитела.

110. Молекула антитела по любому из пп.1-99, ADC по п.100 или композиция по п.101 или 102 для применения в способе лечения злокачественного новообразования у индивидуума.

111. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по п.110, где злокачественное новообразование является гемобластомом.

112. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по п.110 или 111, где злокачественное новообразование является множественной миеломой.

113. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по п.110, где злокачественное новообразование является солидной опухолью, например, солидной опухолью, представленной в настоящем описании.

114. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по любому из пп.110-113, где молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму внутривенно.

115. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по любому из пп.110-114, где молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму в дозе от 0,1 мг/кг до 50 мг/кг, от 0,2 мг/кг до 25 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 10 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 3 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 2,5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 2 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 1,5 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 1 мг/кг, от 1 мг/кг до 1,5 мг/кг, от 1 мг/кг до 2 мг/кг, от 1 мг/кг до 2,5 мг/кг, от 1 мг/кг до 3 мг/кг, от 1 мг/кг до 2,5 мг/кг или от 1 мг/кг до 5 мг/кг.

116. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по любому из пп.110-115, где молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму в фиксированной дозе от 10 мг до 1000 мг, от 10 мг до 500 мг, от 10 мг до 250 мг, от 10 мг до 150 мг, от 10 мг до 100 мг, от 10 мг до 50 мг, от 250 мг до 500 мг, от 150 мг до 500 мг, от 100 мг до 500 мг, от 50 мг до 500 мг, от 25 мг до 250 мг, от 50 мг до 150 мг, от 50 мг до 100 мг, от 100 мг до 150 мг, от 100 мг до 200 мг или от 150 мг до 250 мг.

117. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по любому из пп.110-116, где молекулу антитела, ADC или композицию вводят раз в неделю, два раза в неделю, раз в две недели, раз в три недели или раз в четыре недели.

118. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по любому из пп.110-117, дополнительно включающего определение уровня CD138 в образце от индивидуума.

119. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по любому из пп.110-118, дополни-

тельно включающего введение индивидууму второго терапевтического средства против злокачественного новообразования.

120. Молекула антитела по любому из пп.1-99, ADC по п.100 или композиция по п.101 или 102 для применения в способе лечения предзлокачественного состояния или профилактики злокачественного новообразования.

121. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по п.120, где предзлокачественное состояние является вялотекущей миеломой или моноклональной гаммапатией неясного генеза (MGUS).

122. Молекула антитела, ADC или композиция для применения по п.120, где злокачественное новообразование является множественной миеломой.

123. Способ вызывания ADCC, включающий приведение клетки или индивидуума в контакт с молекулой антитела по любому из пп.1-99, ADC по п.100 или композицией по п.101 или 102 и, таким образом, вызывание ADCC.

124. Способ лечения злокачественного новообразования, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества молекулы антитела по любому из пп.1-99, ADC по п.100 или композиции по п.101 или 102 и, таким образом, лечение злокачественного новообразования.

125. Способ лечения предзлокачественного состояния или профилактики злокачественного новообразования, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества молекулы антитела по любому из пп.1-99, ADC по п.100 или композиции по п.101 или 102, и, таким образом, лечение предзлокачественного состояния или профилактику злокачественного новообразования.

126. Способ детекции молекулы CD138, включающий приведение клетки или индивидуума в контакт с молекулой антитела по любому из пп.1-99, и, таким образом, детекцию молекулы CD138.

127. Способ по п.126, где молекулу антитела соединяют с детектируемой меткой.

128. Способ по п.126 или 127, где CD138 молекулу определяют *in vitro*, *ex vivo* или *in vivo*.

Примеры

Пример 1. Иммунизация мышей.

Самок мышей CD-1 IGS (аутбредных) (Charles River Laboratories) (массой 20-25 г) возрастом 5-6 недель иммунизировали внутривенно (*i.v.*) с помощью 50 мкг плазмиды, кодирующей вектор для CD138 человека (pCDNA3.1-hCD138), в день 0, 14 и 28. Вторую группу мышей иммунизировали интраперитонеально с помощью rCD138 (Sino Biological, Inc.) + адъювант Sigma (1:1) или пептид 6+адъювант Sigma (1:1) в день 0 и повторно иммунизировали тем же образом в день 14 и день 30. После 3 раундов иммунизации ДНК или белком/пептидом в сыворотке определяли титры антител против CD138 посредством непрямого ELISA с использованием рекомбинантного CD138 (R&D Systems). Титр пептид-6-связывающего антитела также оценивали посредством ELISA с использованием пептида-6. В кратком изложении, 200 нг rCD138 или пептида-6 в PBS покрывали 96-луночные плоскодонные планшеты Maxisorp (NUNC # 439454) в течение ночи при 4°C. Покрытые планшеты блокировали 1-кратным блокирующим буфером, содержащим 5% BLOTTO™ в PBS и 0,05% Tween-20 (PBST) в течение 1 часа при комнатной температуре. Все последующие стадии инкубации осуществляли попеременно со стадией 3-кратной промывки в PBST. титры антитела против CD138 (или против пептида-6) определяли в кратных разведениях сывороток мышей (в PBS), начиная с разведения, 1:50, с последующей инкубацией 1:5000-1:10000 HRP-конъюгированного вторичного антитела козы против IgG мыши (Jackson ImmunoResearch Laboratories) в течение 1 часа при комнатной температуре. Реактивность иммуноглобулина против CD138 (или против пептида-6) визуализировали с использованием 100 мкл/лунку свежеполученного субстрата TMB (KPL). Колориметрическую реакцию проводили в течение до 10 мин при комнатной температуре перед гашением ферментативной реакции добавлением 100 мкл 1 N серной кислоты и количественным анализом поглощения при 450 нм. Мышей с сильными сероположительными титрами против первичного иммуногена (CD138 человека) повторно иммунизировали 5-10 мкг rCD138 или пептида-6 посредством инъекции в хвостовую вену за три дня до умерщвления, удаления селезенки и выделения слитых спленоцитов. Некоторых выбранных мышей подвергали двум дополнительным интраперитонеальным (*i.p.*) иммунизациям пептидом-6, смешанным с адъювантом Sigma, перед повторной иммунизацией пептидом-6 через хвостовую вену. Регистрировали мышей с предпочтительной видовой перекрестной реактивностью по результатам профилирования сыворотки.

Пример 2. Разработка гибридом.

Плазмоцитомы P3X63Ag8.653 (ATCC #CRL-1580), в настоящем описании обозначаемые как клетки P3X, использовали в качестве миеломных партнеров по слиянию. Полученные из селезенки клоны В-клеток иммортализовали описанными в литературе способами с модификацией. В кратком изложении, клетки P3X культивировали по меньшей мере 1 неделю перед использованием и поддерживали в фазе логарифмического роста для достижения плотности клеток-мишеней от 6×10^5 до $1,2 \times 10^6$ клеток/мл и 95% жизнеспособности за день до последующего слияния со спленоцитами. Клетки селезенки выделяли из 2-3 мышей на группу иммунизации после умерщвления и пункции сердца и собирали в DMEM+1% антибиотика (пенициллина/стрептомицина) с последующей осторожной промывкой и центрифугированием (2 раза) для осаждения тканевого детрита и очистки суспендированных спленоцитов. Затем спленоци-

ты осаждали посредством центрифугирования в течение 10 мин при $400 \times g$ и $4^\circ C$ и лизировали эритроциты при комнатной температуре в течение 5 мин после осторожного ресуспендирования клеточного осадка в 1-кратном буфере для лизиса эритроцитов. Спленоциты собирали посредством центрифугирования (2 раза) после разведения ледяной DMEM. Клетки P3X также 3 раза промывали DMEM перед слиянием.

Спленоциты мыши подвергали слиянию с клетками P3X в среде для слияния (50% PEG 1450, Sigma Aldrich) в соотношении 3:1 общепринятыми способами. В кратком изложении, предварительно нагретый PEG постепенно добавляли к осажденной смеси спленоцитов и клеток P3X ($37^\circ C$, с осторожным ресуспендированием) с последующим постепенным добавлением предварительно нагретой DMEM. Слитые клетки собирали посредством центрифугирования на низкой скорости в селективных средах для гибридом (гипоксантин-аминоптерин-тимидин, Sigma Aldrich) с последующей инкубацией при $37^\circ C$ в течение 30 мин. Слитые клетки высевали на 96-луночный планшет при плотности приблизительно $2,0 \times 10^6$ клеток селезенки на планшет (20000 клеток на лунку). Супернатанты гибридом подвергали скринингу на связывание CD138 посредством ELISA в день 10-14 после слияния, как описано. В кратком изложении, супернатанты кондиционированных сред подвергали количественному анализу на общий IgG посредством интерферометрии биослоя с использованием набора АМС для количественного анализа антител против IgG мыши (Pall Biosciences). Супернатанты кондиционированных сред для гибридом нормализовали по 10 мкг/мл, по возможности, и анализировали на связывание с CD138 или пептидом-6 посредством ELISA. Положительные гибридомы выбирали для масштабирования культуры, очистки антител и дальнейшей характеристики, как описано.

Положительные по CD138 и пептиду-6 гибридомы подвергали скринингу на активность блокирования рецептора посредством ELISA. В кратком изложении, рекомбинантным CD138 (10 мкг/мл) или пептидом-6 (20 мкг/мл) в 1-кратном PBS (pH 7,4) покрывали 96-луночные плоскодонные планшеты Maxisorp в течение ночи при $4^\circ C$. Планшеты промывали PBS+0,05% Tween20 (PBST) и блокировали 5% BLOTTO™. Сыворотки мышей или антитела против CD138 разводили PBST и инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре. Несвязанное антитело/сыворотки вымывали после инкубации посредством 3-кратной промывки PBST. Количественное определение антитела против CD138 или пептида-6 осуществляли с помощью HRP-конъюгированного вторичного антитела козы против мыши (Sigma Aldrich), используемого в разведении 1:5000, с последней колориметрической реакцией с использованием 100 мкл/лунку свежеполученного субстрата TMB (KPL), проводимой в течение до 30 мин при комнатной температуре перед гашением ферментативной реакции добавлением 1 N серной кислоты. Сигнал ELISA количественно анализировали по поглощению при 450 нм. Данные ELISA анализировали с помощью нелинейной регрессии. Значения IC_{50} вычисляли с учетом 4-параметрической аппроксимации кривых титрования антител.

Пример 3. Определение и молекулярное клонирование последовательностей иммуноглобулинов против CD138.

