

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490950** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.06.13

(22) Дата подачи заявки
2022.10.13

(51) Int. Cl. *C07K 16/30* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)

(54) **МЕЗОТЕЛИНСВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И ВАРИАНТЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) 63/255,887; 63/255,891; 63/303,422;
63/392,569

(32) 2021.10.14; 2021.10.14; 2022.01.26;
2022.07.27

(33) US

(86) PCT/US2022/078075

(87) WO 2023/064876 2023.04.20

(71) Заявитель:
ТЕНЕОБИО, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Харрис Кэтрин, Малик Чодхри
Харбани Каур, Аллен Николь (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Раскрыты однодоменные антитела, которые специфически связываются с мезотелином (MSLN), и мезотелинсвязывающие белки, антитела к мезотелину и их фрагменты антитела, конъюгаты антитело-лекарственное средство, синтетические иммунные рецепторы и диагностические средства, содержащие их. Также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие любое из вышеперечисленного, и варианты применения любого из вышеперечисленного в лечении, и/или диагностике, и/или мониторинге заболевания, ассоциированного с экспрессией MSLN.

A1

202490950

202490950

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-581043EA/032

МЕЗОТЕЛИНСВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ И ВАРИАНТЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

[1] Настоящая заявка испрашивает преимущество приоритета по предварительной заявке на патент США № 63/255887, поданной 14 октября 2021 года, предварительной заявке на патент США № 63/255891, поданной 14 октября 2021 года, предварительной заявке на патент США № 63/303422, поданной 26 января 2022 года, и предварительной заявке на патент США № 63/392569, поданной 27 июля 2022 года, содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки в своей полноте.

[2] Включен посредством ссылки в своей полноте машиночитаемый перечень аминокислотных последовательностей, представленный одновременно с данным документом и идентифицируемый следующим образом: файл в XML-формате размером 70499 байт под названием "10184-WO02_SEC_Sequence_Listing"; созданный 12 октября 2022 года.

[3] В данном документе раскрыты однодоменные антитела, которые специфически связываются с мезотелином (MSLN) и мезотелинсвязывающие белки, антитела к мезотелину и их фрагменты антитела, конъюгаты антитело-лекарственное средство, синтетические иммунные рецепторы и диагностические средства, содержащие их. Также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие любое из вышеперечисленного, и варианты применения любого из вышеперечисленного в лечении, и/или диагностике, и/или мониторинге заболевания, ассоциированного с экспрессией MSLN.

[4] Мезотелин (MSLN; также известный как CAK1; UniProt Q13421; HGNC ID 7371) представляет собой опухолеассоциированный антиген, который широко экспрессируется в виде гликопротеина клеточной поверхности на клетках различных злокачественных опухолей. Мезотелин (MSLN) первоначально идентифицирован Pastan и коллегами в 1992 году с использованием моноклонального антитела (mAb) K1, которое получали путем иммунизации мышей клетками карциномы яичника человека (OVCAR-3) (Chang, et al., *Int J. Cancer.* (1992) 50:373-81). MSLN очищали из линии клеток рака поджелудочной железы человека HPC-Y5, и при этом было показано, что он характеризуется способностью к стимулированию мегакариоцитов. Ген MSLN кодирует белок-предшественник 71 кДа, который расщепляется фурином на два продукта: аминоконцевой выделяющийся фрагмент, называемый фактором стимулирования мегакариоцитов (MPF; 31 кДа), и гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-заякоренный гликопротеин MSLN (40 кДа), который остается прикрепленным к клеточной мембране посредством связи GPI. Белок MSLN организован в суперспиральные домены с повторами типа ARM.

[5] Хотя как MPF, так и MSLN проявляют биологическую активность, их точные биологические функции остаются неясными. Были получены нокаутные мыши, у которых ген мезотелина был нарушен путем гомологичной рекомбинации (Bera, T. K. and Pastan, I. (2000) *Mol. Cell. Biol.* 20:2902-2906). Не было выявлено каких-либо анатомических,

гематологических или репродуктивных аномалий, что указывает на то, что функция мезотелина не является существенной для роста или размножения, по меньшей мере у этих нокаутных мышей. MSLN специфически взаимодействует с MUC16 (CA125), муциноподобным гликопротеином, присутствующим на поверхности опухолевых клеток, который ранее был идентифицирован как антиген рака яичника. MSLN ассоциирован с пролиферацией и миграцией опухолевых клеток (Rump A et al., *J Biol Chem.* 2004 Mar 5; 279(10):9190-8), и было высказано предположение, что взаимодействие мезотелин-MUC16 участвует в клеточной адгезии, инвазии и метастазировании. Для иллюстрации, экспрессия мезотелина в слизистой оболочке брюшины коррелирует с предпочтительным участком образования метастазов рака яичников, а связывание мезотелина-MUC16, как полагают, облегчает перитонеальное метастазирование опухолей яичника (Gubbels, J. A. et al. (2006) *Mol. Cancer.* 5:50).

[6] MSLN экспрессируется на высоком уровне в нескольких типах опухолей, включая мезотелиому, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак яичника, рак легкого и трижды негативный рак молочной железы (Hassan et al., *Eur J Cancer* (2008) 44:46-53; Ordonez, *Am J Surg Pathol* (2003) 27:1418-28; Ho et al., *Clin Cancer Res* (2007) 13:1571-5). Однако нормальная тканевая экспрессия MSLN ограничена мезотелиальными клетками плевры, перикарда и брюшины, а также поверхностным эпителием нормальных яичников, фаллопиевых труб и миндалин, что делает MSLN многообещающей мишенью для конъюгатов антитело-лекарственное средство, моноклональных антител и средств терапии с применением CAR-T-клеток (Hassan R et al., *J Clin Oncol.* 2016 Dec; 34(34):4171-4179). Более того, MSLN-связывающие средства могут применяться в качестве маркера для диагностики и прогноза определенных типов рака, поскольку следовые количества мезотелина могут быть выявлены в крови некоторых пациентов с мезотелиноположительными видами рака (Cristaudo et al., *Clin. Cancer Res.* 13:5076-5081, 2007). Сверхэкспрессия MSLN ассоциирована с плохим прогнозом, например, при аденокарциноме легкого и трижды негативным раке молочной железы.

[7] В дополнение к экспрессии на поверхности клеток мезотелин также выделяется в сыворотку крови под действием ADAM17/TACE. Уровни выделяемого мезотелина в сыворотке крови повышены у пациентов с раком яичника и другими видами рака. MESOMARK®, тест ELISA на выделение мезотелина в сыворотке крови, одобрен FDA для гуманитарного применения и может помочь в диагностике или мониторинге мезотелиомы. Выделенный мезотелин также применялся отдельно или совместно с другими маркерами для диагностики или прогнозирования других типов рака. Корреляция уровней в сыворотке крови выделенного мезотелина с заболеванием предполагает потенциальную роль белка мезотелина в прогрессировании рака.

[8] Соответственно, существует потребность в дополнительных и эффективных терапевтических средствах лечения и средствах диагностики для заболеваний, ассоциированных с экспрессией мезотелина.

[9] В данном документе раскрыто однодоменное антитело, которое специфически

связывается с мезотелином (MSLN), таким как, например, MSLN человека.

[10] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G G S I S X₁ S Y Y (SEQ ID NO: 53),

где X₁ представляет собой N или S;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность

I Y X₂ S G X₃ X₄ (SEQ ID NO: 68),

где X₂ представляет собой H или Y; X₃ представляет собой N или S; и X₄ представляет собой T или I; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

X₅ X₆ Q X₇ G V G A T T T E E Y (SEQ ID NO: 54),

где X₅ представляет собой T, V или A; X₆ представляет собой S или T; и X₇ представляет собой D или N.

[11] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 90% (такой как, например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

[12] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8.

[13] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену, перечисленную в **таблице A1**.

[14] В некоторых вариантах осуществления CDR1 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления CDR2 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления CDR3 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой делецию аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой добавление аминокислоты.

[15] В некоторых вариантах осуществления CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления CDR2 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

[16] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

[17] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 2 и 4 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 2 и 5 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 2 и 6 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 7 и 8 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 9, 2 и 6 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 9, 2 и 4 соответственно; или

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 10 и 4 соответственно.

[18] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

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

[20] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 90% (такой как, например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичности последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19.

[21] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), выбранную из SEQ ID NO: 11-19.

[22] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело специфически связывается с MSLN человека. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М.

[23] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой выделенное однодоменное антитело.

[24] Также в данном документе раскрыт мезотелинсвязывающий белок, содержащий однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе.

[25] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок специфически связывается с MSLN человека. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М.

[26] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно связывается с одним или несколькими антигенами-мишенями, отличными от мезотелина. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок является полиспецифическим. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок является биспецифическим.

[27] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3 человека. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3-эпсилон человека. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок связывается с эпитопом на CD3, содержащим по меньшей мере один остаток, выбранный из K73 и S83 CD3-эпсилон (SEQ ID NO: 69) и K82 и C93 CD3-дельта (SEQ ID NO: 70). В некоторых вариантах осуществления эпитоп CD3 содержит область CD3-дельта, определенную по K82, E83, S84, T85, V86, Q87, V88, H89, Y90, R91, M92, C93. В некоторых вариантах осуществления эпитоп CD3 содержит область CD3-эпсилон, определенную по K73, N74, 175, G76, S77, D78, E79, D80, H81, L82, S83. В некоторых вариантах осуществления эпитоп предусматривает конформационный эпитоп с остатками как CD3-дельта, так и CD3-эпсилон. В некоторых вариантах осуществления конформационный эпитоп содержит каждый из остатков K73 и S83 CD3 ϵ ; K82 и C93 CD3 δ .

[28] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно содержит CD3-связывающую область VH. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно содержит CD3-связывающую область VH, которая спарена с областью легкой цепи (LV).

[29] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 20-25;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем

двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 27-30.

[30] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену, перечисленную в **таблице A1**.

[31] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно любой из SEQ ID NO: 20-25. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно любой из SEQ ID NO: 27-30. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой делецию аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой добавление аминокислоты.

[32] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20-25. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27-30.

[33] В некоторых вариантах осуществления полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 90% (такой как,

например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

[34] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

[35] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G F T F X₈ X₉ Y A (SEQ ID NO: 55),

где X₈ представляет собой D, A или H, и X₉ представляет собой D или N;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26); и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

A K D S R G Y G X₁₀ Y X₁₁ X₁₂ G G A Y (SEQ ID NO: 56),

где X₁₀ представляет собой D или S; X₁₁ представляет собой R или S; и X₁₂ представляет собой L или R.

[36] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH в CD3-связывающей области VH присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[37] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 90% (например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48.

[38] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 27 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 28 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 20, 26 и 29 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 21, 26 и 28 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 22, 26 и 28 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 23, 26 и 28 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 24, 26 и 28 соответственно;

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 20, 26 и 30 соответственно;

(i) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 25, 26 и 29 соответственно; или

(j) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 24, 26 и 29 соответственно.

[39] В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие последовательность под SEQ ID NO: 49, 50 и 51 соответственно. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[40] В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 90% (такой как, например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52.

[41] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой антитело к мезотелину или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой выделенное моноклональное антитело или его фрагмент.

[42] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой антитело IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину

представляет собой антитело IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой антитело IgG4.

[43] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой антитело, содержащее только тяжелые цепи. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу (ТСА).

[44] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину или его фрагмент дополнительно содержат Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину или его фрагмент дополнительно содержат вариант Fc-области. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области содержит обеспечивающие гетеродимеризацию изменения. В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-область, подвергнутую сайленсингу.

[45] Также в данном документе раскрыт полинуклеотид, кодирующий однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе.

[46] Также в данном документе раскрыта композиция, содержащая один или несколько полинуклеотидов, кодирующих мезотелинсвязывающий белок, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой антитело к мезотелину или его фрагмент.

[47] Также в данном документе раскрыты рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе, а также клетка-хозяин, содержащая рекомбинантный вектор экспрессии.

[48] Также в данном документе раскрыты один или несколько рекомбинантных векторов экспрессии, содержащих один или несколько полинуклеотидов, кодирующих мезотелинсвязывающий белок, как описано в данном документе, а также клетка-хозяин, содержащая один или несколько рекомбинантных векторов экспрессии.

[49] Также в данном документе раскрыты синтетический иммунный рецептор, содержащий однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе, а также клетка, содержащая синтетический иммунный рецептор.

[50] Также в данном документе раскрыт конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство предназначен для применения в диагностическом применении, таком как, например, выявление или мониторинг заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина, такого как, например, пролиферативное заболевание или рак.