Последовательности генов VH и VL антител мыши, полученные при скрининге гибридом, исходно определяли посредством ПЦР с обратной транскрипцией РНК В-клеток с использованием совокупности заранее определенного набора специфических в отношении последовательности Ig мыши праймеров с разной вырожденностью. Дизайн 5'-праймеров для секвенирования VH основан на всестороннем анализе баз данных иммуноглобулинов мышей с соответствующим выравниванием по варибельным лидерным последовательностям. По результатам этого анализа лидерные последовательности VH кластеризовали (или подвергали биннингу на основе родственности последовательностей и представлению "семейств" зародышевой линии); получали уникальный набор праймеров, для каждого из которых было предсказано, что он будет отжигаться более специфически на этих подвергнутых биннингу семействах последовательностей VH, и использовали их в виде смеси в реакции RT-ПЦР. 3'-праймеры получали таким образом, чтобы они отжигались в константной области тяжелой цепи и соответствовали уникальным последовательностям в CH1, определяющим четыре известные константные области IgG мыши (IgG1, IgG2a, IgG2b и IgG3). Последовательности VH IgM амплифицировали, как описано выше, но с использованием 3'-праймера для изотипа IgM. Аналогично, для амплификации соответствующих последовательностей VL из РНК гибридом мышей использовали так называемый подход RT-ПЦР с "объединенными праймерами". Аналогично осуществляли системный поиск всех известных лидерных последовательностей VL мыши. Т.к. легкие цепи каппа и лямбда не имеют общих последовательностей константной области и варибельной области, получали отдельные наборы праймеров (каппа- и лямбда-специфических). 3'-праймеры получали с учетом изотип-специфической последовательности константной области легкой цепи (каппа и лямбда) аналогично описанному выше для последовательностей тяжелой цепи.

RT-ПЦР-амплификацию последовательностей генов гибридом из РНК В-клеток осуществляли общеизвестными способами. В кратком изложении, РНК выделяли из $0,5-2 \times 10^6$ клеток с использованием набора RNeasy (Life Technologies) по инструкциям производителя. Лизис клеток облегчали с использованием QIAshredder или родственного способа для начального выделения нуклеиновых кислот. Очищенную РНК количественно анализировали по поглощению УФ. Синтез кДНК и последующую ПНР-амплификацию (с использованием полимеразы Platinum Taq и смесей праймеров, описанных выше) осу-

ществляли в тандеме с использованием набора Superscript III One Step RT-PCR (Life Technologies). Ампликоны ПНР очищали с использованием набора QIAquick PCR Clean up (Life Technologies) и количественно анализировали по поглощению УФ при 260 и 280 нм с использованием спектрофотометра NanoDrop. Продукты ПНР также анализировали посредством электрофореза в агарозном геле для подтверждения прогнозируемого размера и выделяли из геля, по мере необходимости. Последовательности генов VH и VL определяли посредством прямого секвенирования продуктов ПЦР с использованием гнездовых праймеров. После получения неопределенных данных о последовательностях осуществляли повторную амплификацию клеточной РНК посредством RT-ПЦР, как описано выше, но с модификацией способа и с использованием подгруппы меньших наборов объединенных праймеров; при необходимости, продукты ПЦР клонировали посредством клонирования TA в промежуточный вектор и трансформировали с их помощью химически компетентные клетки TOP10 (Life Technologies) или DH5a (New England Biolabs) по инструкциям производителя.

Данные о последовательностях ДНК анализировали с использованием общедоступных баз данных (например, International Immunogenetics Information system (IMGT), VBase или NCBI Ig-Blast) для оценки использования в зародышевой линии, идентификации последовательностей CDR и приписывания предполагаемого изотипа, по возможности. gBlocks на основе идентифицированных последовательностей VH и VL упорядочивали (IDT ДНК) и субклонировали в векторы pcDNA3.1, содержащие лидерную последовательность остеонектина и константные области тяжелой цепи или легкой цепи IgG1k человека.

Пример 4. Очистка антител против CD138.

CD138-положительные клоны гибридом культивировали в последовательно увеличивающемся масштабе от 96-луночных планшетов до 24-луночных планшетов, а затем во флаконах T150 (объем культуры 20 мл). Перед очисткой клетки переносили из селективных сред HAT в заранее определенные среды с низким Ig. Супернатанты собирали через 3-5 дней после переноса сред и очищали посредством центрифугирования с последующей стерильной фильтрацией через мембраны PES 0,22 мкм (Corning). Титры IgG подтверждали посредством интерферометрии биослоя, как описано. Супернатанты разводили 1:1 2-кратным протеин G-связывающим буфером (1 М глицин, 2 М NaCl, pH 9,0). Антитела очищали посредством аффинной хроматографии с протеином G с использованием колонок 1 мл с протеином G HiTrap (GE Health Care) при скорости потока 1 мл/мин по инструкциям производителя. IgG элюировали из колонки с протеином G, снижая pH с использованием 0,1 М глицинового буфера, pH 2,8, с последующей немедленной нейтрализацией с использованием 2 М TRIS, pH 8,5. Очищенные антитела пересоставляли посредством диализа в 1-кратном PBS, pH 7,4, с последующим концентрированием посредством ультрафильтрации с использованием фильтрационного модуля Ultra-30 AMICON 30kD MWCO. Конечную концентрацию антитела определяли спектрофотометрически с помощью NanoDrop с использованием общего коэффициента экстинкции для антител мыши (IgG1). Чистоту и целостность антител подтверждали посредством электрофореза в ПААГ в присутствии SDS в восстановительных и невосстановительных условиях.

Пример 5. Рекомбинантная экспрессия и очистка антител.

Совместную экспрессию векторов тяжелой и легкой цепи осуществляли посредством транзитной трансфекции в клетки Expi293 с использованием набора для трансфекции Expi293 (Thermo Fisher кат. № A14524) по инструкциям производителя. Векторы тяжелой и легкой цепи совместно трансфицировали в соотношении 1:2. Супернатант собирали через 5-7 дней после трансфекции для очистки с использованием протеина А. Титр антител количественно анализировали посредством интерферометрии биослоя с использованием биосенсоров с иммобилизованным протеином А (Pall Biosensors). Рекомбинантные антитела очищали от супернатанта культуры после очистки посредством центрифугирования на низкой скорости и стерильной фильтрации через мембраны PES 0,22 мкм. Антитела очищали от супернатанта культуры клеток с использованием колонок 1 мл, заполненных смолой mAb Select Sure с протеином А (GE кат. № 17543801) с использованием устройства для очистки АКТА системы 10 FPLC. В кратком изложении, подвергнутый стерильной фильтрации супернатант культуры клеток нагружали на колонки при скорости потока 2 мл/мин. Колонки промывали 10 объемами колонки PBSN (1-кратного PBS с 0,05% азида натрия). Антитела элюировали 10 объемами колонки элюирующего буфера (100 мМ глицин, pH 2,5), нейтрализовали добавлением 17,5% об./об. нейтрализующего буфера (1 М Трис, 1 М NaCl, pH 8,0) и собирали во фракции 1 мл. Хроматограмму для поглощения при 280 нм использовали для идентификации элюируемых фракций, содержащих антитело. Затем все антитела подвергали диализу 1-кратным PBS с использованием кассеты с отсечкой по молекулярной массе 10000 Да (Thermo Fisher кат. № 66380).

Пример 6. Характеризация антител против CD138.

Связывание антител против CD138 с CD138 тестировали посредством проточной цитометрии. Линии клеток множественной миеломы RPMI 8226 (ATCC) и U266 (ATCC) выращивали в RPMI1640 с 10% FBS. В день эксперимента $0,25 \times 10^6$ клеток промывали буфером для FACS (PBS+0,5% BSA) и инкубировали с серией разведений антител против CD138 (начиная с 10 мкг/мл) или супернатантами гибридом (начиная с неразведенного супернатанта) в течение 30 мин при 4°C с последующей инкубацией с APC-конъюгированными антителами козы против человека/мыши (BioLegend) в течение 30 мин при 4°C. Флуоресценцию определяли с использованием проточного цитометра.

Анализы антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) осуществляли с использованием репортерного биологического анализа ADCC от Promega (кат. № G7014) по инструкциям производителя. Очищенные антитела против CD138 или супернатанты гибридом оценивали на ADCC в отношении миеломных клеток U266 в средах для выращивания с низким IgG. В кратком изложении, в 96-луночном белом планшете антитела против CD138 смешивали с клетками U266 в разных концентрациях, затем добавляли Т-клетки Jurkat при соотношении эффектор:мишень 10:1 и инкубировали при 37°C в течение 16 ч. Т-клетки Jurkat, используемые в анализах, экспрессируют CD16 человека/мыши (эффекторные клетки Promega). Во все лунки добавляли Bio Glo (люциферин от Promega) и с помощью спектрофотометра анализировали люминесценцию. Значения концентрации антитела (ось x) и кратную индукцию люминесцентного репортерного гена (ось y) аппроксимировали к 4-параметрической кривой логистической регрессии (4PL). Затем аппроксимацию кривой использовали для определения EC₅₀ (средняя точка 4PL) и максимальной индукции для каждого варианта Fc.

Антитела против CD138 тестировали на свойства ингибирования роста с использованием анализа WST. Клетки U266 и RPMI8226 высевали в 96-луночные планшеты для культивирования тканей при плотности 5000 клеток/лунку. Очищенные антитела против CD138 разводили в средах с низким содержанием сыворотки в разных концентрациях и инкубировали при 37°C. Через 3-5 дней реагент для пролиферации клеток WST-1 добавляли в конечном объеме 1:10 и инкубировали в течение до 4 ч при 37°C. Поглощение при 440 нм считывали с использованием спектрофотометра.

Пример 7. Идентификация антител против CD138, связывающихся с желаемыми эпитопами.

Идентифицировали множество антител, связывающихся с желаемым эпитопом. Пептиды, используемые для идентификации антител, приведены на фиг. 2. Типичные примеры приведены в табл. 6 ниже.

Таблица 6

Примеры антител против CD138 и их связывание с CD138

ID mAb	rCD138 (O.D. ELISA)	RPMI 8226 (% положительных клеток)	U266 (% положительных клеток)	Pep1/Pep2 (O.D. ELISA)	Pep3 (O.D. ELISA)	Pep4 (O.D. ELISA)	Pep5 (O.D. ELISA)	Pep6 (O.D. ELISA)
#101	3,032	11,8	7,6	0,162	0,138	0,176	2,817	0,108
#102	2,878	12,9	6,8	0,109	0,087	0,129	2,581	0,07

								8
#106	2,861	89,3	91,3	0,121	0,095	0,120	2,834	0,29 2
#110	2,780	33,1	58,7	0,123	0,094	0,125	0,359	0,08 3
#128	2,815	65,0	19,2	0,128	0,138	2,926	0,084	0,07 3
#135	2,861	96,8	98,6	0,120	0,090	0,115	2,810	0,11 1
#149	2,879	95,7	98,4	0,097	0,089	0,106	2,792	0,07 5
#150	2,884	9,8	12,0	0,104	0,080	0,154	2,806	0,08 6
602	0,574	87,9	96,8	0,150	0,058	0,056	0,059	1,00 2
603	0,585	81,4	95,8	0,075	0,047	0,051	0,053	0,86 3
604	0,610	82,5	96,0	0,062	0,058	0,058	0,067	0,93 9
607	0,453	7,6	69,1	0,062	0,062	0,074	0,076	0,74 6
613	0,486	77,4	94,8	0,062	0,056	0,058	0,053	0,64 2
614	0,682	85,3	96,3	0,147	0,066	0,069	0,082	0,92 5
617	0,581	43,3	89,4	0,102	0,084	0,091	0,066	0,80 9
624	1,525	89,3	96,7	0,680	0,069	0,069	0,066	1,68 2
632	1,503	43,1	80,9	0,477	0,062	0,063	0,068	1,64 2
616	1,178	18,3	6,1	0,069	0,063	0,065	0,061	1,61 8
619	0,882	85,0	3,7	0,064	0,067	0,066	0,066	1,36
								7
623	0,803	63,8	7,0	0,098	0,086	0,082	0,080	1,67 4

Пример 8. Эффект контакта с эпитопом в отношении эффекторных функций.

В-В4 является антителом против CD138, связывающимся с интегрин-связывающим доменом (IBD) CD138. Исследовали способность В-В4 индуцировать комплементзависимую цитотоксичность (CDC). Как показано на фиг. 3, В-В4-IgG1 и афукозилированный В-В4-IgG1 не индуцировали CDC в клетках миеломы человека RPMI 8226. Ритуксимаб, антитело против В-лимфоцитарного антигена CD20, не индуцировал CDC в клетках PRMI 8226. Ритуксимаб индуцировал CDC в клетках Raji, являющихся лимфобластоидными клетками с характеристиками В-клеток, полученными из лимфомы Беркитта.

Исследовали способность В-В4 индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC). Как показано на фиг. 4, В-В4-IgG1 и афукозилированное В-В4-IgG1 не индуцировали ADCC в клетках RPMI 8226. Ритуксимаб не индуцировал ADCC в клетках PRMI 8226. Ритуксимаб индуцировал CDC в клетках WIL2, являющихся В-лимфоцитами человека.

Исследовали способность поликлонального антитела кролика против CD138 индуцировать ADCC. Как показано на фиг. 5, поликлональное антитело кролика против CD138 индуцировало ADCC в клетках множественной миеломы человека U266. По сравнению с В-В4 IgG1, индукция ADCC повышалась

в 5 раз.

Пример 9. Роль расстояния до эпитопа в ADCC.

Эпитоп В-В4 картировали к линейному пептиду в направлении N-конца CD138 (фиг. 1). Как показано на фиг. 6А-6С, получали конструкции CD138, в которых нативный эпитоп В-В4 подвергали мутагенезу и эпитоп В-В4 встраивали посередине расстояния до эктодомена или проксимально к мембране.

В клонах 1, 2 и 3 20-аминокислотный пептид (остатки 101-120) вокруг предполагаемого эпитопа В-В4 (остатки 107-110) встраивали в заранее определенные положения эктодомена CD138 при удалении исходного участка связывания В-В4 посредством мутации его остатков-"горячих точек" Leu107, Pro108 и Glu109 в Ala. В клонах 1, 2 и 3 20-аминокислотный В-В4-связывающий пептид встраивали между остатками 172 и 173, остатками 236 и 237 и остатками 203 и 204, соответственно.

В отличие от встраивания 20-аминокислотного В-В4-связывающего пептида в клонах 1, 2 и 3, в клонах 4 и 5 В-В4-связывающий эпитоп лишь из пяти аминокислот получали посредством мутации исходных остатков CD138, и, в дополнение к этим мутациям, исходные остатки-"горячие точки" В-В4 Leu107, Pro108 и Glu109 подвергали мутации в Ala. В клоне 4 мутациями являлись E226L, D228E, R229V и R230E, в то время как в клоне 5 мутациями являлись S233L, V235E, D236V и Q237E.

CD138 дикого типа и варианты с эпитопом В-В4, встроенным в разные участки CD138, рекомбинантно экспрессировали на поверхности клеток Expri293. Экспрессию подтверждали посредством окрашивания В-В4 и поликлональным антителом против CD138. ADCC оценивали с использованием репортерного анализа ADCC, как описано выше. Как показано на фиг. 7А-7В, В-В4-подобные антитела против субоптимальных эпитопов, включая иммунодоминанту IBD, не вызывают ADCC, и В-В4 может вызывать ADCC, когда эпитоп перемещают проксимально к мембране клетки. Как показано на фиг. 7С, конструирование Fc дополнительно усиливает ADCC.

Пример 10. Связывание дополнительных моноклональных антител против CD138 с растворимым внеклеточным доменом CD138 человека.

При скрининге иммунизированных мышей идентифицировали дополнительные моноклональные антитела против CD138 1610 и 1409. В кратком изложении, выделяли тотальную РНК спленоцитов мышей, иммунизированных CD138/пептидом-6 и синтезировали кДНК с использованием системы Superscript™ IV First-Strand Synthesis System. Варибельные области, т.е. VH и VL, амплифицировали с использованием праймеров, специфических в отношении VH и VL мыши. После серии реакций ПЦР амплифицировали ДНК VH и VL с соответствующими последовательностями липких концов и клонировали последовательности VH и VL в экспрессирующий вектор дрожжей pYDv6 посредством гомологичной рекомбинации и в качестве одноцепочечного варибельного фрагмента (scFv) для дрожжевого дисплея. С помощью ДЦК VH и VL вместе с линейризованным вектором pYDv6 посредством электропорации трансформировали дрожжевые клетки EBY100 для поверхностной экспрессии scFv. Трансформированные дрожжи выращивали в средах SDCAA при 30°C, индуцировали в средах SGCAA при 20°C и обогащали rCD138-связывающие средства посредством захвата с помощью магнитных частиц с использованием биотинилированного CD138 и магнитных частиц против биотина от MiltenyiBiotec. Затем дрожжи обогащали по связыванию с рекомбинантным CD138 (внеклеточным доменом) посредством активированной флуоресценцией сортировки клеток (FACS) в течение по меньшей мере 2-3 раундов для достижения >95% положительных CD138-связывающих средств. Дрожжи одновременно анализировали на поверхностную экспрессию scFv с использованием антитела против MYC и связывание с rCD138. Производные библиотеки дрожжевого дисплея положительных CD138-связывающих средств также дополнительно анализировали на связывание с полученными из CD138 пептидами, аналогично биотинилированными для детекции посредством проточной цитометрии. После 3 раундов обогащения посредством FACS CD138-связывающие средства высевали на планшеты SDCAA и генетически анализировали генетические последовательности VH и VL отдельных клонов посредством прямого секвенирования ДНК способом Сэнгера. Последовательности антитела дополнительно анализировали с использованием IMG/Quest. Учитывая эти комбинированные анализы фенотипа и генотипа, выбранные последовательности VH и VL затем клонировали и транзитивно экспрессировали в клетках HEK293 в виде химерных моноклональных антител с варибельными областями (Fab) мыши и изотипом IgG1 человека. Рекомбинантные антитела очищали посредством аффинной хроматографии с протеином А и охарактеризовывали по связыванию с CD138, пептидами CD138 и линиями клеток миеломы способами, представленными в настоящем описании. Также получали Fc-афукозиллированные варианты этих антител в сконструированной линии клеток CHO M, в которой ген фукозилтрансферазы 8 (FUT8) подвергали абляции с использованием технологий редактирования генов на основе Crispr-Cas, описанных в литературе.

Эти антитела оценивали по их способности связываться с внеклеточным доменом растворимого CD138 в анализе ELISA вместе с антителами CD002 и 624, описанными выше. Антитело В-В4 включали в качестве референса. В кратком изложении, моноклональные антитела тестировали на связывание с рекомбинантным внеклеточным доменом CD138, состоящим из аминокислот 23-254 CD138 человека, в четырехкратных серийных разведениях, начиная с 1 мкг/мл. Для детекции использовали HRP-конъюгированное антитело против IgG-Fc человека (разведение 1:5000). Как показано на фиг. 8, оба антитела 1610 и 1409 могли связываться с внеклеточным доменом CD138. Антитело 1610 демонстрировало

связывание, сравнимое с антителом CD002 и референсным антителом В-В4.

Затем моноклональные антитела против CD138 1610, 1409, CD002 и 624 тестировали на их способность связываться с разными областями CD138 с использованием анализа связывания пептидов ELISA. Как указано выше, моноклональные антитела тестировали на связывание с серией пептидов CD138 в четырехкратных серийных разведениях, начиная с 1 мкг/мл. Тестировали набор из трех пептидов CD138: пептид 2а (аминокислоты 88-121 CD138 человека) пептид 5 (аминокислоты 176-214 CD138 человека) и пептид 6 (аминокислоты 210-250 CD138 человека) (фиг. 9D). Для детекции использовали HRP-конъюгированное антитело против IgG-Fc человека (разведение 1:5000). В качестве референса также тестировали антитело В-В4. Как показано на фиг. 9А-9С, антитела 1610 и 1409 связывались с пептидами 2а и пептидом 6, в то время как антитело 1409 также связывалось с пептидом 5, но в меньшей степени. Антитело CD002 селективно связывалось с пептидом 5, и антитело 624 селективно связывалось с пептидом 6. Референсное антитело В-В4 связывалось только с пептидом 2а.

Моноклональные антитела 1610 и 624 дополнительно оценивали по предпочтительному связыванию с пептидом 2а или пептидом 6 с использованием анализа связывания пептидов ELISA, описанного выше. Как показано на фиг. 10, антитело 1610 связывалось с пептидом 2а и пептидом 6 и демонстрировало более высокую аффинность к пептиду 2а, чем к пептиду 6. Антитело 624 преимущественно связывалось с проксимальным к мембране пептидом 6. Референсное антитело В-В4 преимущественно связывалось с пептидом 2а.