[51] Также в данном документе раскрыта фармацевтическая композиция,

содержащая мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство или антитело к мезотелину или его фрагмент и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

[52] Также в данном документе раскрыт способ лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы по меньшей мере одного мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

[53] Также в данном документе раскрыты мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела, как описано в данном документе, для применения в лечении заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина. В некоторых вариантах осуществления заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

[54] Также в данном документе раскрыто применение мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела, как описано в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина. В некоторых вариантах осуществления заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[55] **На фиг. 1А** изображены репрезентативные кривые зависимости от дозы связывания клеток CHO, например, для однодоменных антител по настоящему изобретению, где клетки CHO экспрессируют MSLN человека. **На фиг. 1В** изображены репрезентативные кривые зависимости от дозы связывания клеток HeLa, например, для однодоменных антител по настоящему изобретению. **На фиг. 1С** изображены репрезентативные кривые зависимости от дозы связывания клеток CHO, например, для однодоменных антител по настоящему изобретению, где клетки CHO не экспрессируют белок MSLN. **На фиг. 1А-1С** среднюю интенсивность флуоресценции PE представляли графически в виде кратности относительно фонового значения (клетки инкубировали только со вторичным детекторным антителом).

[56] **На фиг. 2А** представлена схематическая иллюстрация CAR-T-клеточной

структуры, содержащей внеклеточный связывающий домен для MSLN, который содержит последовательность антитела, описанную в данном документе.

[57] **На фиг. 2В** изображена активность Т-клеток, представляющих собой клетки Jurkat, трансфицированных с помощью CAR 394556 для MSLN, с CHO-huMSLN (**p=0,0075) и HeLa (**p=0,0015).

Определения

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

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

[60] Как используется в данном документе, термины в единственном числе означают "один или несколько", если специально не указано иное. Кроме того, выражения "один или несколько" и "по меньшей мере один" используются в данном документе взаимозаменяемо. Более того, если иное не требуется из контекста, термины в единственном числе включают множественные числа, а термины во множественном числе включают единственное число.

[61] Как используется в данном документе, термин "антитело" обычно относится к тетрамерному белку иммуноглобулина, содержащему два полипептида легкой цепи (таких как, например, полипептиды легкой цепи по приблизительно 25 кДа каждый) и два полипептида тяжелой цепи (такие как, например, полипептиды по приблизительно 50-70 кДа каждый). Термины "легкая цепь" или "легкая цепь иммуноглобулина", используемые в данном документе, относятся к полипептиду, содержащему от аминоконца к карбоксильному концу одну переменную область легкой цепи иммуноглобулина (VL) и один константный домен легкой цепи иммуноглобулина (CL). Константный домен легкой цепи (CL) иммуноглобулина может представлять собой константный домен каппа-цепи (κ) человека или константный домен лямбда-цепи (λ) человека. Термины "тяжелая цепь" или "тяжелая цепь иммуноглобулина" относятся к полипептиду, содержащему от

аминоконца к карбоксильному концу одну переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина (VH), константный домен 1 тяжелой цепи иммуноглобулина (CH1), шарнирную область иммуноглобулина, константный домен 2 тяжелой цепи иммуноглобулина (CH2), константный домен 3 тяжелой цепи иммуноглобулина (CH3) и необязательно константный домен 4 тяжелой цепи иммуноглобулина (CH4). Тяжелые цепи классифицируют как мю- (μ), дельта- (Δ), гамма- (γ), альфа- (α) и эpsilon- (ϵ) цепи, и они определяют изотип антитела как IgM, IgD, IgG, IgA и IgE соответственно. Классы антител IgG и IgA дополнительно делят на подклассы, а именно IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, а также IgA1 и IgA2 соответственно. Тяжелые цепи в антителах IgG, IgA и IgD содержат три константных домена (CH1, CH2 и CH3), тогда как тяжелые цепи в антителах IgM и IgE содержат четыре константных домена (CH1, CH2, CH3 и CH4). Константные домены тяжелой цепи иммуноглобулина могут происходить из иммуноглобулина любого изотипа, включая подтипы. Цепи антител связаны друг с другом посредством межполипептидных дисульфидных связей между доменом CL и доменом CH1 (т. е. между легкой и тяжелой цепями), а также между шарнирными областями двух тяжелых цепей антитела. В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему изобретению представляют собой человеческие антитела или гуманизированные антитела и могут относиться к типу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

[62] Переменные области цепей иммуноглобулина обычно характеризуются одинаковой общей структурой, состоящей из относительно консервативных каркасных областей (FR), соединенных тремя гиперпеременными областями, чаще называемыми "определяющими комплементарность областями" или CDR. CDR из двух цепей каждой пары тяжелой цепи и легкой цепи, как правило, выравниваются по каркасным областям с образованием структуры, которая специфически связывается со специфическим эпитопом белка-мишени (например, MSLN или CD3). Как правило, от N-конца к C-концу встречающиеся в природе переменные области как легкой, так и тяжелой цепей соответствуют следующему порядку этих элементов: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Была разработана система нумерации для присвоения номеров аминокислотам, которые занимают положения в каждом из этих доменов. Данная система нумерации определена в *Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (1987 и 1991, NIH, Бетесда, Мэриленд, США) или *Chothia & Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917*; *Chothia et al., 1989, Nature 342:878-883*. CDR и FR данного антитела можно идентифицировать с применением данной системы. Другие системы нумерации аминокислот в цепях иммуноглобулинов включают *IMGT[®]* (международная информационная система *ImMunoGeneTics*; *Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol. 29:185-203; 2005*) и *АНо* (*Honegger and Pluckthun, J. Mol. Biol. 309(3): 657-670; 2001*). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения "CDR" означает определяющую комплементарность область антитела, как определено в *Lefranc, MP et al., IMGT, the International ImMunoGeneTics database, Nucleic Acids Res., 27:209-212 (1999)*.

[63] Остатки "каркасной области" или "FR" представляют собой остатки

вариабельного домена, отличные от остатков гипервариабельной области/CDR, определенных в данном документе.

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

[65] В данном документе "антитело к мезотелину" представляет собой антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN).

[66] Термин "моноклональное антитело", используемый в данном документе, относится к антителу, полученному из популяции по сути гомогенных антител, т. е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. В отличие от поликлональных препаратов на основе антител, которые, как правило, включают различные антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), моноклональное антитело обычно направлено против единственной детерминанты антигена. В качестве неограничивающих примеров моноклональные антитела в соответствии с настоящим изобретением могут быть получены посредством методики гибридом, впервые описанной Kohler *et al.* (1975) *Nature* 256:495, и также могут быть получены посредством способов получения рекомбинантного белка (см., например, патент США № 4816567).

[67] Термин "человеческое антитело" при использовании в данном документе предназначен для включения антител, содержащих вариабельные и константные области, полученные из человеческих последовательностей иммуноглобулина зародышевого типа. Человеческие антитела по настоящему изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими последовательностями иммуноглобулина зародышевого типа (например, мутации, введенные посредством случайного или сайтспецифического мутагенеза *in vitro* или соматической мутации *in vivo*). Однако термин "человеческое антитело", используемый в данном документе, не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из последовательностей зародышевого типа млекопитающего другого вида, такого как, например, мышь, были трансплантированы в человеческие каркасные

последовательности.

[68] Как используется в данном документе, "фрагмент антитела" обычно относится к фрагменту полноразмерного антитела, такому как, например, VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, легкая цепь (VL-CL), Fd (VH-CH1), тяжелая цепь, Fab, Fab', F(ab')₂ или "r IgG" ("полуантитело", состоящее из тяжелой цепи и легкой цепи), или модифицированному фрагменту полноразмерного антитела, такому как, например, трехцепочечная антителоподобная молекула, антитело, содержащее только тяжелые цепи, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), di-scFv или bi(s)-scFv, scFv-Fc, scFv-застежка, одноцепочечный Fab (scFab), Fab₂, Fab₃, диатела, одноцепочечные диатела, тандемные диатела (Tandab), тандемные di-scFv, тандемные tri-scFv, "минитела", проиллюстрированные следующей структурой: (VH-VL-CH3)₂, (scFv-CH3)₂, ((scFv)₂-CH3+CH3), ((scFv)₂-CH3) или (scFv-CH3-scFv)₂, мультитела, такие как триатела или тетратела, и однодоменные антитела, такие как нанотела или антитела с одиночным переменным доменом, содержащие только одну переменную область, которая может представлять собой VHH, VH или VL, которая специфически связывается с антигеном или мишенью независимо от других переменных областей или доменов.

[69] Как используется в данном документе, термин "антитело, содержащее только тяжелые цепи" относится к димерному белку иммуноглобулина, состоящему из двух полипептидов тяжелой цепи (таких как, например, полипептиды тяжелой цепи, которые составляют приблизительно 50-70 кДа каждый). "Антитело, содержащее только тяжелые цепи" представляет собой фрагмент антитела, в котором отсутствуют два полипептида легкой цепи, обнаруживаемые в обычном антителе. В некоторых вариантах осуществления "антитело, содержащее только тяжелые цепи" представляет собой гомодимерное антитело, содержащее антигенсвязывающий домен VH и константные домены CH2 и CH3 при отсутствии домена CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена переменной области, состоящего из каркасной области 1, CDR1, каркасной области 2, CDR2, каркасной области 3, CDR3 и каркасной области 4. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и доменов CH2 и CH3. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена CH2. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, состоит из антигенсвязывающего домена, по меньшей мере части шарнирной области и домена CH3. В данном документе также предусмотрены антитела, содержащие только тяжелые цепи, в которых домен CH2 и/или CH3 является усеченным. Описанные в данном документе антитела, содержащие только тяжелые цепи, могут принадлежать к подклассу IgG, но в данный документ также включены антитела, содержащие только тяжелые цепи, принадлежащие к другим подклассам, таким как подклассы IgM, IgA, IgD и IgE. В некоторых вариантах осуществления антитело,

содержащее только тяжелые цепи, может принадлежать к подтипу IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, например, подтипу IgG1 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, принадлежит к подтипу IgG1 или IgG4, где один или несколько доменов СН модифицированы с изменением эффекторной функции антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, относится к подтипу IgG4, где один или несколько доменов СН модифицированы с изменением эффекторной функции антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело, содержащее только тяжелые цепи, относится к подтипу IgG1, где один или несколько доменов СН модифицированы с изменением эффекторной функции антитела. В данном документе дополнительно описаны модификации доменов СН, которые обеспечивают изменение эффекторной функции. Неограничивающие примеры антител, содержащих только тяжелые цепи, описаны, например, в WO 2018/039180, раскрытие которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[70] Как используется в данном документе, "однодоменное антитело" относится к одиночной полипептидной цепи, которая содержит всю или часть варибельного домена тяжелой цепи или всю или часть варибельного домена легкой цепи антитела. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой человеческое однодоменное антитело.

[71] Как используется в данном документе, термин "трехцепочечная антителоподобная молекула" или "ТСА" относится к антителоподобным молекулам, содержащим, состоящим по сути или состоящим из трех полипептидных субъединиц, две из которых содержат одну тяжелую и одну легкую цепь моноклонального антитела или антигенсвязывающие фрагменты цепей такого антитела, содержащие антигенсвязывающую область и по меньшей мере один домен СН, состоят по сути из них или состоят из них. Эта пара тяжелая цепь/легкая цепь характеризуется специфичностью связывания с первым антигеном. Третья полипептидная субъединица содержит антитело, содержащее только тяжелые цепи, которое содержит Fc-часть, содержащую домены СН2, и/или СН3, и/или СН4 при отсутствии домена СН1, и один или несколько антигенсвязывающих доменов (таких как, например, два антигенсвязывающих домена), которые связывают эпитоп второго антигена или другой эпитоп первого антигена, состоит по сути из них или состоит из них, где такой связывающий домен получен из варибельной области тяжелой или легкой цепи антитела или характеризуется идентичностью последовательности с ней. Части такой варибельной области могут кодироваться генными сегментами V_H и/или V_L , генными сегментами D и J_H или генными сегментами J_L . Варибельная область может кодироваться перегруппированными генными сегментами V_HDJ_H , V_LDJ_H , V_HJ_L или V_LJ_L .

[72] Как используется в данном документе, "антигенсвязывающий фрагмент" представляет собой часть антитела, в которой отсутствуют по меньшей мере некоторые из аминокислот, присутствующих в полноразмерной тяжелой цепи и/или легкой цепи, но которая все еще способна специфически связываться с антигеном. Антигенсвязывающий

фрагмент включает без ограничения одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), нанотело (например, домен VH антител, содержащих только тяжелые цепи верблюдовых; фрагмент VHH, см. Cortez-Retamozo *et al.*, Cancer Research, Vol. 64:2853-57, 2004), Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, Fv-фрагмент, Fd-фрагмент и фрагмент CDR могут быть получены из любого источника, принадлежащего к млекопитающим, такого как человек, мышь, крыса, кролик или верблюдовое.

[73] Путем расщепления антител папаином получают два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых фрагментами "Fab", каждый с одним антигенсвязывающим участком, и остаточный фрагмент "Fc", который содержит все, за исключением первого домена константной области тяжелой цепи иммуноглобулина. Fab-фрагмент содержит переменные домены легкой и тяжелой цепей, а также константный домен легкой цепи и первый константный домен (CH1) тяжелой цепи. Таким образом, "Fab-фрагмент" состоит из одной легкой цепи иммуноглобулина (переменной области (VL) и константной области (CL) легкой цепи) и домена CH1 и переменной области (VH) одной тяжелой цепи иммуноглобулина. Тяжелая цепь молекулы Fab не может образовывать дисульфидную связь с другой молекулой тяжелой цепи. "Fd-фрагмент" содержит домены VH и CH1 из тяжелой цепи иммуноглобулина. Fd-фрагмент представляет собой компонент тяжелой цепи Fab-фрагмента.