Кроме того, моноклональное антитело 1610 тестировали на связывание с растворимым CD138 и CD138 на поверхности клетки с использованием способа ELISA, описанного выше, и анализа связывания клеток, описанного в примере 6. Как показано на фиг. 11А-11С, антитело 1610 могло связываться с CD138 на поверхности клеток U266 дозозависимым образом, при этом EC₅₀ связывания составляла 1,9 нг/мл. Антитело 1610 также могло связываться с растворимым CD138 дозозависимым образом, при этом EC₅₀ связывания составляла 394 нг/мл.

Пример 11. Сравнение связывания с CD138 между антителом 1610 и референсным антителом В-В4.

Кинетику связывания антитела 1610 с CD138 тестировали и сравнивали с кинетикой связывания референсного антитела В-В4. В кратком изложении, связывание с рекомбинантным внеклеточным доменом CD138 оценивали посредством интерферометрии биослоя (Octet). Биотинилированный CD138 (150 нМ) иммобилизовали на биосенсорах со стрептавидином, а затем каждое из моноклональных антител 1610 и В-В4 тестировали на связывание при 0-300 нМ. Как показано на фиг. 12, обнаруживали, что антитело 1610 связывалось с CD138 с, по существу, более высокой ассоциацией при связывании по сравнению с референсным антителом В-В4. Наблюдали более высокую скорость диссоциации в случае антитела 1610, что может являться результатом наличия второго, менее аффинного участка связывания. Эти данные позволяют предполагать теоретическую стехиометрию связывания 2:1 для антитела 1610 и CD138.

Кинетику связывания антитела 1610 с несколькими пептидами CD138, представляющими собой две разные области CD138, также тестировали посредством интерферометрии биослоя способом, описанным выше, но с использованием пептидов, модифицированных с помощью биотина на amino-конце. Как показано на фиг. 13, тестируемые пептиды имели следующие аминокислотные последовательности:

Пептид 2А: ASTSTLPAGEGPKGEAVVLPEVEPGLTAREQEA (SEQ ID NO: 10).

Пептид 2С: GEAVVLPEVEPGLTAREQEA (SEQ ID NO: 449).

Пептид 6В: ENTAVVAVEPDRRNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG (SEQ ID NO: 440).

Пептид 6Е: RNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG (SEQ ID NO: 444).

На фиг. 13 показано, что антитело 1610 связывалось с пептидами 2А и 2С со схожей ассоциацией при связывании, но из вариантов пептида 6, оно связывалось только с пептидом 6В, но не с пептидом 6Е. Сравнительную кинетику связывания для антител 1610 и В-В4 в отношении пептидных фрагментов CD138 также измеряли посредством интерферометрии биослоя. Как показано на фиг. 14А, антитело 1610 могло связываться с пептидами 2А и 6В. и наоборот, антитело В-В4 связывалось только с пептидом 2А, но не с пептидом 6В (фиг. 14В).

Пример 12. Конкуренция за связывание с CD138 на поверхности клетки.

Конкурентное связывание антитела с мембраносвязанным CD138, экспрессирующимся на линии клеток миеломы человека U266, оценивали с помощью подхода, общепринято обозначаемого как "биннинг эпитопов". В этом примере устанавливали конкуренцию антитела за связывание с антигеном на поверхности клетки (в этом случае CD138) между биотинилированным тестируемым антителом в фиксированной концентрации и различными концентрациями немеченого конкурентного антитела. Антитела 1610, В-В4 и 624 химически биотинилировали с использованием набора EZ-Link™ Sulfo-NHS-LC-Biotinylation Kit (Thermal Fisher Scientific, кат. № 21435) по инструкциям производителя. В кратком изложении, рекомбинантные моноклональные антитела (100 мкг) инкубировали в течение ночи при 4°С в присутствии 5-кратного молярного избытка биотинового реагента. Избыточный неконъюгированный биотин удаляли посредством замены буфера буфером PBS, pH 7,4, с использованием центрифужных фильтров Amicon Ultra (MWCO 30 кДа). Для конкурентного анализа серийно разведенные немеченые конкурентные антитела предварительно смешивали с фиксированным уровнем биотинилированного тестируемого антитела. Каждая из смесей содержала 0,5 мкг/мл биотинилированного антитела и разное ко-

личество (0–40 мкг/мл) конкурентного антитела. Клетки U266 помещали в 96-луночный планшет для микротитрования в количестве 2–5E+4 клеток/луночку, один раз промывали 1-кратным PBS, а затем ресуспендировали в 100 мкл предварительных смесей антител. Конкуренцию между немечеными и биотинилированными версиями одного и того же антитела использовали в качестве положительного контроля ("самоконкуренция"). Клетки инкубировали в присутствии антитела в течение 30 мин при 4°C, промывали и подвергали воздействию меченого Alexa fluor 488 стрептавидина еще в течение 30 мин при 4°C. Клетки снова промывали перед оценкой связывания биотин-антитело посредством проточной цитометрии, как описано в примере 6. В случае mAb 1610 наблюдали частичное (~50%) ингибирование посредством B-B4, отсутствие ингибирования посредством 624, и его полностью блокировали самим 1610 (фиг. 15A). В случае mAb 624 не наблюдали ингибирования посредством B-B4 и его полностью блокировали 1610 (фиг. 15B). В случае mAb B-B4 не наблюдали ингибирования посредством 624, но его полностью блокировали 1610 или самим B-B4 (фиг. 15C).

Пример 13. Антитело 1610 демонстрирует мощную активность ADCC в репортерном клеточном анализе.

Способность антитела 1610 индуцировать ADCC в своей афукозилированной форме тестировали и сравнивали со способностью антитела 624 и референсного антитела B-B4. В кратком изложении, каждое из антител против CD138 получали в линии клеток Fut8-/- на основе CHO для снижения фукозилирования Fc. ADCC, индуцируемую каждым антителом измеряли с использованием набора для репортерного биологического анализа ADCC (Promega), в котором в качестве эффекторных клеток использовали T-клетки Jurkat, сконструированные для стабильной экспрессии высокоаффинного варианта FcγRIIIa человека (V/V 158) и NFAT-чувствительного элемента, регулирующего экспрессию люциферазы светлячка. CD138-положительную линию клеток множественной миеломы (U266) использовали в качестве клеточных мишеней. Как показано на фиг. 16, афукозилирование антитела 1610 приводило к высокой активности ADCC, которую не наблюдали в случае антитела 624, преимущественно связывающегося с проксимальной к мембране областью, или референсного антитела B-B4, связывающегося с областью, дистальной к проксимальной к мембране области. Эти данные свидетельствуют о том, что антитело 1610 по-разному связывается с CD138 таким образом, что активность ADCC является высокой при афукозилировании.

Пример 14. Получение и характеристика вариантов антитела 1610.

Моноклональное антитело 1610 модифицировали для получения серии вариантов (фиг. 17). В одном случае N-связанный участок гликозилирования в HCDR1 варибельной области тяжелой цепи антитела 1610 удаляли посредством мутации N28 в S или T для получения антител 2610 и 2710, соответственно. Антитела 2610 и 2710 сохраняли способность к связыванию CD138 и индукции ADCC родительского антитела 1610, как показано ниже, хотя мутация приводила к более низким уровням экспрессии в транзитивно трансфицированных клетках HEK293. Дополнительная мутация в антителах 2610 и 2710, в которых S60 подвергали мутации в Y (антитела 2810 и 2910, соответственно), восстанавливала экспрессию до уровней, сравнимых с уровнями антитела 1610. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что мутация S60Y также может улучшать спаривание тяжелых и легких цепей.

Связывающие свойства вариантов антитела 1610 с CD138 тестировали с использованием анализов, описанных выше. В частности, каждое из антител 2510, 2610 и 2810 демонстрировало схожее дозозависимое связывание с внеклеточным доменом CD138 (фиг. 18A), пептидом 2a CD138 (фиг. 18B) и пептидом 6 CD138 (фиг. 18C), как показано в табл. 3, при тестировали посредством анализов ELISA. Значения EC50, вычисленные для каждого варианта антитела в отношении внеклеточного домена CD138, пептида 2a и пептида 6, показаны на фиг. 18D.

Афукозилированные версии вариантов антитела 1610, 2510, 2610, 2710, 2810 и 2910 получали, как описано выше, а затем тестировали на связывание с клетками U266, экспрессирующими CD138 на своей поверхности. Как показано на фиг. 19A, антитело 1610 и все его варианты демонстрировали более сильное связывание с CD138 на поверхности клетки, чем референсное антитело B-B4. Типичные графики проточной цитометрии для каждого афукозилированного антитела при разных концентрациях антитела показаны на фиг. 19B. Затем афукозилированные варианты антител тестировали на способность индуцировать ADCC, как описано выше. Как показано на фиг. 20, антитело 1610 и все его варианты могли индуцировать ADCC в CD138+ клетках U266 дозозависимым образом, в то время как антитело B-B4, по существу, не индуцировало ADCC в этих клетках.

Способность варианта антитела 1610, антитела 2810, связываться с пептидными фрагментами CD138 также определяли с использованием ELISA. В кратком изложении, антитела 2810 или B-B4 иммобилизовали на планшете для ELISA и измеряли связывание с пептидами CD138 в разных концентрациях. Как показано на фиг. 21, антитело 2810 демонстрировало более сильное связывание с пептидом 6B, чем антитело B-B4, в то время как антитело B-B4 связывалось с пептидом 2A сильнее, чем антитело 2810 (хотя антитело 2810 не демонстрировало связывание с пептидом 2A). Кинетику связывания с вариантом антитела 1610 2810 сравнивали с кинетикой референсного антитела B-B4. В кратком изложении, биотинилированные пептиды (последовательности пептидов 2A, 2D, 6B и 6F, показанные на фиг. 22c) использовали в концентрации 50 нМ и фиксировали на биосенсорах со стрептавидином. Затем антитела добавляли к фиксированным пептидам в концентрациях от 25 нМ до 6,25 нМ. На фиг. 22A–22B показано свя-

зывание в случае антител 2810 и В-В4, соответственно, в концентрации 12,5 нМ. Эти данные подтверждают, что антитело 2810, как и родительское антитело 1610, связывалось с двумя разными областями CD138, представленными пептидами 2А и 2D (средняя область) и пептидами 6В и 6F (проксимальная к мембране область), соответственно. Как показано ранее, антитело В-В4 не связывалось с проксимальной к мембране области.

Включение в качестве ссылки

Все публикации, патенты и учетные номера, упомянутые в настоящем описании, включены, таким образом, в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме так, как если бы отдельная публикация или патент были конкретно и отдельно указаны как включенные в качестве ссылки.