[74] "Fc-фрагмент" или "Fc-область" иммуноглобулина обычно содержит два константных домена, домен CH2 и домен CH3, и необязательно содержит домен CH4. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения мезотелинсвязывающий белок (такой как, например, фрагмент антитела к мезотелину, такой как, например, ТСА или антитело, содержащее только тяжелые цепи) содержит Fc-область из иммуноглобулина. Fc-область может представлять собой Fc-область из иммуноглобулина IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах осуществления Fc-область содержит домены CH2 и CH3 из иммуноглобулина IgG1 человека или IgG2 человека. Fc-область может сохранять эффекторную функцию, такую как связывание C1q, комплементзависимая цитотоксичность (CDC), связывание Fc-рецептора, антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность (ADCC) и фагоцитоз. В других вариантах осуществления Fc-область может быть модифицирована для снижения или устранения эффекторной функции.

[75] "Функциональная Fc-область" обладает "эффекторной функцией" Fc-области с нативной последовательностью. Неограничивающие примеры эффекторных функций включают связывание C1q; CDC; связывание Fc-рецептора; ADCC; ADCP; снижение экспрессии рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора) и т. п. Такие эффекторные функции обычно требуют, чтобы Fc-область взаимодействовала с рецептором, таким как, например, рецепторы FcγRI; FcγRIIA; FcγRIIB1; FcγRIIB2; FcγRIIA; FcγRIIB и низкоаффинный рецептор FcRn; и могут быть оценены с применением различных анализов, известных из уровня техники.

[76] "Мертвая" или "подвергнутая сайленсингу" Fc-область представляет собой

такую область, которая была мутирована с сохранением активности в отношении, например, продления периода полужизни в сыворотке крови, но которая не активирует высокоаффинный Fc-рецептор, или которая характеризуется сниженной аффинностью к Fc-рецептору.

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

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

[79] Как используется в данном документе, "обеспечивающие гетеродимеризацию изменения" относятся к изменениям в А- и В-цепях Fc-области (т. е. в двух цепях, составляющих Fc-область, где одна цепь обозначается в данном документе как "А"-цепь, а другая обозначается в данном документе как "В"-цепь), которые способствуют образованию гетеродимерных Fc-областей, т. е. Fc-областей, в которых А-цепь и В-цепь Fc-области не характеризуются наличием идентичных аминокислотных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления обеспечивающие гетеродимеризацию изменения могут быть асимметричными, т. е. А-цепь, характеризующаяся определенным изменением, может спариваться с В-цепью, характеризующейся другим изменением. Такие изменения способствуют гетеродимеризации и препятствуют гомодимеризации. Оценку того, образовались ли

гетеро- или гомодимеры, можно проводить, например, по различиям в размерах, определяемыми посредством электрофореза в полиакриламидном геле в тех ситуациях, когда одна полипептидная цепь представляет собой нефункциональную Fc, а другая представляет собой scFv-Fc. Одним из неограничивающих примеров таких парных обеспечивающих гетеродимеризацию изменений являются так называемые замены "выступы и впадины". См., например, патент США № 7695936 и публикацию заявки на патент США № 2003/0078385. Как используется в данном документе, Fc-область, которая содержит одну пару замен "выступы и впадины", содержит одну замену в А-цепи, а другую - в В-цепи. Например, было обнаружено, что следующие замены "выступы и впадины" в А- и В-цепях Fc-области IgG1 повышают образование гетеродимеров по сравнению с таковым, обнаруживаемым в случае немодифицированных А- и В-цепей, и могут применяться в неограничивающих вариантах осуществления настоящего изобретения: 1) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 2) Y407A в одной цепи и T366W в другой; 3) F405A в одной цепи и T394W в другой; 4) F405W в одной цепи и T394S в другой; 5) Y407T в одной цепи и T366Y в другой; 6) T366Y и F405A в одной цепи и T394W и Y407T в другой; 7) T366W и F405W в одной цепи и T394S и Y407A в другой; 8) F405W и Y407A в одной цепи и T366W и T394S в другой и 9) T366W в одном полипептиде Fc и T366S, L368A и Y407V в другом. В качестве альтернативы или дополнения к таким изменениям образованию гетеродимера могут способствовать замены, обеспечивающие создание новых дисульфидных мостиков. См., например, публикацию заявки на патент США № 2003/0078385. Такие изменения в Fc-области IgG1 включают без ограничения следующие замены: Y349C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E356C в другой; Y349C в одной полипептидной цепи Fc и E357C в другой; L351C в одной полипептидной цепи Fc и S354C в другой; T394C в одной полипептидной цепи Fc и E397C в другой или D399C в одной полипептидной цепи Fc и K392C в другой. В качестве альтернативы или дополнения, замены, изменяющие заряд одного или нескольких остатков, например, на поверхности границы взаимодействия СН3-СН3, могут усиливать образование гетеродимеров, как описано, например, в WO 2009/089004, которая включена в данный документ посредством ссылки. Такие замены в данном документе называются "заменами заряженных пар", а Fc-область, содержащая одну пару замен заряженных пар, содержит одну замену в А-цепи и другую замену в В-цепи. Неограничивающие примеры замен заряженных пар включают следующие: 1) K409D или K409E в одной цепи плюс D399K или D399R в другой; 2) K392D или K392E в одной цепи плюс D399K или D399R в другой; 3) K439D или K439E в одной цепи плюс E356K или E356R в другой и 4) K370D или K370E в одной цепи плюс E357K или E357R в другой. Кроме того, замены R355D, R355E, K360D или K360R в обеих цепях могут стабилизировать гетеродимеры при применении с другими обеспечивающими гетеродимеризацию изменениями. Специфические замены заряженных пар могут применяться либо самостоятельно, либо вместе с другими заменами заряженных пар. Конкретные примеры одиночных пар замен заряженных пар и их

комбинаций включают следующие: 1) K409E в одной цепи плюс D399K в другой; 2) K409E в одной цепи плюс D399R в другой; 3) K409D в одной цепи плюс D399K в другой; 4) K409D в одной цепи плюс D399R в другой; 5) K392E в одной цепи плюс D399R в другой; 6) K392E в одной цепи плюс D399K в другой; 7) K392D в одной цепи плюс D399R в другой; 8) K392D в одной цепи плюс D399K в другой; 9) K409D и K360D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 10) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и E357K в другой; 11) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K, E356K и E357K в другой; 12) K409D и K392D в одной цепи и D399K в другой; 13) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой; 14) K409D и K392D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 15) K409D и K370D в одной цепи плюс D399K и D357K в другой; 16) D399K в одной цепи плюс K409D и K360D в другой и 17) K409D и K439D в одной цепи плюс D399K и E356K в другой. Любое из этих обеспечивающих гетеродимеризацию изменений может быть применено в полипептидах, содержащих варианты Fc-областей, как описано в данном документе.

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

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

[82] Кроме того, можно сконструировать вариант Fc для удаления или значительного снижения эффекторных функций посредством замены (мутирования), делеции или добавления аминокислотных остатков для воздействия на связывание

комплемента или связывание Fc-рецептора. Например и без ограничения, делеция может происходить в участке связывания комплемента, таком как участок связывания C1q. Методики получения таких производных последовательностей Fc-фрагмента иммуноглобулина раскрыты в международных публикациях заявки на патент №№ WO 97/34631 и WO 96/32478. Кроме того, Fc-домен может быть модифицирован посредством фосфорилирования, сульфатирования, ацилирования, гликозилирования, метилирования, фарнезилирования, ацетилирования, амидирования и т. п.

[83] Антитела и фрагменты антител с пониженной эффекторной функцией включают без ограничения антитела с заменой в Fc-области одного или нескольких остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 в соответствии с системой нумерации согласно EU (см., например, патент США № 6737056). В некоторых вариантах осуществления варианты Fc-области с пониженной эффекторной функцией содержат замены в двух или более аминокислотных положениях 265, 269, 270, 297 и 327 в соответствии с системой нумерации согласно EU, включая так называемый мутант Fc "DANA" с заменой остатков 265 и 297 на аланин в соответствии с системой нумерации согласно EU (т. е. D265A и N297A в соответствии с системой нумерации согласно EU) (см., например, патент США № 7332581). В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области с пониженной эффекторной функцией содержит следующие две аминокислотные замены: D265A и N297A.

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

[85] В некоторых вариантах осуществления пролин в положении 329 (система

нумерации согласно EU) (P329) человеческой Fc-области дикого типа заменен на глицин, или аргинин, или аминокислотный остаток, имеющий достаточно большой размер для разрушения пролинового сэндвича на поверхности границы взаимодействия Fc/Fc γ -рецептора, который образуется между P329 в Fc и триптофановыми остатками W87 и W110 в Fc γ RIII (Sondermann et al., *Nature* 406, 267-273 (20 Jul. 2000)). В некоторых других вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная аминокислотная замена в варианте Fc-области представляет собой S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D или P331S. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна дополнительная аминокислотная замена представляет собой L234A и L235A Fc-области человеческого IgG1 или S228P и L235E Fc-области человеческого IgG4 в соответствии с системой нумерации согласно EU (см., например, патент США № 8969526, который включен посредством ссылки во всей своей полноте).

[86] В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области характеризуется тем, что P329 Fc-области человеческого IgG заменен на глицин, при этом вариант Fc-области содержит по меньшей мере две дополнительные аминокислотные замены L234A и L235A Fc-области человеческого IgG1 или S228P и L235E Fc-области человеческого IgG4, и при этом остатки нумеруются в соответствии с системой нумерации согласно EU (см., например, патент США № 8969526). В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области, содержащий замены P329G, L234A и L235A (система нумерации согласно EU) обладает пониженной аффинностью в отношении человеческих Fc γ RIIIA и Fc γ RIIA.

[87] В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области содержит тройную мутацию: аминокислотную замену в положении P329, мутации L234A и L235A в соответствии с системой нумерации согласно EU (P329/LALA) (см., например, патент США № 8969526). В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области содержит следующие аминокислотные замены: P329G, L234A и L235A в соответствии с системой нумерации согласно EU.

[88] В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела содержат вариант человеческой последовательности домена CH3 IgG4, содержащий мутацию T366W, который необязательно может называться в данном документе последовательностью с "выступом" CH3 IgG4. В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела содержат вариант человеческой последовательности домена CH3 IgG4, содержащий мутацию T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V, который необязательно может называться в данном документе последовательностью со "впадиной" CH3 IgG4. Мутации CH3 IgG4, описанные в данном документе, можно использовать любым подходящим способом, чтобы поместить "выступ" на первой константной области тяжелой цепи первого мономера в димере антитела и "впадину" на второй константной области тяжелой цепи второго мономера в димере антитела, за счет чего облегчается соответствующее спаривание (гетеродимеризация) требуемой пары полипептидных субъединиц тяжелой цепи в антителе.

[89] В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела

содержат полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариант Fc-области IgG4 человека, содержащий мутацию S228P, мутацию F234A, мутацию L235A и мутацию T366W ("выступ"). В некоторых вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела содержат полипептидную субъединицу тяжелой цепи, содержащую вариант Fc-области IgG4 человека, содержащий мутацию S228P, мутацию F234A, мутацию L235A, мутацию T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V ("впадина").

[90] "Fab'-фрагмент" представляет собой Fab-фрагмент, имеющий на С-конце домена CH1 один или несколько остатков цистеина из шарнирной области антитела.

[91] "F(ab')₂-фрагмент" представляет собой двухвалентный фрагмент, включающий два Fab'-фрагмента, связанных дисульфидным мостиком между тяжелыми цепями в шарнирной области.

[92] Фрагмент "Fv" представляет собой минимальный фрагмент, который содержит полный участок распознавания и связывания антигена из антитела. Данный фрагмент состоит из димера одной переменной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина и одной переменной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина в тесной нековалентной ассоциации. Именно в данной конфигурации три CDR каждой переменной области взаимодействуют, определяя антигенсвязывающий участок на поверхности димера VH-VL. Одна переменная область легкой цепи или тяжелой цепи (или половина Fv-фрагмента, содержащая только три CDR, специфических в отношении антигена) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем весь связывающий участок, содержащий как VH, так и VL.

[93] "Одноцепочечный переменный фрагмент" или "scFv-фрагмент" содержит области VH и VL антитела, причем эти области присутствуют в одной полипептидной цепи, и необязательно содержит пептидный линкер между областями VH и VL, который обеспечивает возможность для Fv формирования требуемой структуры для связывания антигена (см., например, Bird *et al.*, Science, Vol. 242:423-426, 1988 и Huston *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 85:5879-5883, 1988).

[94] "Нанотело" представляет собой переменную область тяжелой цепи антитела из тяжелых цепей. Такие переменные домены представляют собой наименьший полнофункциональный антигенсвязывающий фрагмент таких антител из тяжелых цепей с молекулярной массой всего лишь 15 кДа. См. Cortez-Retamozo *et al.*, Cancer Research 64:2853-57, 2004. Функциональные антитела из тяжелых цепей, лишенные легких цепей, встречаются в природе у некоторых видов животных, таких как акулы-няньки, ковровые акулы и представители *Camelidae*, такие как верблюды, дромадеры, альпаки и ламы. У этих животных антигенсвязывающий участок уменьшен до одного домена, домена VH_H. Эти антитела образуют антигенсвязывающие области с использованием только переменной области тяжелой цепи, т. е. эти функциональные антитела представляют собой гомодимеры тяжелых цепей, характеризующихся только структурой H₂L₂ (называемые "антитела из тяжелых цепей" или "HCAb"). По сообщениям, камелизированный VH_H рекомбинируется с константными областями IgG2 и IgG3,

которые содержат шарнир, домены CH2 и CH3 и не содержат домен CH1. Было обнаружено, что камелизированные домены VHH связываются с антигеном с высокой аффинностью (Desmyter *et al.*, J. Biol. Chem., Vol. 276:26285-90, 2001) и обладают высокой стабильностью в растворе (Ewert *et al.*, Biochemistry, Vol. 41:3628-36, 2002). Способы получения антител, содержащих камелизированные тяжелые цепи, описаны, например, в публикациях патентов США № 2005/0136049 и № 2005/0037421. Альтернативные остовы можно получить из человеческих доменов, подобных вариабельным, которые более точно соответствуют акульему остову V-NAR и могут служить каркасом для длинной проникающей петлевой структуры.

[95] Как используется в данном документе, термин "антигенсвязывающий белок" относится к белку, который специфически связывается с одним или несколькими антигенами-мишенями. Антигенсвязывающий белок обычно содержит антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с антигеном, и необязательно остов или часть каркаса, что дает возможность антигенсвязывающему фрагменту принимать конформацию, которая способствует связыванию антигенсвязывающего белка с антигеном. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок представляет собой антитело или фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок представляет собой белок, содержащий один или несколько антигенсвязывающих фрагментов, включенных в отдельную полипептидную цепь или в несколько полипептидных цепей. Например, антигенсвязывающие белки могут включать без ограничения диатело (см., например, EP 404097; WO 93/11161 и HoUinger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 90:6444-6448, 1993); интратело; доменное антитело (одиночный домен VL или VH или два или более доменов VH, соединенных пептидным линкером; см. Ward *et al.*, Nature, Vol. 341:544-546, 1989); макситело (2 scFv, слитые с Fc-областью, см. Fredericks *et al.*, Protein Engineering, Design & Selection, Vol. 17:95-106, 2004 и Powers *et al.*, Journal of Immunological Methods, Vol. 251:123-135, 2001); атриатело; тетратело; минитело (scFv, слитый с доменом CH3; см. Olafsen *et al.*, Protein Eng Des Sel., Vol. 17:315-23, 2004); пептидное антитело (один или несколько пептидов, присоединенных к Fc-области, см. WO 00/24782); линейное антитело (пара тандемных сегментов Fd (VH-CH1-VH-CH1), которые вместе с комплементарными полипептидами легкой цепи образуют пару антигенсвязывающих областей, см. Zzjate. *et al.*, Protein Eng., Vol. 8: 1057-1062, 1995); низкомолекулярный модульный иммунофармацевтический препарат (см. публикацию патента США № 20030133939); и слитые белки иммуноглобулинов (например, IgG-scFv, IgG-Fab, 2scFv-IgG, 4scFv-IgG, VH-IgG, IgG-VH и Fab-scFv-Fc; см., например, Spiess *et al.*, Mol. Immunol., Vol. 67(2 Pt A): 95-106, 2015).

[96] В данном документе "мезотелинсвязывающий белок" представляет собой антигенсвязывающий белок, который специфически связывается с мезотелином. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок может также связываться с одним или несколькими антигенами-мишенями, отличными от мезотелина.

[97] Антитела и фрагменты антитела (такие как, например, антитела, содержащие только тяжелые цепи, и молекулы, подобные трехцепочечным антителам) по настоящему изобретению включают полиспецифические антитела и фрагменты антитела, которые представляют собой антитела и фрагменты антитела, характеризующиеся более чем одной специфичностью связывания. Как используется в данном документе, термин "полиспецифический" включает "биспецифический" (т. е. две специфичности связывания) и "триспецифический" (т. е. три специфичности связывания), а также независимые показатели аффинности специфического связывания более высокого порядка, такие как полиэпитопная специфичность более высокого порядка.

[98] Как используется в данном документе, "выделенная" молекула (такая, как, например, антитело, фрагмент антитела, однодоменное антитело, мезотелинсвязывающий белок) представляет собой молекулу, которая была идентифицирована, отделена и/или выделена из компонента ее природного окружения. Загрязняющими компонентами ее природного окружения являются материалы, которые могут мешать диагностическим или терапевтическим вариантам применения молекулы, такие как, например, ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В некоторых вариантах осуществления выделенная молекула будет очищена (1) до более чем 95% по весу молекулы, как определено посредством метода Лоури, как, например, более чем 99% по весу, (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с помощью секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до гомогенности, определенной посредством SDS-PAGE, в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с использованием кумасси синего или, например, красителя на основе серебра. В некоторых вариантах осуществления выделенную молекулу получают посредством процесса, включающего по меньшей мере одну стадию очистки.

[99] Как используется в данном документе, "конъюгат антитело-лекарственное средство" относится к антителу или фрагменту антитела, которые связаны с другой функциональной единицей, такой как, например, полезная нагрузка, такая как, например, радионуклид.

[100] Как используется в данном документе, "эпитоп" представляет собой участок на поверхности молекулы антигена, с которым связываются отдельное антитело или фрагмент антитела. Обычно антиген имеет несколько или множество различных эпитопов и реагирует со многими различными антителами и фрагментами антитела. Термин, в частности, включает линейные эпитопы и конформационные эпитопы. Конформационные и неконформационные эпитопы различаются тем, что связывание с первыми, но не со вторыми, теряется в присутствии денатурирующих растворителей. Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа) и другие аминокислотные остатки, которые не участвуют непосредственно в связывании, такие как, например, аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются специфическим

антигенсвязывающим пептидом (другими словами, аминокислотный остаток находится в пределах зоны влияния специфического антигенсвязывающего пептида).

[101] Как используется в данном документе, "полиэпитопная специфичность" относится к способности специфически связываться с двумя или более различными эпитопами на одной или разных мишенях.

[102] Термины "субъект", "индивидуум" и "пациент" используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения оцениваемого млекопитающего для лечения и/или подлежащего лечению. Субъекты могут представлять собой людей, но также могут включать других млекопитающих, таких как, например, тех млекопитающих, которые применимы в качестве лабораторных моделей заболевания человека, таких как, например, мышь, крысу и т. п. В некоторых вариантах осуществления млекопитающее является человеком.

[103] Как используется в данном документе, термин "лечение" охватывает любое улучшение в отношении заболевания у субъекта, включая замедление или остановку прогрессирования заболевания у субъекта, уменьшение числа или тяжести симптомов заболевания или повышение частоты или продолжительности периодов времени, когда у пациента отсутствуют симптомы заболевания.

[104] Как используется в данном документе, термин "эффекторная клетка" относится к иммунной клетке, которая участвует в эффекторной фазе иммунного ответа, в отличие от фазы распознавания и фазы активации иммунного ответа. Иллюстративные иммунные клетки включают клетку миелоидного или лимфоидного происхождения, например, лимфоциты (такие как В-клетки и Т-клетки, в том числе цитолитические Т-клетки (CTL)), клетки-киллеры, естественные клетки-киллеры, макрофаги, моноциты, эозинофилы, полиморфноядерные клетки, такие как нейтрофилы, гранулоциты, тучные клетки и базофилы. Некоторые эффекторные клетки экспрессируют специфические Fc-рецепторы (FcR) и выполняют специфические иммунные функции. В некоторых вариантах осуществления эффекторная клетка способна индуцировать ADCC, как, например, естественная клетка-киллер. Например, моноциты, макрофаги, которые экспрессируют FcR, участвуют в специфическом уничтожении клеток-мишеней и презентировании антигенов другим компонентам иммунной системы или связывании с клетками, которые презентуют антигены.

[105] Как используется в данном документе, термин "вектор" относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она была связана. Одним типом вектора является "плазмида", которая относится к кольцевой двухнитевой петле ДНК, в которую могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другим типом вектора является вирусный вектор, где в вирусный геном могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Определенные векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую их встраивают (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную точку начала репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (такие как, например,

неэписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом хозяина. Более того, некоторые векторы способны управлять экспрессией генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы называются в данном документе "рекомбинантными векторами экспрессии". В некоторых вариантах осуществления векторы экспрессии для применения в методиках рекомбинантной ДНК представлены в виде плазмид.

[106] Как используется в данном документе, термин "клетка-хозяин" относится к клетке, в которую был введен вектор экспрессии. Следует понимать, что "клетка-хозяин" подразумевается как относящаяся не только к конкретной клетке-объекту, но также к потомству такой клетки. Поскольку определенные модификации могут происходить в последующих поколениях вследствие либо мутации, либо влияний окружающей среды, такое потомство фактически может не быть идентичным исходной клетке, но все же включено в объем термина "клетка-хозяин", используемого в данном документе. Иллюстративные рекомбинантные клетки-хозяева включают без ограничения трансфектомы, такие как клетки СНО, клетки НЕК293, клетки NS/0 и лимфоцитарные клетки.

[107] Термин " K_D " (M), используемый в данном документе, относится к равновесной константе диссоциации конкретного антигенсвязывающего взаимодействия, определенной посредством интерферометрии BioLayer с использованием прибора Octet QK384 (Fortebio Inc., Менло-Парк, Калифорния, США) в режиме кинетики. Например, сенсоры на основе антитела к мышиной Fc нагружают слитым антигеном на основе мышиной Fc и затем погружают в лунки, содержащие антитела, для измерения скоростей ассоциации, зависящих от концентрации (k_{on}). Скорости диссоциации антител (k_{off}) измеряют на последней стадии, когда сенсоры погружают в лунки, содержащие только буфер. K_D представляет собой отношение k_{off}/k_{on} . (Для получения дополнительной подробной информации см. Concepcion, J, et al., *Comb Chem High Throughput Screen*, 12(8), 791-800, 2009).

[108] Как используется в данном документе, молекула (такая как, например, белок, антитело или фрагмент антитела) "специфически связывается" с антигеном-мишенью, когда она характеризуется значительно более высокой аффинностью связывания в отношении данного антигена, а следовательно способна различать его, по сравнению с ее аффинностью в отношении других неродственных белков в аналогичных условиях анализа связывания. Молекулы, которые специфически связывают антиген, могут связываться с этим антигеном с равновесной константой диссоциации (K_D) $\leq 1 \times 10^{-6}$ M. Молекулы специфически связывают антиген с "высокой аффинностью", если K_D составляет $\leq 1 \times 10^{-8}$ M. В некоторых вариантах осуществления молекулы, описанные в данном документе, связываются с MSLN человека и/или CD3 человека с K_D , составляющей $\leq 5 \times 10^{-7}$ M. В некоторых вариантах осуществления молекулы, описанные в данном документе, связываются с MSLN человека и/или CD3 человека с K_D ,

составляющей $\leq 1 \times 10^{-7}$ М. В некоторых вариантах осуществления молекулы, описанные в данном документе, связываются с MSLN человека и/или CD3 человека с K_D , составляющей $\leq 5 \times 10^{-8}$ М. В некоторых вариантах осуществления молекулы, описанные в данном документе, связываются с MSLN человека и/или CD3 человека с K_D , составляющей $\leq 2 \times 10^{-8}$ М. В некоторых вариантах осуществления молекулы, описанные в данном документе, связываются с MSLN человека и/или CD3 человека с K_D , составляющей $\leq 1 \times 10^{-8}$ М. В некоторых вариантах осуществления молекулы, описанные в данном документе, связываются с MSLN человека и/или CD3 человека с K_D , составляющей $\leq 1 \times 10^{-9}$ М.

[109] Аффинность можно определить с применением различных методик, неограничивающим примером которых является анализ аффинности ELISA. В некоторых вариантах осуществления аффинность определяют с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса (например, анализа на основе BIAcore[®]). С применением данной методологии можно измерять константу скорости ассоциации (k_a в $M^{-1}s^{-1}$) и константу скорости диссоциации (k_d в s^{-1}). Затем равновесную константу диссоциации (K_D в М) можно рассчитать из соотношения кинетических констант скорости (k_d/k_a). В некоторых вариантах осуществления аффинность определяют с помощью кинетического метода, такого как анализ кинетического исключения (KinExA), как описано в Rathanaswami *et al.* Analytical Biochemistry, Vol. 373:52-60, 2008. С применением анализа KinExA можно измерять равновесную константу диссоциации (K_D в М) и константу скорости ассоциации (k_a в $M^{-1}s^{-1}$). Константа скорости диссоциации (k_d в s^{-1}) может быть вычислена из этих значений ($K_D \times k_a$). В других вариантах осуществления аффинность определяют с помощью метода интерферометрии биослоя, например, описанного в Kumaraswamy *et al.*, Methods Mol. Biol., Vol. 1278:165-82, 2015 и применяемого в системах Octet[®] (Pall ForteBio). Кинетические константы (k_a и k_d) и константы аффинности (K_D) могут быть рассчитаны в режиме реального времени с помощью способа интерферометрии биослоя.

[110] Как используется в данном документе, "[Y]-связывающая CDR VH" относится к CDR области VH, где область VH специфически связывается с мишенью [Y].