Эквиваленты

Хотя описаны конкретные варианты осуществления настоящего изобретения, представленное выше описание является иллюстративным, а не ограничивающим. Множество вариантов изобретения будет очевидно специалистам в этой области из настоящего описания и приведенной ниже формулы изобретения. Полный объем изобретения следует определять с учетом формулы изобретения вместе с полным объемом эквивалентов, описанием и такими вариантами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Молекула антитела против CD138, содержащая:

(а) вариабельную область тяжелой цепи (VH), где VH содержит три определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3),

где VH содержит:

(i) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 350, 355 или 356,

HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 351, и

HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность FVY; или

(ii) HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 380,

HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 381 или 382, и

HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность FVY; и

(b) вариабельную область легкой цепи (VL), где VL содержит три определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR1, LCDR2 и LCDR3),

где VL содержит:

LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 352 или аминокислотную последовательность, отличающуюся не более чем 1 аминокислотным остатком;

LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 353; и

LCDR3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 354.

2. Молекула антитела по п.1, которая содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую

HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность GYSFSSY (SEQ ID NO: 355);

HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность HPSDST (SEQ ID NO: 351); и

HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность FVY; и

(ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую

LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность RSSKSLLYKDGKTYLN (SEQ ID NO: 352) или LCDR1, которая отличается 1 аминокислотным остатком от SEQ ID NO: 352;

LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность VVSTRAS (SEQ ID NO: 353); и

LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность QQLVEYPYT (SEQ ID NO: 354).

3. Молекула антитела по п.1, содержащая:

(i) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую любую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 291, 293, 294, 295, 296, 297 или аминокислотную последовательность, которая отличается не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотными остатками, или которая по меньшей мере на 85, 90, 95, 99 или 100% гомологична им;

(ii) вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 292 или аминокислотную последовательность, которая отличается не более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислотными остатками, или которая по меньшей мере на 85, 90, 95, 99 или 100% гомологична им; и/или

(iii) Fc-область.

4. Молекула антитела по п.1, где молекула антитела содержит:

(i) вариабельную область тяжелой цепи (VH) с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 296, или область VH с аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 85, 90, 95 или 99% идентична SEQ ID NO: 296; и/или

(ii) вариабельную область легкой цепи (VL) с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 292, или область VL с аминокислотной последовательностью, которая по меньшей мере на 85, 90, 95 или 99% идентична SEQ ID NO: 292.

5. Молекула антитела по любому из пп.1-4, которая обладает одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восьмью, девятью, десятью, одиннадцатью, двенадцатью, тринадцатью или всеми признаками (i)-(xiv):

- (i) содержит две VH и две VL;
- (ii) является синтетической молекулой антитела или выделенной молекулой антитела;
- (iii) является моновалентной молекулой антитела, мультивалентной молекулой антитела, моноспецифической молекулой или мультиспецифической молекулой антитела;
- (iv) является бивалентной, тривалентной или тетравалентной;
- (v) является биспецифической, триспецифической или тетраспецифической молекулой;
- (vi) является молекулой гуманизированного антитела;
- (vii) является афукозилированной молекулой антитела;
- (viii) содержит одну или более каркасных областей, полученных из последовательности каркаса зародышевой линии человека;
- (ix) является антителом IgG;
- (x) содержит константную область тяжелой цепи IgG, выбранного из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4;
- (xi) содержит константную область легкой цепи каппа или лямбда;
- (xii) содержит константную область тяжелой цепи IgG1 и константную область легкой цепи каппа;
- (xiii) содержит Fc-область, содержащую одну или более мутаций для повышения аффинности связывания с неонатальным рецептором FcRn и/или времени полужизни молекулы антитела; и/или
- (xiv) содержит Fc-область, содержащую одну или более мутаций, представленных в настоящем описании, например, для повышения одного или более из времени полужизни, антитело-зависимой клеточной цитотоксичности (ADCC), комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC) или антитело-зависимого клеточного фагоцитоза (ADCP).

6. Конъюгат молекула антитела-лекарственное средство (ADC), содержащий молекулу антитела по любому из пп.1-5.

7. ADC по п.6, содержащий цитотоксическое средство.

8. ADC по п.7, также содержащий линкер.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая молекулу антитела по любому из пп.1-5, или ADC по любому из пп.6-8 и фармацевтически приемлемый носитель.

10. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи (VH) молекулы антитела по любому из пп.1-5.

11. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область легкой цепи (VL) молекулы антитела по любому из пп.1-5.

12. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL) молекулы антитела по любому из пп.1-5.

13. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп.10-12.

14. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп.10-12 или вектор по п.13.

15. Клетка по п.14, где клетка является выделенной клеткой.

16. Набор для индукции активности ADCC, лечения злокачественного новообразования у пациента или лечения предракового состояния или профилактики злокачественного новообразования у пациента, содержащий молекулу антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композицию по п.9 и инструкции по использованию молекулы антитела или композиции.

17. Способ получения молекулы антитела против CD138, включающий культивирование клетки по п.14 или 15 в условиях, делающих возможной продукцию молекулы антитела.

18. Способ по п.17, где способ также включает выделение или очистку молекулы антитела.

19. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9 в способе лечения злокачественного новообразования с клетками, экспрессирующими CD138, у индивидуума.

20. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9 для лечения множественной миеломы у индивидуума.

21. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9 для производства лекарственного средства для лечения злокачественного новообразования с клетками, экспрессирующими CD138, у индивидуума.

22. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9 для получения лекарственного средства для лечения множественной миеломы у индивидуума.

23. Применение по любому из пп.19-22, где применение включает один, два, три, четыре, пять, шесть или все признаки (i)-(viii):

- (i) злокачественное новообразование является гемобластомом и/или солидной опухолью;
- (ii) где молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму внутривенно;
- (iii) где молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму в дозе от 0,1 до 50 мг/кг, от 0,2 до 25 мг/кг, от 0,5 до 10 мг/кг, от 0,5 до 5 мг/кг, от 0,5 до 3 мг/кг, от 0,5 до 2,5 мг/кг, от 0,5 до 2 мг/кг, от 0,5 до 1,5 мг/кг, от 0,5 до 1 мг/кг, от 1 до 1,5 мг/кг, от 1 до 2 мг/кг, от 1 до 2,5 мг/кг, от 1 до 3 мг/кг или

от 1 до 5 мг/кг;

(iv) где молекулу антитела, ADC или композицию вводят индивидууму в фиксированной дозе от 10 до 1000 мг, от 10 до 500 мг, от 10 до 250 мг, от 10 до 150 мг, от 10 до 100 мг, от 10 до 50 мг, от 250 до 500 мг, от 150 до 500 мг, от 100 до 500 мг, от 50 до 500 мг, от 25 до 250 мг, от 50 до 150 мг, от 50 до 100 мг, от 100 до 150 мг, от 100 до 200 мг или от 150 до 250 мг;

(v) молекулу антитела, ADC или композицию вводят раз в неделю, два раза в неделю, раз в две недели, раз в три недели или раз в четыре недели;

(vi) дополнительно включает определение уровня CD138 в образце от индивидуума;

(vii) дополнительно включающего введение индивидууму второго терапевтического средства против злокачественного новообразования.

24. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9 для лечения предракового состояния или профилактики злокачественного новообразования с клетками, экспрессирующими CD138.

25. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9 для производства лекарственного средства для лечения предракового состояния или профилактики злокачественного новообразования с клетками, экспрессирующими CD138.

26. Применение по п.24 или 25, где:

(i) предраковое состояние является вялотекущей миеломой или моноклональной гаммапатией неясного генеза (MGUS); или

(ii) злокачественное новообразование является множественной миеломой.

27. Способ вызывания ADCC, включающий приведение клетки или индивидуума в контакт с молекулой антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композицией по п.9.

28. Способ лечения злокачественного новообразования с клетками, экспрессирующими CD138, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9.

29. Способ лечения предракового состояния или профилактики злокачественного новообразования с клетками, экспрессирующими CD138, включающий введение нуждающемуся в этом индивидууму эффективного количества молекулы антитела по любому из пп.1-5, ADC по любому из пп.6-8 или композиции по п.9.

30. Способ по п.28 или 29, где злокачественное новообразование представляет собой множественную миелому.

31. Способ детекции молекулы CD138, где способ включает приведение клетки или образца индивидуума в контакт с молекулой антитела по любому из пп.1-5; и обнаружение образования комплекса между молекулой антитела и CD138 в образце, где детекция образования комплекса в образце указывает на присутствие CD138 в образце.

32. Способ по п.31, где:

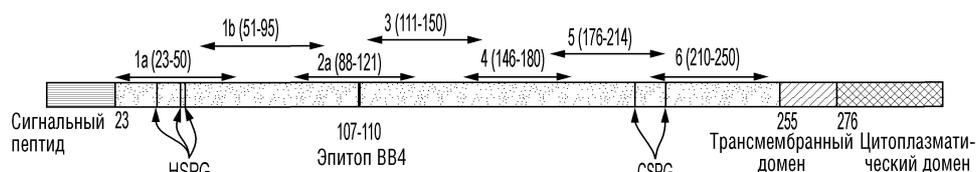
(i) молекулу антитела соединяют с детектируемой меткой; и/или

(ii) молекулу CD138 определяют *in vitro* или *ex vivo*.

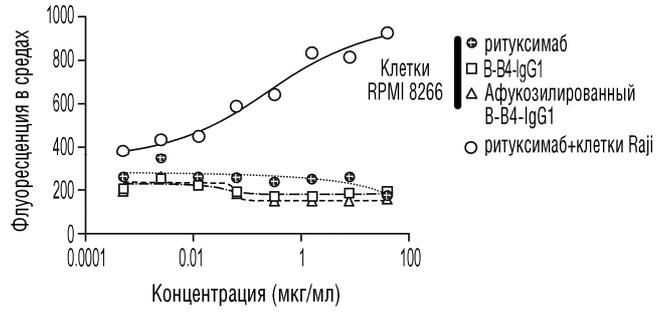
Нативный hCD138: (Uniprot id: P18827)

10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
MRRAALW	LWLCAL	LALSLOPA	LPQIVATNLP	PEDQDGS	GDDSDN	FSGSGAG	ALQDITLS	QQTPST	WKDTQL
110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
EGEAVVLP	EVPEGL	TAREQE	ATPRPRE	TTLQ	LPTTHLASTT	TATTAQEPAT	SHPHRDM	QPGNHET	STPAGP
210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
PAAE	SGSEQD	FTFETS	GENT	AVVA	VEPDRR	NQSP	VQDQAT	GASQ	GLLD
310									
KPTK	QEEFYA								

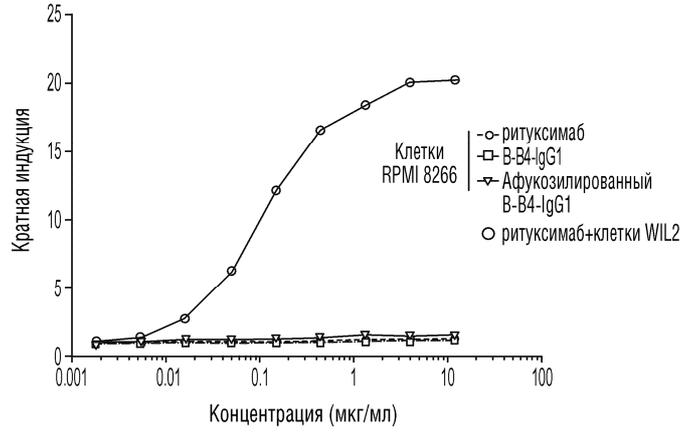
Фиг. 1



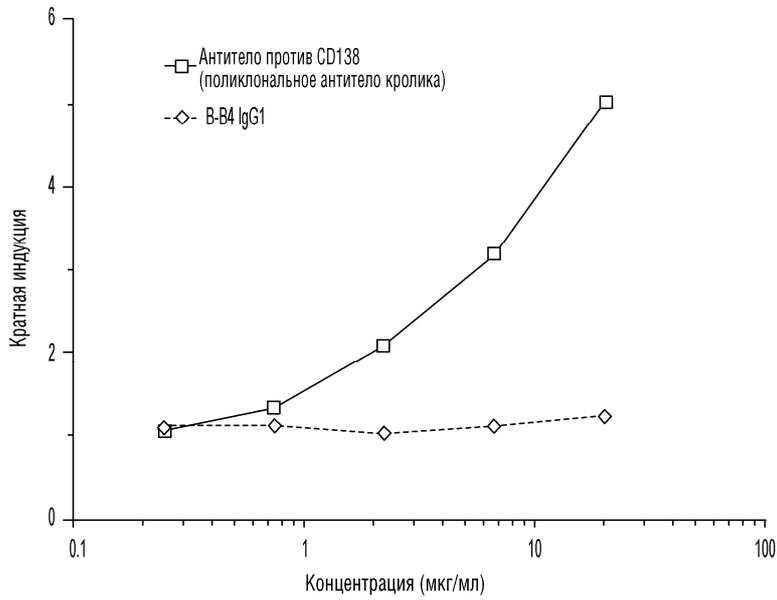
Фиг. 2



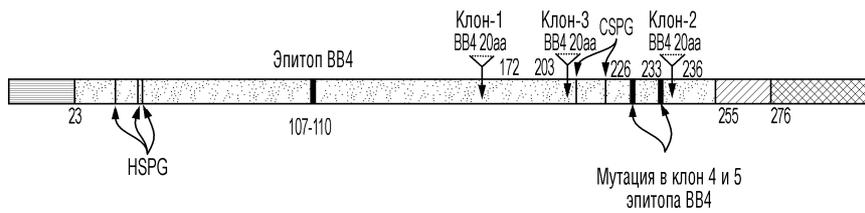
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6А

Клон 1: Нативный CD138: эпитоп BB4 между GAG

M~~RR~~AALW~~L~~W~~L~~ CALALS~~L~~Q~~P~~A LPQIVATN~~L~~P PEDQDGS~~G~~DD S~~D~~NFSGSGAG ALQDITLS~~S~~Q TPSTW~~K~~DT~~Q~~L LTAIPTSP~~E~~P TGLEATAAST STL~~P~~AGEGPK
 EGEAVVAAAV EPGLTARE~~Q~~E ATRPR~~P~~RET~~T~~Q LPTTH~~L~~ASTT TATTAQ~~E~~PAT SHPHRDM~~Q~~PG HHETSTPAG~~P~~ SQEGEAVV~~L~~PEV EPGLTARE~~Q~~E ADLHT~~P~~HT
 EDG~~G~~PSATER AAEDGASS~~L~~Q PAE~~G~~SGEQD FTF~~F~~TS~~G~~ENT AVVAVEP~~D~~RR NQSPVDQ~~G~~AT GASQGL~~L~~DRK
 EVLGGVIAGG LVGLIFAV~~C~~L VGF~~M~~LYRMKK KDEGSYS~~L~~EE PKQANGGAY~~Q~~ KPTKQEEFYA

Клон 2: Нативный CD138: эпитоп BB4 в JMD

M~~RR~~AALW~~L~~W~~L~~ CALALS~~L~~Q~~P~~A LPQIVATN~~L~~P PEDQDGS~~G~~DD S~~D~~NFSGSGAG ALQDITLS~~S~~Q TPSTW~~K~~DT~~Q~~L LTAIPTSP~~E~~P TGLEATAAST STL~~P~~AGEGPK
 EGEAVVAAAV EPGLTARE~~Q~~E ATRPR~~P~~RET~~T~~Q LPTTH~~L~~ASTT TATTAQ~~E~~PAT SHPHRDM~~Q~~PG HHETSTPAG~~P~~ SQADLHT~~P~~HT EDG~~G~~PSATER AAEDGASS~~L~~Q
 PAE~~G~~SGEQD FTF~~F~~TS~~G~~ENT AVVAVEP~~D~~RR NQSPVDEGEAVV~~L~~PEV EPGLTARE~~Q~~EQAT GASQGL~~L~~DRK EVLGGVIAGG LVGLIFAV~~C~~L VGF~~M~~LYRMKK
 KDEGSYS~~L~~EE PKQANGGAY~~Q~~ KPTKQEEFYA

Клон 3: Нативный CD138: эпитоп BB4 выше и близко к модификации CS

M~~RR~~AALW~~L~~W~~L~~ CALALS~~L~~Q~~P~~A LPQIVATN~~L~~P PEDQDGS~~G~~DD S~~D~~NFSGSGAG ALQDITLS~~S~~Q TPSTW~~K~~DT~~Q~~L LTAIPTSP~~E~~P TGLEATAAST STL~~P~~AGEGPK
 EGEAVVAAAV EPGLTARE~~Q~~E ATRPR~~P~~RET~~T~~Q LPTTH~~L~~ASTT TATTAQ~~E~~PAT SHPHRDM~~Q~~PG HHETSTPAG~~P~~ SQADLHT~~P~~HT EDG~~G~~PSATER AAEDGASS~~L~~Q
 PAE~~G~~SGEQD FTF~~F~~TS~~G~~ENT AVVAVEP~~D~~RR NQSPVDQ~~G~~AT GASQGL~~L~~DRK EVLGGVIAGG LVGLIFAV~~C~~L VGF~~M~~LYRMKK
 KDEGSYS~~L~~EE PKQANGGAY~~Q~~ KPTKQEEFYA

Фиг. 6B

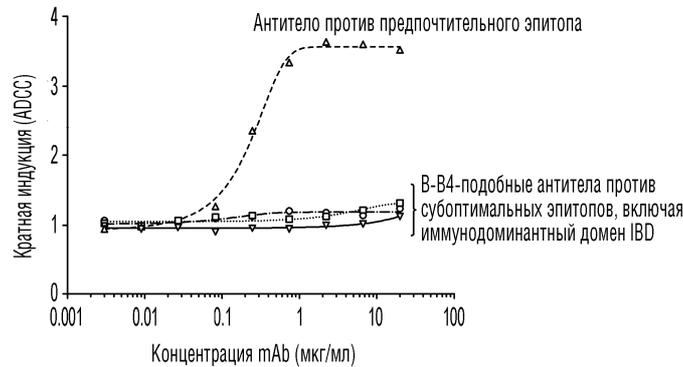
Клон 4: Нативный CD138: эпитоп BB4 ниже CS

M~~RR~~AALW~~L~~W~~L~~ CALALS~~L~~Q~~P~~A LPQIVATN~~L~~P PEDQDGS~~G~~DD S~~D~~NFSGSGAG ALQDITLS~~S~~Q TPSTW~~K~~DT~~Q~~L LTAIPTSP~~EP TGLEATAAST STL~~P~~AGEGPK
 EGEAVVAAAV EPGLTARE~~Q~~E ATRPR~~P~~RET~~T~~Q LPTTH~~L~~ASTT TATTAQ~~E~~PAT SHPHRDM~~Q~~PG HHETSTPAG~~P~~ SQADLHT~~P~~HT EDG~~G~~PSATER AAEDGASS~~L~~Q
 PAE~~G~~SGEQD FTF~~F~~TS~~G~~ENT AVVAV~~L~~PEVE NQSPVDQ~~G~~AT GASQGL~~L~~DRK EVLGGVIAGG LVGLIFAV~~C~~L VGF~~M~~LYRMKK KDEGSYS~~L~~EE PKQANGGAY~~Q~~
 KPTKQEEFYA~~

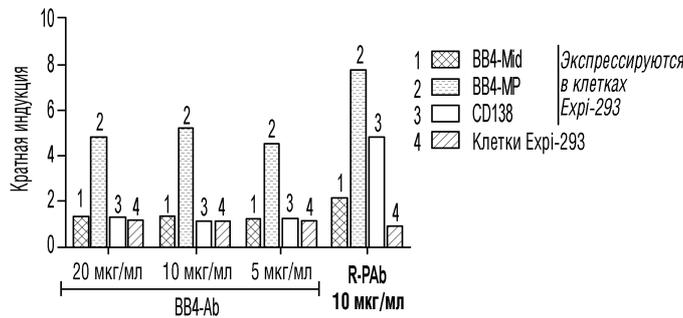
Клон 5: Нативный CD138: эпитоп BB4 ниже CS

M~~RR~~AALW~~L~~W~~L~~ CALALS~~L~~Q~~P~~A LPQIVATN~~L~~P PEDQDGS~~G~~DD S~~D~~NFSGSGAG ALQDITLS~~S~~Q TPSTW~~K~~DT~~Q~~L LTAIPTSP~~EP TGLEATAAST STL~~P~~AGEGPK
 EGEAVVAAAV EPGLTARE~~Q~~E ATRPR~~P~~RET~~T~~Q LPTTH~~L~~ASTT TATTAQ~~E~~PAT SHPHRDM~~Q~~PG HHETSTPAG~~P~~ SQADLHT~~P~~HT EDG~~G~~PSATER AAEDGASS~~L~~Q
 PAE~~G~~SGEQD FTF~~F~~TS~~G~~ENT AVVAVEP~~D~~RR NQLEVE~~V~~E~~G~~AT GASQGL~~L~~DRK EVLGGVIAGG LVGLIFAV~~C~~L VGF~~M~~LYRMKK KDEGSYS~~L~~EE PKQANGGAY~~Q~~
 KPTKQEEFYA~~