[111] Как используется в данном документе, термины "аминокислота" или "аминокислотный остаток" относятся к аминокислоте, имеющей общепринятое определение, такой как, например, аминокислота, выбранная из группы, состоящей из: аланина (Ala или A); аргинина (Arg или R); аспарагина (Asn или N); аспарагиновой кислоты (Asp или D); цистеина (Cys или C); глутамина (Gln или Q); глутаминовой кислоты (Glu или E); глицина (Gly или G); гистидина (His или H); изолейцина (Ile или I); лейцина (Leu или L); лизина (Lys или K); метионина (Met или M); фенилаланина (Phe или F); пролина (Pro или P); серина (Ser или S); треонина (Thr или T); триптофана (Trp или W); тирозина (Tyr или Y) и валина (Val или V), хотя, если требуется, можно использовать модифицированные, синтетические или редко встречающиеся аминокислоты. Обычно аминокислоты можно группировать как имеющие неполярную боковую цепь (например, Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val); отрицательно заряженную боковую цепь (например,

Asp, Glu); положительно заряженную боковую цепь (например, Arg, His, Lys) или незаряженную полярную боковую цепь (например, Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp и Tyr).

[112] Как используется в данном документе, "модификации аминокислот" включает без ограничения делеции, и/или вставки, и/или замены остатков в пределах аминокислотной последовательности. Для получения окончательной конструкции можно применять любую комбинацию делеции, вставки и замены при условии, что конечная конструкция обладает требуемыми характеристиками. Изменения аминокислот также могут изменять посттрансляционные процессы по отношению к конструкциям на основе антитела, такие как изменение количества или положения участков гликозилирования. Предпочтительные замены (или замещения) представляют собой консервативные замены. Однако любая замена (включая неконсервативные замены) допускается до тех пор, пока конечная конструкция сохраняет свою способность связываться с антигеном-мишенью.

[113] Специалисту в данной области будет понятно, что можно получать консервативные варианты антител и фрагментов антитела, описанных в данном документе. Такие консервативные варианты, используемые во фрагментах антитела, таких как dsFv-фрагменты или scFv-фрагменты, сохраняют важные аминокислотные остатки, необходимые для правильного сворачивания и стабилизации между областями V_H и V_L , и сохраняют характеристики заряда остатков, чтобы сохранить низкую pI и низкую токсичность молекул. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные замены (как, например, не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех или не более пяти аминокислотных замен) можно осуществлять в областях V_H и/или V_L для повышения выхода. Таблицы консервативных аминокислотных замен, предусматривающих функционально идентичные аминокислоты, хорошо известны специалисту в данной области, как, например, описанные в таблице A1.

Таблица A1. Иллюстративные консервативные замены

Исходная	Иллюстративные замены	Конкретные иллюстративные замены
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln, His, Asp, Lys, Arg	Gln
Asp (D)	Glu, Asn	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn, Glu	Asn
Glu (E)	Asp, Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe	Leu
Leu (L)	Норлейцин, Ile, Val, Met, Ala	Ile

Исходная	Иллюстративные замены	Конкретные иллюстративные замены
Lys (K)	Arg, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Leu, Met, Phe, Ala	Leu

[114] Как используется в данном документе, "синтетический иммунный рецептор" представляет собой искусственный клеточный рецептор (такой как, например, искусственный рецептор Т-клеток, искусственный рецептор НК-клеток), который сконструирован для экспрессии на иммунной эффекторной клетке и специфического связывания антигена-мишени.

[115] Как используется в данном документе, "процент (%) идентичности аминокислотной последовательности" или "процент (%) идентичности последовательности" по отношению к эталонной полипептидной последовательности определяется в виде процентной доли аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в эталонной полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, для достижения максимального процента идентичности последовательности и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательности. Выравнивание для целей определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, которые находятся в пределах компетенции специалиста в данной области, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалисты в данной области могут определить подходящие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине последовательностей, подлежащих сравнению. Однако для целей настоящего изобретения значения % идентичности аминокислотной последовательности генерируют с использованием компьютерной программы для сравнения последовательностей ALIGN-2.

[116] Термин "фармацевтическая композиция" относится к препарату, который представлен в такой форме, которая обеспечивает эффективную биологическую активность активного ингредиента, и который не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет введен состав.

Такие композиции являются стерильными. "Фармацевтически приемлемые" вспомогательные вещества (например, среды-носители, добавки) представляют собой вспомогательные вещества, которые целесообразно вводить субъекту-млекопитающему для обеспечения эффективной дозы используемого активного ингредиента.

[117] Как используется в данном документе, "стерильная" композиция является асептической или не содержит или по сути не содержит каких-либо живых микроорганизмов и их спор. Как используется в данном документе, "замороженная" композиция представляет собой композицию, имеющую температуру ниже 0°C.

[118] Как используется в данном документе, "стабильная" композиция представляет собой композицию, в которой содержащийся белок по сути сохраняет свою физическую стабильность, и/или химическую стабильность, и/или биологическую активность при хранении. В некоторых вариантах осуществления композиция по сути сохраняет свою физическую и химическую стабильность, а также свою биологическую активность при хранении. Срок хранения обычно выбирают, исходя из предполагаемого срока годности композиции. Из уровня техники доступны различные аналитические методики для измерения стабильности белка, и они описаны, например, в *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301. Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) и Jones. A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993). Стабильность можно измерить при выбранной температуре в течение выбранного периода времени. Стабильность можно оценить качественно и/или количественно с помощью множества разных способов, включая оценку образования агрегатов (например, с применением эксклюзионной хроматографии, посредством измерения мутности и/или посредством визуального осмотра); посредством оценки неоднородности заряда с применением катионообменной хроматографии, изображения капиллярного изоэлектрического фокусирования (icIEF) или капиллярного зонного электрофореза; анализа аминоконцевой или карбоксиконцевой последовательности; масс-спектрометрического анализа; анализа SDS-PAGE для сравнения восстановленного и интактного антитела; анализа пептидных карт (например, триптического или LYS-C); оценки биологической активности или антигенсвязывающей функции антитела и т. п. Нестабильность может предусматривать любой из следующих факторов: агрегация, дезамидирование (например, дезамидирование Asn), окисление (например, окисление Met), изомеризация (например, изомеризация Asp), отсечение/гидролиз/фрагментация (например, фрагментация шарнирной области), образование сукцинимиды, неспаренный(-ые) цистеин(-ы), удлинение N-конца, процессинг C-конца, различия в гликозилировании и т. п.

[119] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к однодоменному антителу, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN). В частности, в настоящем изобретении предусмотрено семейство близкородственных однодоменных антител, которые специфически связываются с мезотелином человека (MSLN). Однодоменные антитела этого семейства содержат набор последовательностей CDR, как определено в данном документе и как показано в **таблицах S1 и S2**, и

проиллюстрированы последовательностями вариабельной области тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 11-19, изложенными в **таблице S3**. Это семейство однодоменных антител обеспечивает ряд преимуществ, которые способствуют их применению в качестве терапевтического(-их) средства(средств) с клинической точки зрения. Как проиллюстрировано, однодоменные антитела включают представителей с рядом значений аффинности связывания, что позволяет выбрать конкретную последовательность с требуемой аффинностью связывания.

Таблица S1. Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2, CDR3 антитела к MSLN из тяжелых цепей

ID клона №	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
394556	GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	VTQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 3)
394541	GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	TSQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 4)
394582	GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	TTQNGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 5)
392026	GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	TSQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 4)
394573	GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	ATQNGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 6)
394607	GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGST (SEQ ID NO: 7)	ATQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 8)
394606	GGSISSSY (SEQ ID NO: 9)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	ATQNGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 6)
394610	GGSISSSY (SEQ ID NO: 9)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	TSQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 4)
394567	GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYYSGSI (SEQ ID NO: 10)	TSQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 4)

Таблица S2. Уникальные аминокислотные последовательности CDR антитела к MSLN из тяжелых цепей

SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
GGISISNSYY (SEQ ID NO: 1)	IYHSGNT (SEQ ID NO: 2)	VTQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 3)
GGSISSSY (SEQ ID NO: 9)	IYYSGST (SEQ ID NO: 7)	TSQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 4)

	IYYSGSI (SEQ ID NO: 10)	TTQNGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 5)
		ATQNGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 6)
		ATQDGVGATTTEEY (SEQ ID NO: 8)

Таблица S3. Аминокислотные последовательности варибельного домена антитела к MSLN из тяжелых цепей

ID клона №	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
394556	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCVTQDGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	11
394541	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYHSGNTYYNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCTSQDGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	12
394582	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCTTQNGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	13
392026	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCTSQDGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	14
394573	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCATQNGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	15
394607	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLSLNSVTAADT AVYYCATQDGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	16
394606	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCATQNGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	17
394610	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYHSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCTSQDGVGATTTEEYWGQGLVTVSS	18

394567	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGSIHYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCTSQDGVGATTTEEYWGQGLTVTVSS	19
--------	---	----

[120] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G G S I S X₁ S Y Y (SEQ ID NO: 53),

где X₁ представляет собой N или S;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность

I Y X₂ S G X₃ X₄ (SEQ ID NO: 68),

где X₂ представляет собой H или Y; X₃ представляет собой N или S; и X₄ представляет собой T или I; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

X₅ X₆ Q X₇ G V G A T T T E E Y (SEQ ID NO: 54),

где X₅ представляет собой T, V или A; X₆ представляет собой S или T; и X₇ представляет собой D или N.

[121] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 90% (такой как, например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

[122] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 11. В некоторых

ID NO: 4.

[132] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену, перечисленную в **таблице A1**.

[133] В некоторых вариантах осуществления CDR1 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления CDR2 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления CDR3 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой делецию аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой добавление аминокислоты.

[134] В некоторых вариантах осуществления CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления CDR2 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

[135] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

[136] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 2 и 4 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 2 и 5 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 2 и 6 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 7 и 8 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 9, 2 и 6 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 9, 2 и 4 соответственно; или

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 1, 10 и 4 соответственно.

[137] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 4 соответственно. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 5 соответственно. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 6 соответственно. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 7 и 8 соответственно. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 6 соответственно. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 4 соответственно. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 10 и 4 соответственно.

[138] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело

NO: 15. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 19.

[144] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело специфически связывается с MSLN человека.

[145] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 5 \times 10^{-7}$ М. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 1 \times 10^{-7}$ М. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 5 \times 10^{-8}$ М. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 2 \times 10^{-8}$ М. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 1 \times 10^{-8}$ М. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 1 \times 10^{-9}$ М.

[146] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело представляет собой человеческое однодоменное антитело.

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

[148] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к мезотелинсвязывающему белку, содержащему однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе.

[149] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G G S I S X₁ S Y Y (SEQ ID NO: 53),

где X₁ представляет собой N или S;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность

I Y X₂ S G X₃ X₄ (SEQ ID NO: 68),

где X₂ представляет собой H или Y; X₃ представляет собой N или S; и X₄ представляет собой T или I; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

X₅ X₆ Q X₇ G V G A T T T E E Y (SEQ ID NO: 54),

где X₅ представляет собой T, V или A; X₆ представляет собой S или T; и X₇ представляет собой D или N.

[150] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 90% (такой как, например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

[151] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область

тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 19.

[152] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8.

[153] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую: (i) CDR1 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 2; и

вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую: (i) CDR1 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 9; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 2; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 6.

[159] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую: (i) CDR1 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 9; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 2; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 4.

[160] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую: (i) CDR1 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 1; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 10; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (например, одной, двумя, нулем) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 4.

[161] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену, перечисленную в **таблице A1**.

[162] В некоторых вариантах осуществления CDR1 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления CDR2 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления CDR3 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна

аминокислотная модификация представляет собой аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой делецию аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой добавление аминокислоты.

[163] В некоторых вариантах осуществления CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах осуществления CDR2 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

[164] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

[165] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 4 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 5 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 6 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 7 и 8 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 6 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 4 соответственно; или

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 10 и 4 соответственно.

[166] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH), которая содержит CDR1 VH, CDR2 VH и

характеризующуюся по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 19.

[171] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), выбранную из SEQ ID NO: 11-19.

[172] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 19.

[173] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок специфически связывается с MSLN человека.

[174] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 5 \times 10^{-7}$ М. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок связывается с MSLN человека с K_D , составляющей $\leq 1 \times 10^{-7}$ М. В некоторых вариантах осуществления

дополнительно специфически связывается с CD3-эпсилон человека. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок связывается с эпитопом на CD3, содержащим по меньшей мере один остаток, выбранный из K73 и S83 CD3-эпсилон (SEQ ID NO: 69): и K82 и C93 CD3-дельта (SEQ ID NO: 70). В некоторых вариантах осуществления эпитоп CD3 содержит область CD3-дельта, определенную по K82, E83, S84, T85, V86, Q87, V88, H89, Y90, R91, M92, C93. В некоторых вариантах осуществления эпитоп CD3 содержит область CD3-эпсилон, определенную по K73, N74, 175, G76, S77, D78, E79, D80, H81, L82, S83. В некоторых вариантах осуществления эпитоп предусматривает конформационный эпитоп с остатками как CD3-дельта, так и CD3-эпсилон. В некоторых вариантах осуществления конформационный эпитоп содержит каждый из остатков K73 и S83 CD3ε; K82 и C93 CD3δ.

[179] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно содержит CD3-связывающую область VH. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок дополнительно содержит CD3-связывающую область VH, которая спарена с областью легкой цепи (LV).

[180] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH может принадлежать к семейству близкородственных однодоменных антител, которые специфически связываются с CD3 человека. Однодоменные антитела этого семейства содержат набор последовательностей CDR, как определено в данном документе и как показано в **таблицах S4** и **S5**, и проиллюстрированы последовательностями вариабельной области тяжелой цепи (VH) под SEQ ID NO: 31-48, изложенными в **таблице S6**. Полиспецифические молекулы, содержащие эти CD3-связывающие домены VH, и ассоциированный с ними вариабельный домен легкой цепи (как описано в **таблицах S7** и **S8**) обладают преимущественными свойствами, например, описанными в опубликованной заявке согласно PCT под номером WO2018/052503, раскрытие которой включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Любое из описанных в данном документе однодоменных антител, которые специфически связываются с MSLN, можно объединять с CD3-связывающими доменами и доменами фиксированной легкой цепи, описанными в данном документе, для создания полиспецифического мезотелинсвязывающего белка.

Таблица S4. Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2, CDR3 антитела к CD3 из тяжелых цепей

ID клона №	SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
312557	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYRLGGAY (SEQ ID NO: 27)
308261	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYRLGGAY (SEQ ID NO: 27)
308159	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)

308160	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSLGGAY (SEQ ID NO: 29)
308256	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSLGGAY (SEQ ID NO: 29)
312585	GFTFANYA (SEQ ID NO: 21)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
312614	GFTFNHYA (SEQ ID NO: 22)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
312583	GFTFADYA (SEQ ID NO: 23)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
312586	GFTFDNYA (SEQ ID NO: 24)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
312624	GFTFDNYA (SEQ ID NO: 24)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
312578	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
312620	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGSYSRGGAY (SEQ ID NO: 30)
312634	GFTFHNYA (SEQ ID NO: 25)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSLGGAY (SEQ ID NO: 29)
312579	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
312630	GFTFDNYA (SEQ ID NO: 24)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYSLGGAY (SEQ ID NO: 29)
312570	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYRLGGAY (SEQ ID NO: 27)
312567	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYRLGGAY (SEQ ID NO: 27)
312558	GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYRLGGAY (SEQ ID NO: 27)

Таблица S5. Уникальные аминокислотные последовательности CDR антитела к CD3 из тяжелых цепей

SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
GFTFDDYA (SEQ ID NO: 20)	ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26)	AKDSRGYGDYRLGGAY (SEQ ID NO: 27)

20)	NO: 26)	ID NO: 27)
GFTFANYA (SEQ ID NO: 21)		AKDSRGYGDYSRGGAY (SEQ ID NO: 28)
GFTFNXYA (SEQ ID NO: 22)		AKDSRGYGDYSLGGAY (SEQ ID NO: 29)
GFTFADYA (SEQ ID NO: 23)		AKDSRGYGSYSRGGAY (SEQ ID NO: 30)
GFTFDNYA (SEQ ID NO: 24)		
GFTFHXYA (SEQ ID NO: 25)		

Таблица S6. Аминокислотные последовательности варибельного домена антитела к CD3 из тяжелых цепей

ID клона №	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
312557	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYRLGGAYWGQGT LVTVSS	31
308261	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYRLGGAYWGQGT LVTVSS	32
308159	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYWGQGT LVTVSS	33
308160	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRPEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSS	34
308256	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSS	35

312585	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFANYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIDYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYWGQGT LVTVSS	36
312614	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRGEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYWGQGT LVTVSS	37
312583	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFADYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYWGQGT LVTVSS	38
312586	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYWGQGT LVTVSS	39
312624	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYWGQGT LVTVSS	40
312578	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYWGQGT LVTVSS	41
312620	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRPEDTALYYCAKDSRGYGSYSRGGAYWGQGT LVTVSS	42
312634	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFHNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSS	43
312579	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSL	44

	YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSRGGAYCGQGT LVTVSS	
312630	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDNYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNACKSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYSLGGAYWGQGT LVTVSS	45
312570	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNACKSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYRLGGAYWGQGT LVTVSS	46
312567	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCEASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNACKSL YLQMNSLRAEDTALYYCAKDSRGYGDYRLGGAYWGQGT LVTVSS	47
312558	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ APGKGLEWVSGISWNSGSGIGYADSVKGRFTISRDNACKSL YLQMNSLRPEDTALYYCAKDSRGYGDYRLGGAYWGQGT LVTVSS	48

Таблица S7. Аминокислотные последовательности CDR1, CDR2, CDR3 антитела к CD3 с плечом из фиксированных легких цепей

SEQ_aa_CDR1	SEQ_aa_CDR2	SEQ_aa_CDR3
QSVSSN (SEQ ID NO: 49)	GAS (SEQ ID NO: 50)	QQYNNWPWT (SEQ ID NO: 51)

Таблица S8. Аминокислотная последовательность переменного домена антитела к CD3 с плечом из фиксированных легких цепей

ID клона №	SEQ_aa_FR1_FR4	SEQ ID NO:
312325	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVY YCQQYNNWPWTFGQGTKVEIK	52

[181] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 20-25;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем

двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 27-30.

[182] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит: (i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 20; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[183] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит: (i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 20; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[184] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит: (i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 20; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[185] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит: (i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую

осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[189] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит: (i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 20; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 30. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[190] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит: (i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 25; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[191] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит: (i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 24; (ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и (iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя (как, например, нулем, одной или двумя) аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[192] В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену, перечисленную в **таблице A1**.

[193] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно любой из SEQ ID NO: 20-25. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно любой из SEQ ID NO: 27-30. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой консервативную аминокислотную замену. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой делецию аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой добавление аминокислоты.

[194] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20-25. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 25.

[195] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

[196] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27-30. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 27. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 28. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 30.

[197] В некоторых вариантах осуществления полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления полный набор из CDR 1, 2 и 3

(такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под SEQ ID NO: 48.

[199] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 31. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 32. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 36. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 38. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 39. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 40. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 42. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 43. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 44. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 45. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 46. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 48.

[200] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 27 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 28 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 29 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 21, 26 и 28 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 22, 26 и 28 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 23, 26 и 28 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 24, 26 и 28 соответственно;

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 30 соответственно;

(i) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 25, 26 и 29 соответственно; или

(j) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 24, 26 и 29 соответственно.

[201] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 27 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 28 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 29 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 21, 26 и 28 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 22, 26 и 28 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 23, 26 и 28 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 24, 26 и 28 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 30 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 25, 26 и 29 соответственно. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 24, 26 и 29 соответственно.

[202] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую

последовательность

G F T F X₈ X₉ Y A (SEQ ID NO: 55),

где X₈ представляет собой D, A или H, и X₉ представляет собой D или N;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26); и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

A K D S R G Y G X₁₀ Y X₁₁ X₁₂ G G A Y (SEQ ID NO: 56),

где X₁₀ представляет собой D или S; X₁₁ представляет собой R или S; и X₁₂ представляет собой L или R.

[203] В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH в CD3-связывающей области VH присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[204] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 90% (например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48.

[205] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 31. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 32. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 33. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 34. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 35. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающая область VH

по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 48.

[206] В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие последовательность под SEQ ID NO: 49, 50 и 51 соответственно. В некоторых вариантах осуществления последовательности CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL присутствуют в каркасной области человеческой VH.

[207] В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 80% (такой как, например, 80%, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 85% (такой как, например, 85%, 90%, 95%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 90% (такой как, например, 90%, 95%, по меньшей мере 95%) идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52. В некоторых вариантах осуществления переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52.

[208] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой антитело к мезотелину или его фрагмент.

[209] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой выделенное моноклональное антитело или его фрагмент.

[210] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой интактную молекулу IgG. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой интактную молекулу IgG1. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой интактную молекулу IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину представляет собой интактную молекулу IgG4.

[211] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой фрагмент антитела. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG1. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG2. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой иммунологически активную часть интактной молекулы IgG4. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой антитело,

содержащее только тяжелые цепи. В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела представляет собой ТСА.

[212] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину или его фрагмент дополнительно содержат Fc-область. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину или его фрагмент дополнительно содержат вариант Fc-области. В некоторых вариантах осуществления вариант Fc-области характеризуется по меньшей мере приблизительно 80% гомологией (например, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99%) с Fc-областью нативной последовательности.

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

[214] В некоторых вариантах осуществления Fc-область представляет собой Fc-

область, подвергнутую сайленсингу. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену одного или нескольких (как, например, двух или более) остатков 238, 265, 269, 270, 297, 327 и 329 Fc-области в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит замену, которая обеспечивает изменение гликозилирования. В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутацию, обеспечивающую ослабление эффекторной функции (такую как, например, N297A, N297G, мутацию DANA (D265A+N297A) или мутацию DANG (D265A+N297G) в области CH2). В некоторых вариантах осуществления Fc-область, подвергнутая сайленсингу, содержит мутации K322A и L234A/L235A.

[215] В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину или его фрагмент дополнительно содержат последовательность константной области тяжелой цепи при отсутствии последовательности CH1. В некоторых вариантах осуществления антитело к мезотелину или его фрагмент дополнительно содержат константную область тяжелой цепи, содержащую шарнирную область, домен CH2 и домен CH3. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность шарнирной области человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 61). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит вариант последовательности шарнирной области человеческого IgG4, содержащий мутацию S228P (SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 содержит последовательность домена CH2 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 63). В некоторых вариантах осуществления домен CH2 предусматривает вариант домена CH2 человеческого IgG4, содержащий мутацию F234A, мутацию L235A или как мутацию F234A, так и мутацию L235A. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит последовательность домена CH3 человеческого IgG4 дикого типа (SEQ ID NO: 65). В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариант последовательности домена CH3 человеческого IgG4, содержащую мутацию T366W. В некоторых вариантах осуществления домен CH3 содержит вариант последовательности домена CH3 человеческого IgG4, содержащий T366S, мутацию L368A и мутацию Y407V.

[216] В **таблице S9** представлены последовательности для последовательностей Fc-области человеческих IgG1 и IgG4, а также версии этих последовательностей, которые включают дополнительные мутации (варианты), которые могут придавать дополнительные требуемые свойства антителам к мезотелину или их фрагментам, описанным в данном документе. В **таблице S10** представлены примеры последовательностей CD3-эпсилон и CD3-дельта человека.

Таблица S9. Последовательности Fc-областей IgG1 и IgG4 человека и их варианты

Название полипептида	Аминокислотная последовательность
----------------------	-----------------------------------

<p>IgG1 человека (UniProt № P01857)</p>	<p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 57)</p>
<p>IgG4 человека (UniProt № P01861)</p>	<p>ASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 58)</p>
<p>IgG1 человека с мутациями, обеспечивающими сайленсинг (Fc- область)</p>	<p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 59)</p>

IgG4 человека с мутациями, обеспечивающими сайленсинг (Fc-область)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVD HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRW QEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 60)
Шарнирная область IgG4 человека (дикого типа)	ESKYGPPCPSCPA (SEQ ID NO: 61)
Шарнирная область IgG4 человека (S228P)	ESKYGPPCP <u>P</u> CPA (SEQ ID NO: 62)
Последовательность домена CH2 IgG4 человека (дикого типа)	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO: 63)
Последовательность домена CH2 IgG4 человека (F234A, L235A)	APE <u>AA</u> GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK (SEQ ID NO: 64)
Последовательность домена CH3 IgG4 человека (дикого типа)	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 65)
Последовательность домена CH3 IgG4 человека ("выступ", T366W)	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL <u>W</u> CLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 66)

Последовательность домена CH3 IgG4 человека ("впадина", T366S, L368A, Y407V)	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL <u>SCA</u> VKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL <u>YS</u> RRLTVDKSRWQEGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 67)
--	--

Таблица S10. Иллюстративные последовательности CD3-эпсилон и CD3-дельта человека

Название полипептида	Аминокислотная последовательность
CD3-эпсилон человека	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSIS GTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSL KEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMD VMSVATIVIVDICITGGLLLL VYYWSKNRKA KAKPVTRGAGA GGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPKRGQRDLYSGLNQRRRI (SEQ ID NO: 69)
CD3-дельта человека	MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWV EGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQV HYRMCQSCVELDPATVAGIIVTDVIATLLLALGVFCFAGHETG RLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK (SEQ ID NO: 70)

[217] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к полинуклеотиду, кодирующему однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе.

[218] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к композиции, содержащей один или несколько полинуклеотидов, кодирующих мезотелинсвязывающий белок, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок представляет собой антитело к мезотелину или его фрагмент.

[219] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к рекомбинантному вектору экспрессии, содержащему однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе, а также клетке-хозяину, содержащей рекомбинантный вектор экспрессии.

[220] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к одному или нескольким рекомбинантным векторам экспрессии, содержащим один или несколько полинуклеотидов, кодирующих мезотелинсвязывающий белок, как описано в данном документе, а также клетке-хозяину, содержащей один или несколько рекомбинантных векторов экспрессии.