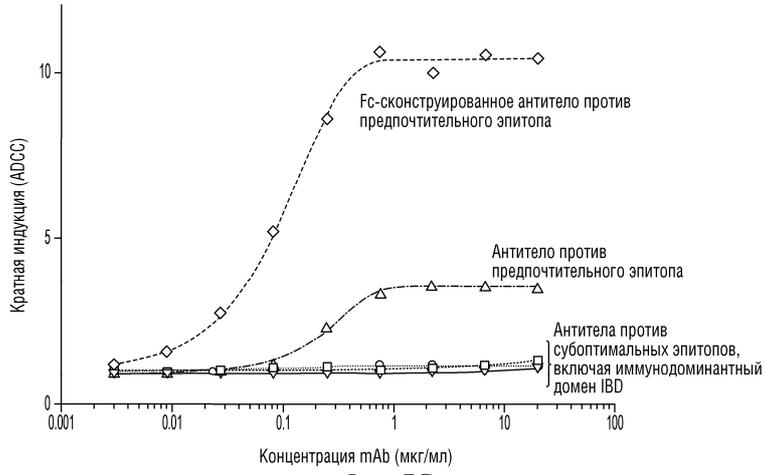
Фиг. 6C



Фиг. 7A

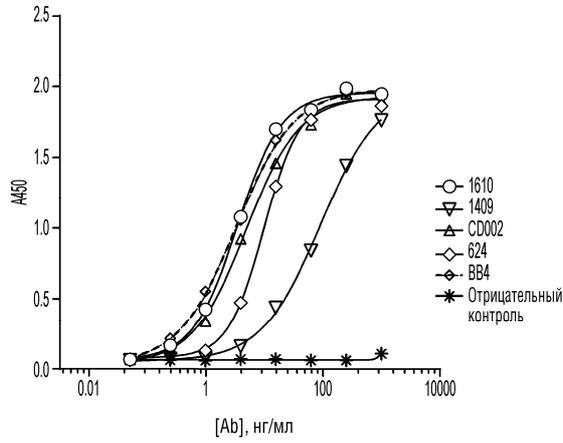


Фиг. 7B



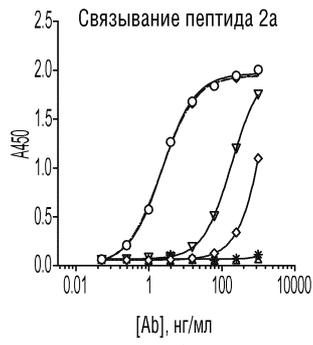
Фиг. 7С

Связывание с растворимым CD138 (внеклеточный домен)



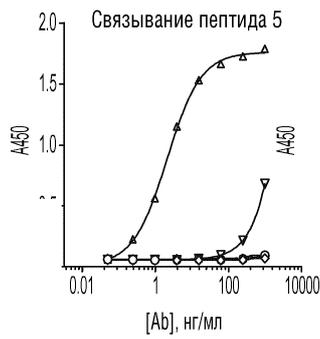
Фиг. 8

Связывание пептида 2а

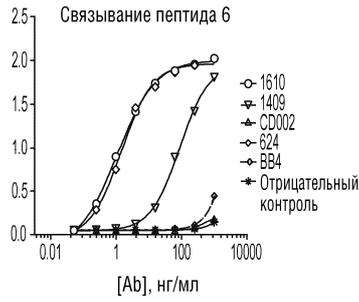


Фиг. 9А

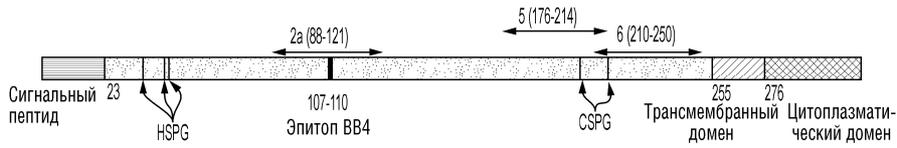
Связывание пептида 5



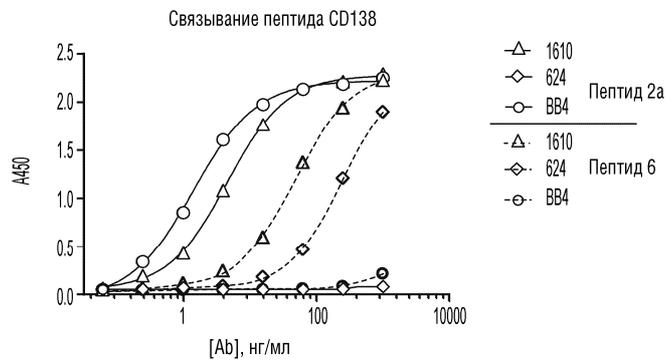
Фиг. 9В



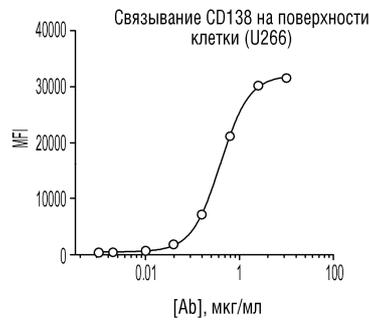
Фиг. 9С



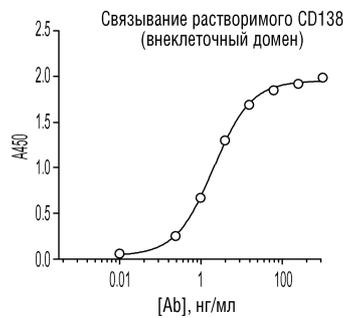
Фиг. 9D



Фиг. 10



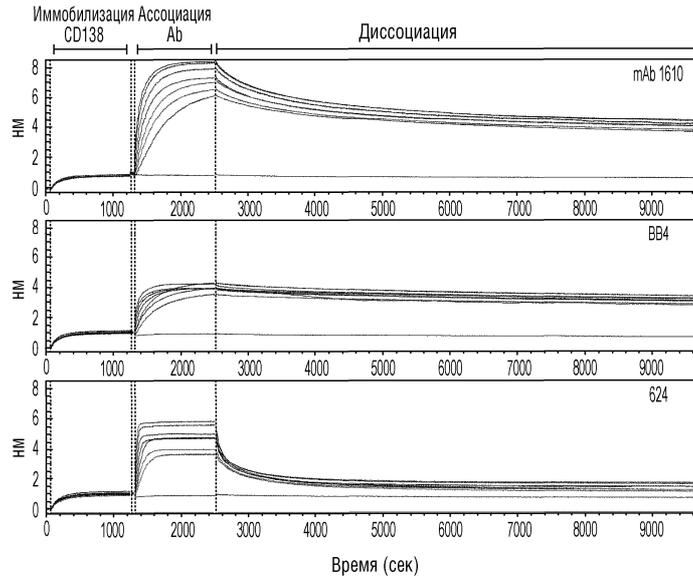
Фиг. 11А



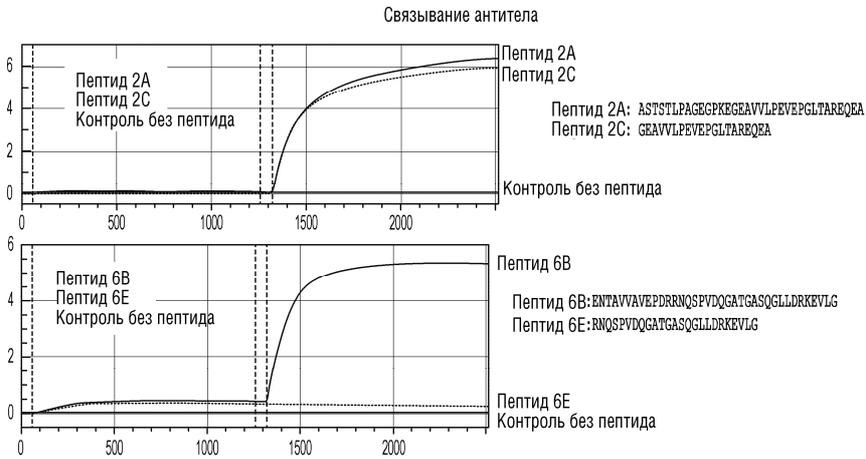
Фиг. 11В

EC ₅₀ связывания растворимого CD138 (нг/мл)	EC ₅₀ связывания мембраносвязанного CD138 (нг/мл)
1.9	394