[221] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к синтетическому иммунному рецептору, содержащему однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе, а также клетке, содержащей синтетический иммунный рецептор.

[222] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело соединено с трансмембранным доменом посредством шарнирной области и дополнительно соединено с костимулирующим доменом, таким как, например, функциональный сигнальный домен, полученный из OX40, CD27, CD28, CD5, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278) или 4-1BB. В некоторых вариантах осуществления синтетический иммунный рецептор дополнительно содержит последовательность, кодирующую внутриклеточный сигнальный домен, такой как, например, 4-1BB и/или CD3-дзета.

[223] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к получению мезотелинсвязывающего белка (такого как, например, антитело к мезотелину или его фрагмент), описанного в данном документе, включающему выращивание описанной в данном документе клетки в условиях, позволяющих экспрессию антитела, и выделение мезотелинсвязывающего белка (такого как, например, антитело к мезотелину или его фрагмент) из клетки.

[224] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к конъюгату антитело-лекарственное средство, содержащему однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой химиотерапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство в конъюгате антитело-лекарственное средство представляет собой радионуклид. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство предназначен для применения в диагностическом применении, таком как, например, выявление или мониторинг заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина, такого как, например, пролиферативное заболевание или рак.

[225] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к фармацевтической композиции, содержащей мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство или антитело к мезотелину или его фрагмент и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

[226] Неограничивающие примеры фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включают адъюванты, твердые носители, воду, буферы или другие носители, применяемые в данной области техники для хранения терапевтических компонентов, или их комбинации.

[227] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть получены для хранения путем смешивания белков, характеризующихся требуемой степенью чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами (см., например, Remington's

Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)), как, например, в форме лиофилизированных составов или водных растворов. Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и включают без ограничения буферы, такие как фосфатный, цитратный и буферы на основе других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как, например, октадецилдиметилбензиламмония хлорид, гексаметония хлорид, бензалкония хлорид, бензетония хлорид, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен, катехин, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные полипептиды (менее чем приблизительно 10 остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие средства, такие как EDTA; сахара, такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок) и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, PLURONIC™ или полиэтиленгликоль (PEG).

[228] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может содержать материалы составов для модификации, поддержания или сохранения, например, pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проникновения композиции. В таких вариантах осуществления подходящие материалы составов включают без ограничения аминокислоты (такие как, например, глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин); противомикробные препараты; антиоксиданты (такие как, например, аскорбиновая кислота, сульфит натрия или гидросульфит натрия); буферы (такие как, например, борат, бикарбонат, Tris-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты); объемообразующие средства (такие как, например, маннит или глицин); хелатирующие средства (такие как, например, этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA)); комплексообразующие средства (такие как, например, кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин); наполнители; моносахариды; дисахариды и другие углеводы (такие как, например, глюкоза, манноза или декстрины); белки (такие как, например, сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); красители, ароматизаторы и разбавители; эмульгирующие средства; гидрофильные полимеры (такие как, например, поливинилпирролидон); полипептиды с низким молекулярным весом; солеобразующие противоионы (такие как, например, натрий); консерванты (такие как, например, хлорид бензалкония, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенетиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или перекись водорода); растворители (такие как, например, глицерин, пропиленгликоль или

полиэтиленгликоль); сахарные спирты (такие как, например, маннит или сорбит); суспендирующие средства; поверхностно-активные вещества или смачивающие средства (такие как, например, плуроники, ПЭГ, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как, например, полисорбат 20, полисорбат 80, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал); средства, повышающие стабильность (такие как, например, сахароза или сорбит); средства, повышающие тоничность (такие как, например, галогениды щелочных металлов, такие как, например, хлорид натрия или калия, маннит, сорбит); средства доставки; разбавители; вспомогательные вещества и/или фармацевтические адьюванты. Способы и подходящие материалы для составления молекул для терапевтического применения известны в областях фармацевтики и описаны, например, в REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают без ограничения жидкие, замороженные и лиофилизированные композиции.

[229] Фармацевтические композиции для парентерального введения предпочтительно являются стерильными и по сути изотоническими и изготавливаются в соответствии с условиями надлежащей производственной практики (GMP). Фармацевтические композиции могут быть предусмотрены в виде стандартной лекарственной формы (такой как, например, дозировка для однократного введения). Состав зависит от выбранного пути введения. Мезотелинсвязывающие белки (такие как, например, антитела к мезотелину и их фрагменты) и конъюгаты антитело-лекарственное средство, описанные в данном документе, можно вводить путем внутривенной инъекции или инфузии или подкожно. Для введения с помощью инъекции мезотелинсвязывающие белки (такие как, например, антитела к мезотелину и их фрагменты) и конъюгаты антитело-лекарственное средство, описанные в данном документе, могут быть составлены в водных растворах, предпочтительно в физиологически совместимых буферах, чтобы уменьшить дискомфорт в месте инъекции. Раствор может содержать носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы, как обсуждается выше. Альтернативно, мезотелинсвязывающие белки (такие как, например, антитела к мезотелину и их фрагменты) и конъюгаты антитело-лекарственное средство, описанные в данном документе, могут находиться в лиофилизированной форме для восстановления подходящей средой-носителем, например, стерильной апиrogenной водой, перед применением. Лيوфилизированный материал можно восстанавливать, например, в бактериостатической воде для инъекций (BWFI), физиологическом солевом растворе, фосфатно-солевом буферном растворе (PBS) или в том же составе, в котором белок находился перед лиофилизацией.

[230] Составы на основе антител раскрыты, например, в патенте США № 9034324. Идентичные составы можно использовать для антител к мезотелину и их фрагментов, описанных в данном документе. Составы на основе антител для подкожного применения введения, описаны, например, в US20160355591 и US20160166689.

[231] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к

способу лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина, у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту терапевтически эффективной дозы по меньшей мере одного мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела, как описано в данном документе.

[232] В некоторых вариантах осуществления введение в результате приводит к замедлению или подавлению роста опухоли или метастазирования экспрессирующего мезотелин рака. Измерение снижения роста опухолевых клеток можно определить посредством многих различных методик, которые хорошо известны из уровня техники. Неограничивающие примеры включают непосредственное измерение размера опухоли, измерение массы удаленной опухоли и сравнение с контрольными субъектами, измерение посредством методик визуализации (таких как, например, СТ или MRI), в которых могут применяться или не применяться изотопы или люминесцентные молекулы (такие как, например, люцифераза) для расширенного анализа и т. п. В некоторых вариантах осуществления введение по меньшей мере одного мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела приводит к снижению роста опухолевых клеток *in vivo* по сравнению с контрольным антигенсвязывающим средством на по меньшей мере приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%, при этом снижение роста опухоли на приблизительно 100% указывает на полный ответ и исчезновение опухоли. В некоторых вариантах осуществления введение по меньшей мере одного мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела приводит к снижению роста опухолевых клеток *in vivo* по сравнению с контрольным антигенсвязывающим средством на приблизительно 50-100%, приблизительно 75-100% или приблизительно 90-100%. В некоторых вариантах осуществления введение по меньшей мере одного мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела приводит к снижению роста опухолевых клеток *in vivo* по сравнению с контрольным антигенсвязывающим средством на приблизительно 50-60%, приблизительно 60-70%, приблизительно 70-80%, приблизительно 80-90% или приблизительно 90-100%.

[233] Эффективные дозы для лечения заболевания варьируются в зависимости от многих различных факторов, в том числе средств введения, целевого участка, физиологического состояния пациента, того, является ли пациент человеком или животным, других вводимых лекарственных препаратов и того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Обычно пациентом является человек, но также можно лечить отличных от человека млекопитающих, например, домашних животных, таких как собаки, кошки, лошади и т. д., лабораторных млекопитающих, таких как кролики, мыши, крысы и т. д., и т. п. Лечебные дозировки можно подбирать для оптимизации безопасности и эффективности.

[234] Уровни дозировки могут быть легко определены обычным квалифицированным клиницистом и могут быть модифицированы по мере необходимости, например, по мере необходимости для модифицирования ответа субъекта на средство терапии. Количество активного ингредиента, которое можно объединять с материалами-носителями для получения единичной лекарственной формы, варьируется в зависимости от хозяина, подлежащего лечению, и конкретного способа введения.

[235] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела вводят субъекту парентерально. Парентеральное введение относится к введению молекулы путями, отличными от желудочно-кишечного тракта, и может включать внутривенное, внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрикожное, подкожное, внутримозговое, интрацеребровентрикулярное и интратекальное введение.

[236] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела вводят субъекту внутривенно.

[237] Парентеральное или внутривенное введение можно осуществлять с помощью инъекции (например, с использованием иглы и шприца) или с помощью инфузии (например, посредством катетера и насосной системы). Предполагается, что введение в соответствии с настоящим изобретением осуществляют посредством внутривенной инъекции или посредством внутривенной инфузии. Обычно внутривенную (IV) инфузию вводят посредством линии катетера, порт-системы или катетера (маленькой гибкой трубки), такого как центральный венозный доступ или центральный венозный катетер (CVC), который представляет собой катетер, вставляемый в крупную вену, или периферический венозный катетер (PVC), который представляет собой катетер, вставляемый в периферическую вену. Как правило, катетеры или линии катетеров можно устанавливать в вены шеи (внутреннюю яремную вену), груди (подключичную вену или подмышечную вену), паха (бедренную вену) или через вены рук (также известные как линия PICC или периферически вводимые центральные катетеры). Центральные IV линии катетеров имеют катетеры, которые продвигаются через вену и входят в крупную центральную вену, обычно в верхнюю полую вену, нижнюю полую вену или даже в правое предсердие сердца. Периферическая внутривенная линия катетера (PIV) используется на периферических венах (венах рук, кистей, ног и ступней). Порт представляет собой центральную венозную линию, которая не имеет внешнего разъема; вместо этого у него имеется небольшой резервуар, покрытый силиконовой резиной, и который имплантируется под кожу. Лекарственный препарат вводят периодически, вставляя небольшую иглу через кожу, прокалывая силикон, в резервуар. Когда иглу вынимают, крышка резервуара повторно закрывается сама. Чехол выдерживает сотни уколов иглами в течение всего срока службы.

[238] В некоторых вариантах осуществления заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака.

[239] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

[240] Введение мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела, как описано в данном документе, также может сопровождаться введением других противораковых средств или терапевтических средств лечения (таких как хирургическая резекция опухоли). Любое подходящее противораковое средство можно вводить в комбинации с мезотелинсвязывающими белками, конъюгатами антитело-лекарственное средство, антителами к мезотелину или фрагментами антител, раскрытыми в данном документе. Иллюстративные противораковые средства включают без ограничения химиотерапевтические средства, такие как, например, ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антимаболиты, интеркалирующие антибиотики, ингибиторы фактора роста, ингибиторы клеточного цикла, ферменты, ингибиторы топоизомеразы, средства против выживания, модификаторы биологического ответа, антигормоны (такие как, например, антиандрогены) и средства, препятствующие ангиогенезу. Другие противораковые средства лечения включают лучевую терапию и другие антитела, которые специфически нацеливаются на раковые клетки.

[241] В некоторых вариантах осуществления мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела вводят до, во время или после хирургического вмешательства.

[242] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к мезотелинсвязывающему белку, конъюгату антитело-лекарственное средство, антителу к мезотелину или фрагменту антитела, как описано в данном документе, для применения в лечении заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина. В некоторых вариантах осуществления заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

[243] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к применению мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела, как описано в данном документе, в изготовлении лекарственного препарата для лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина. В некоторых вариантах осуществления заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

[244] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к способу подтверждения диагноза рака у субъекта путем приведения в контакт образца от

субъекта, у которого диагностирован рак, с однодоменным антителом или мезотелинсвязывающим белком, описанными в данном документе, и выявления связывания однодоменного антитела или мезотелинсвязывающего белка с образцом. Усиление связывания однодоменного антитела или мезотелинсвязывающего белка с образцом по сравнению со связыванием однодоменного антитела или мезотелинсвязывающего белка с контрольным образцом подтверждает диагноз рака. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает приведение в контакт детекторного антитела, которое специфически распознает однодоменное антитело или мезотелинсвязывающий белок, с образцом и выявление связывания детекторного антитела.

[245] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к способу выявления рака, ассоциированного с экспрессией мезотелина у субъекта. Способ включает приведение образца от субъекта в контакт с однодоменным антителом или мезотелинсвязывающим белком, описанными в данном документе, и выявление связывания однодоменного антитела или мезотелинсвязывающего белка с образцом. Усиление связывания однодоменного антитела или мезотелинсвязывающего белка с образцом по сравнению с контрольным образцом обеспечивает выявление рака у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают приведение в контакт детекторного антитела, которое специфически распознает однодоменное антитело или мезотелинсвязывающий белок, с образцом и выявление связывания детекторного антитела.

[246] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к набору, содержащему мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела, как описано в данном документе, или фармацевтическую композицию, содержащую их, и инструкции по применению. Набор может дополнительно содержать по меньшей мере один дополнительный реагент, такой как, например, химиотерапевтическое лекарственное средство и т. д. Наборы обычно включают этикетку, указывающую на предполагаемое применение содержимого набора. Термин "этикетка", используемый в данном документе, предусматривает любой письменный или записанный материал, поставляемый в наборе или вместе с набором или иным образом сопровождающий набор.