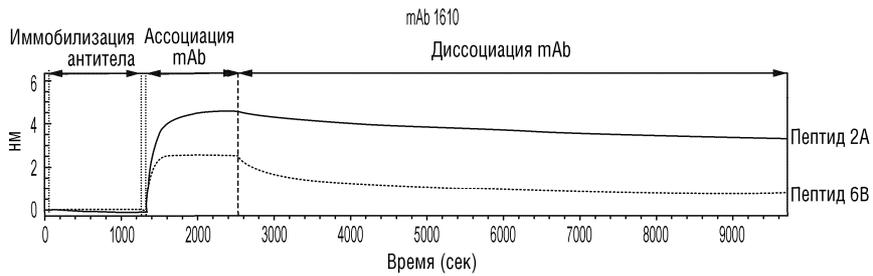
Фиг. 11С



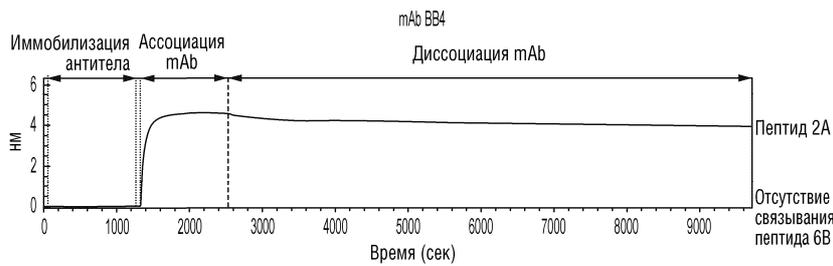
Фиг. 12



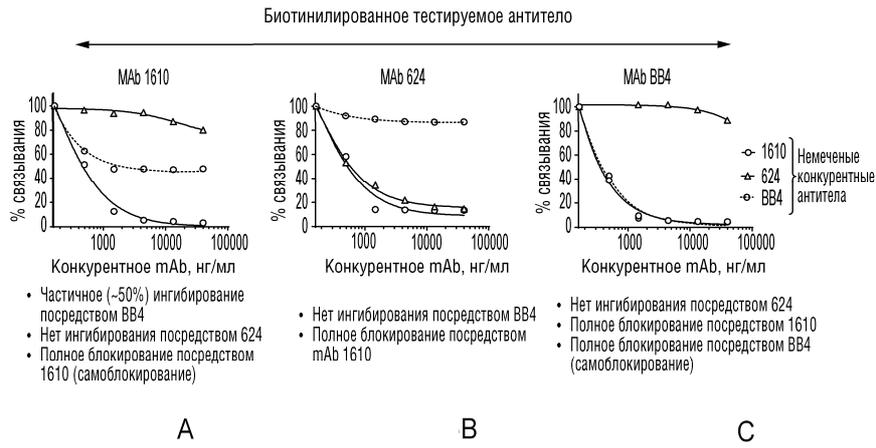
Фиг. 13



Фиг. 14А

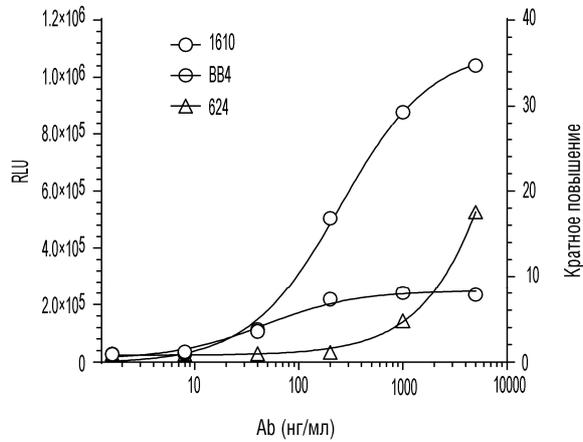


Фиг. 14В



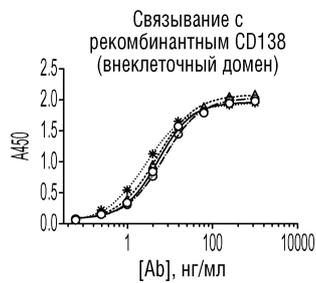
- Частичное (~50%) ингибирование посредством BB4
- Нет ингибирования посредством 624
- Полное блокирование посредством 1610 (самоблокирование)
- Нет ингибирования посредством BB4
- Полное блокирование посредством mAb 1610
- Нет ингибирования посредством 624
- Полное блокирование посредством 1610
- Полное блокирование посредством BB4 (самоблокирование)

Активность ADCC в отношении клеток U266

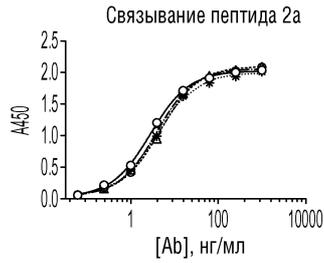


ID антитела	Вариант VH	Титры белка
1610	дикий тип	63.1
2510	S60Y	103.4
2610	N28S	13.7
2710	N28T	9.6
2810	N28S_S60Y	70.0
2910	N28T_S60Y	58.7

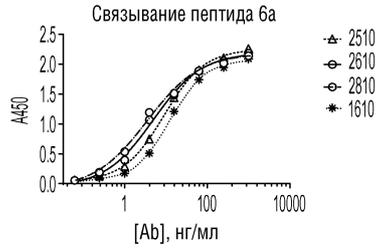
Фиг. 17



048240



Фиг. 18В

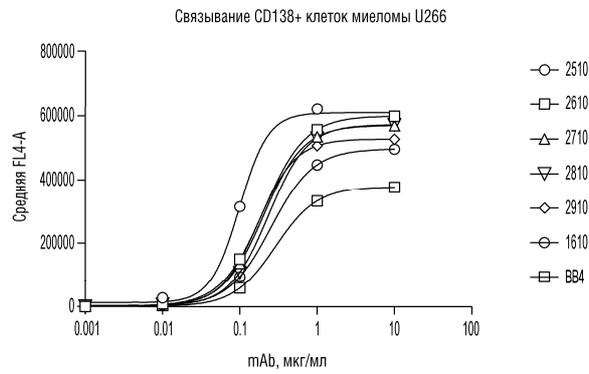


Фиг. 18С

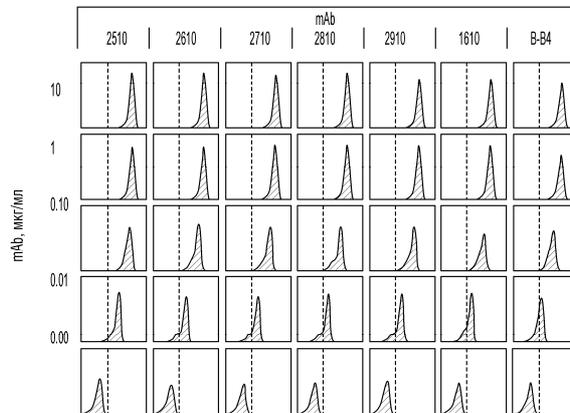
Методы: связывание антитела, измеряемое посредством ELISA

Ab ID	Мутация	EC50 (нг/мл)		
		CD138	Пептид 2а	Пептид 6
2510	C60Y	4.9	4.6	8.9
2610	N28S	7.0	3.8	4.9
2810	N28S/C60Y	5.3	2.8	3.2
1610	WT	2.7	3.9	12.3

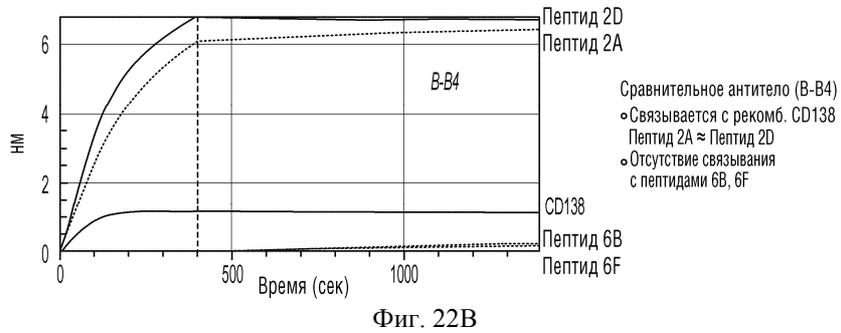
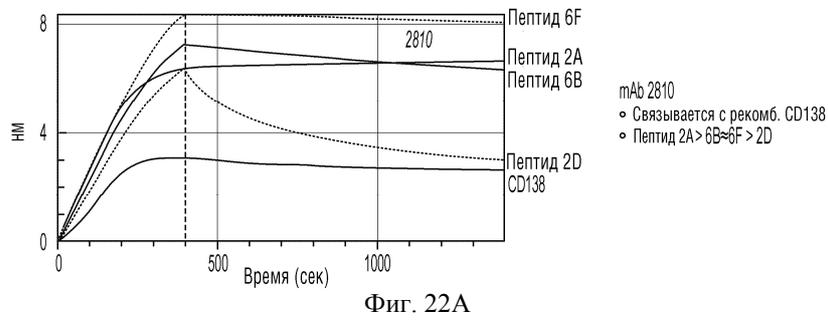
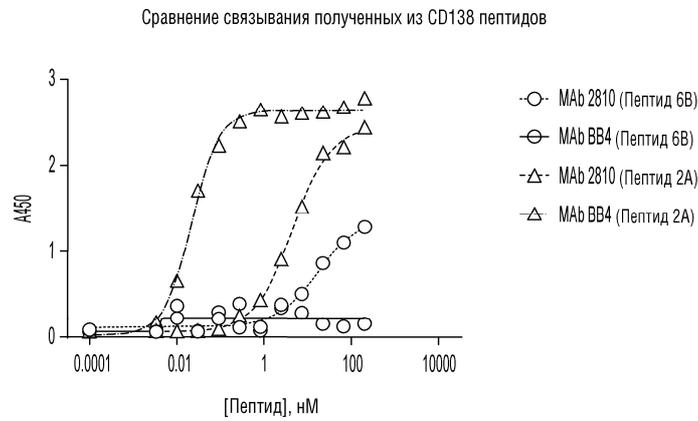
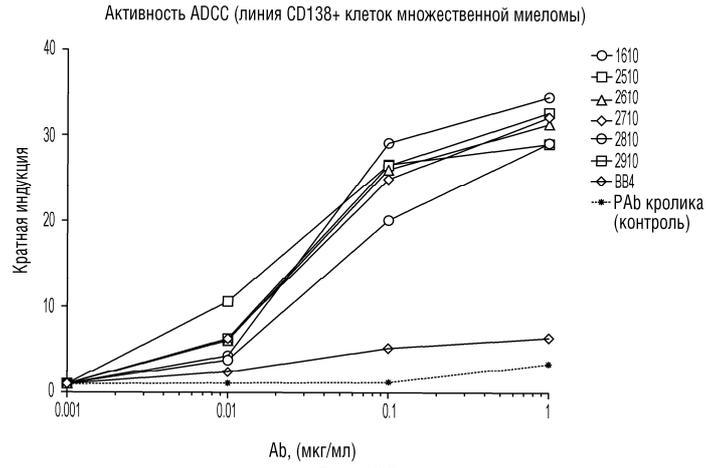
Фиг. 18D



Фиг. 19А



Фиг. 19В



048240

(Средняя область): SPEPTGLEATAASTSTLPAGEGPKGEAVVLPVEVEPGLTAREQEATPRPRETTQ

Пептид 2A: ASTSTLPAGEGPKGEAVVLPVEVEPGLTAREQEA

Пептид 2C: GEAVVLPVEVEPGLTAREQEA

Пептид 2D: GEAVVLPVEVEPLTA

(Область, проксимальная к мембране): GSGEQDFEFETSSENTAVVAVEPDRRNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG

Пептид 6B: ENTAVVAVEPDRRNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG

Пептид 6E: RNQSPVDQGATGASQGLLDRKEVLG

Пептид 6F: ENTAVVAVEPDRRNQ

6F	-ENTAVVAVEPDRRNQ----	15
2C	GEAVVLPVEVEPGLTAREQEA	20
	* ..: ***. :	

Фиг. 22С



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2