[247] В некоторых вариантах осуществления набор представляет собой набор для диагностики. В некоторых вариантах осуществления предусмотрен набор для выявления мезотелина в биологическом образце, таком как, например, образец крови или образец ткани. Например, чтобы подтвердить диагноз рака у субъекта можно осуществить биопсию для получения образца ткани для гистологического исследования. Альтернативно можно получить образец крови для выявления присутствия растворимого белка мезотелина или фрагмента. Наборы для выявления полипептида будут обычно содержать однодоменное антитело или мезотелинсвязывающий белок в соответствии с настоящим изобретением. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело

или мезотелинсвязывающий белок являются мечеными (как, например, флуоресцентной, радиоактивной или ферментативной меткой).

[248] В некоторых вариантах осуществления набор может дополнительно содержать средства для выявления метки (такие как, например, ферментные субстраты для ферментативных меток, наборы фильтров для выявления флуоресцентных меток, соответствующие вторичные метки, такие как вторичное антитело или т. п.). Наборы могут дополнительно включать буферы и другие реагенты, обычно используемые для осуществления на практике конкретного способа. Такие наборы и соответствующее содержимое хорошо известны специалистам в данной области.

Неограничивающие иллюстративные варианты осуществления

[249] Без ограничения некоторые иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения включают следующее.

1. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

2. Однодоменное антитело в соответствии с вариантом осуществления 1, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

3. Однодоменное антитело в соответствии с вариантами осуществления 1 или 2, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

4. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-3, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

5. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8.

6. Однодоменное антитело в соответствии с вариантом осуществления 5, где

каждая аминокислотная модификация, если таковая имеется, представляет собой консервативную аминокислотную замену.

7. Однодоменное антитело в соответствии с вариантами осуществления 5 или 6, где CDR1 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9.

8. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 5-7, где CDR2 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10.

9. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 5-8, где CDR3 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8.

10. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 7-9, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой аминокислотную замену.

11. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 7-9, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой консервативную аминокислотную замену.

12. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 7-9, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой делецию аминокислоты.

13. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 7-9, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой добавление аминокислоты.

14. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-13, где CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9.

15. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-14, где CDR2 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10.

16. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-15, где CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

17. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G G S I S X₁ S Y Y (SEQ ID NO: 53),

где X_1 представляет собой N или S;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность

I Y X_2 S G X_3 X_4 (SEQ ID NO: 68),

где X_2 представляет собой H или Y; X_3 представляет собой N или S; и X_4 представляет собой T или I; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

X_5 X_6 Q X_7 G V G A T T T E E Y (SEQ ID NO: 54),

где X_5 представляет собой T, V или A; X_6 представляет собой S или T; и X_7 представляет собой D или N.

18. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

19. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 4 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 5 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 6 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 7 и 8 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 6 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 4 соответственно; или

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 10 и 4 соответственно.

20. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

21. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-20, где последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH присутствуют в каркасной области человеческой VH.

22. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19.

23. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-22, где область VH характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19.

24. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-23, где область VH характеризуется по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19.

25. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-24, где область VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19.

26. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), выбранную из SEQ ID NO: 11-19.

27. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-26, где однодоменное антитело специфически связывается с MSLN человека.

28. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-27, где однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М.

29. Однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-28, где однодоменное антитело представляет собой выделенное однодоменное антитело.

30. Мезотелинсвязывающий белок, содержащий однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-28.

31. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с вариантом осуществления 30, где мезотелинсвязывающий белок специфически связывается с MSLN человека.

32. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с вариантами осуществления 30 или 31, где мезотелинсвязывающий белок связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М.

33. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-32, где мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3.

34. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-33, где мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3 человека.

35. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов

осуществления 30-34, где мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3-эпсилон человека.

36. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-34, где мезотелинсвязывающий белок связывается с эпитопом на CD3, содержащим по меньшей мере один остаток, выбранный из K73 и C83 CD3-эпсилон (SEQ ID NO: 69) и K82 и C93 CD3-дельта (SEQ ID NO: 70).

37. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с вариантом осуществления 36, где эпитоп на CD3 содержит область CD3-дельта, определенную по K82, E83, S84, T85, V86, Q87, V88, H89, Y90, R91, M92, C93.

38. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с вариантами осуществления 36 или 37, где эпитоп на CD3 содержит область CD3-эпсилон, определенную по K73, N74, I75, G76, S77, D78, E79, D80, H81, L82, S83.

39. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 36-38, где эпитоп содержит конформационный эпитоп с остатками как CD3-дельта, так и CD3-эпсилон.

40. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 36-39, где конформационный эпитоп содержит каждый из остатков K73 и S83 CD3 ϵ ; K82 и C93 CD3 δ .

41. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-40, где мезотелинсвязывающий белок представляет собой моноклональное антитело.

42. Мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-41, где мезотелинсвязывающий белок представляет собой выделенное моноклональное антитело.

43. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-28.

44. Антитело к мезотелину, содержащее однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-28.

45. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантом осуществления 44, где антитело к мезотелину связывается с эффекторной клеткой.

46. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантами осуществления 44 или 45, где антитело к мезотелину является полиспецифическим.

47. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-46, где антитело к мезотелину дополнительно специфически связывается с опухолеспецифическим антигеном, отличным от MSLN.

48. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-47, где антитело к мезотелину является биспецифическим.

49. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-48, где антитело к мезотелину дополнительно специфически связывается с CD3.

50. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления

44-49, где антитело к мезотелину дополнительно специфически связывается с CD3 человека.

51. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-50, где антитело к мезотелину дополнительно специфически связывается с CD3-эпсилон человека.

52. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-50, где антитело к мезотелину связывается с эпитопом на CD3, содержащим по меньшей мере один остаток, выбранный из K73 и C83 CD3-эпсилон (SEQ ID NO: 69) и K82 и C93 CD3-дельта (SEQ ID NO: 70).

53. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантом осуществления 52, где эпитоп на CD3 содержит область CD3-дельта, определенную по K82, E83, S84, T85, V86, Q87, V88, H89, Y90, R91, M92, C93.

54. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантами осуществления 52 или 53, где эпитоп на CD3 содержит область CD3-дельта, определенную по K73, N74, 175, G76, S77, D78, E79, D80, H81, L82, S83.

55. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 52-54, где эпитоп содержит конформационный эпитоп с остатками как CD3-дельта, так и CD3-эпсилон.

56. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантом осуществления 55, где конформационный эпитоп содержит каждый из остатков K73 и S83 CD3ε; K82 и C93 CD3δ.

57. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-56, где антитело к мезотелину дополнительно содержит CD3-связывающую область VH.

58. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-57, где антитело к мезотелину представляет собой антитело IgG4.

59. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-57, где антитело к мезотелину представляет собой антитело IgG1.

60. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-58, где антитело к мезотелину дополнительно содержит CD3-связывающую область VH, которая спарена с переменной областью легкой цепи (LV).

61. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантами осуществления 57 или 60, где CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 20-25;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 27-30.

62. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантом осуществления 61, где CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно любой из SEQ ID NO: 20-25.

63. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантами осуществления 61 или 62, где CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно SEQ ID NO: 26.

64. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 61-63, где CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность, характеризующуюся не более чем одной аминокислотной модификацией относительно любой из SEQ ID NO: 27-30.

65. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 62-64, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой аминокислотную замену.

66. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 62-65, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой консервативную аминокислотную замену.

67. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 62-64, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой делецию аминокислоты.

68. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 62-64, где не более чем одна аминокислотная модификация представляет собой добавление аминокислоты.

69. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 62-68, где CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20-25.

70. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 62-69, где CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

71. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 62-70, где CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27-30.

72. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57 или 60-71, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

73. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57 или 60-72, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

74. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57 или 60-73, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей

области VH характеризуется по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

75. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57 или 60-74, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

76. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантами осуществления 57 или 60, где CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G F T F X₈ X₉ Y A (SEQ ID NO: 55),

где X₈ представляет собой D, A или H, и X₉ представляет собой D или N;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26); и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

A K D S R G Y G X₁₀ Y X₁₁ X₁₂ G G A Y (SEQ ID NO: 56),

где X₁₀ представляет собой D или S; X₁₁ представляет собой R или S; и X₁₂ представляет собой L или R.

77. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантами осуществления 57 или 60, где CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

78. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57-77, где последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH в CD3-связывающей области VH присутствуют в каркасной области человеческой VH.

79. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57-78, где CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48.

80. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57-79, где CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48.

81. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57-80, где CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48.

82. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57-81, где CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48.

83. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 57-82, где CD3-связывающая область VH содержит:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 27 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 20, 26 и 28 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 20, 26 и 29 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 21, 26 и 28 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 22, 26 и 28 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 23, 26 и 28 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 24, 26 и 28 соответственно;

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 20, 26 и 30 соответственно;

(i) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 25, 26 и 29 соответственно; или

(j) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID

NO: 24, 26 и 29 соответственно.

84. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантом осуществления 83, где CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 27.

85. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 60-84, где переменная область легкой цепи содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 52.

86. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 60-85, где переменная область легкой цепи содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие последовательность под SEQ ID NO: 49, 50 и 51 соответственно.

87. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 60-86, где последовательности CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL присутствуют в каркасной области человеческой VH.

88. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 60-87, где переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 80% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52.

89. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 60-88, где переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 85% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52.

90. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 60-89, где переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 90% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52.

91. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 60-90, где переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 95%

идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52.

92. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-91, где антитело к мезотелину дополнительно содержит Fc-область.

93. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-92, где антитело к мезотелину дополнительно содержит вариант Fc-области.

94. Антитело к мезотелину в соответствии с вариантом осуществления 93, где вариант Fc-области содержит обеспечивающие гетеродимеризацию изменения.

95. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-94, где Fc-область представляет собой подвергнутую сайленсингу Fc-область.

96. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-95, где антитело к мезотелину специфически связывается с MSLN человека.

97. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-96, где антитело к мезотелину связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М.

98. Антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-97, где антитело к мезотелину представляет собой выделенное антитело.

99. Фрагмент антитела, который специфически связывается с мезотелином, где фрагмент антитела предусматривает фрагмент антитела к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-98.

100. Фрагмент антитела в соответствии с вариантом осуществления 99, где фрагмент антитела специфически связывается с MSLN человека.

101. Фрагмент антитела в соответствии с вариантами осуществления 99 или 100, где фрагмент антитела представляет собой выделенный фрагмент антитела.

102. Полинуклеотид, кодирующий однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-29.

103. Композиция, содержащая один или несколько полинуклеотидов, кодирующих мезотелинсвязывающий белок в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-42.

104. Композиция, содержащая один или несколько полинуклеотидов, кодирующих антитело к мезотелину в соответствии с любым из вариантов осуществления 44-98.

105. Рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий полинуклеотид или композицию в соответствии с любым из вариантов осуществления 102-104.

106. Клетка-хозяин, содержащая рекомбинантный вектор экспрессии в соответствии с вариантом осуществления 105.

107. Синтетический иммунный рецептор, содержащий однодоменное антитело в соответствии с любым из вариантов осуществления 1-28.

108. Клетка, содержащая синтетический иммунный рецептор в соответствии с вариантом осуществления 107.

109. Способ лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту по меньшей мере одного

мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-101.

110. Способ лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективной дозы по меньшей мере одного мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-101.

111. Способ в соответствии с вариантом осуществления 110, где заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака.

112. Способ в соответствии с вариантом осуществления 111, где рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

113. Мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-101 для применения в лечении заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина.

114. Мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела для применения в соответствии с вариантом осуществления 113, где заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака.

115. Мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела для применения в соответствии с вариантом осуществления 114, где рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

116. Применение мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела в соответствии с любым из вариантов осуществления 30-101 в изготовлении лекарственного препарата для лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина.

117. Применение в соответствии с вариантом осуществления 116, где заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из пролиферативных заболеваний и рака.

118. Применение в соответствии с вариантом осуществления 117, где рак выбран из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

119. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере один мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела в соответствии с любым из вариантов осуществления

30-101 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

ПРИМЕРЫ

[250] С целью возможности более полного понимания настоящего изобретения представлены ниже следующие примеры. Следует понимать, что эти примеры предназначены только для иллюстративных целей и не должны рассматриваться как ограничивающие каким-либо образом настоящее изобретение.

Пример 1. Связывание с линией клеток, экспрессирующей MSLN, и нецелевой линией клеток

[251] Связывание клеток, например, в случае однодоменных антител к MSLN по настоящему изобретению оценивали с использованием клеток CHO, экспрессирующих MSLN человека (CHO_huMSLN), и клеток CHO, которые не экспрессируют белок MSLN (CHO-OFFtgt). Осажденные клетки CHO ресуспендировали в проточном буфере (1X фосфатно-солевой буфер (PBS), 1% альбумина бычьей сыворотки (BSA) и 0,1% NaN₃) при 1,25×10⁶ клеток/мл. Надосадочные жидкости, содержащие антитела, разбавляли 1:5 в проточном буфере и инкубировали 40 мкл клеток плюс 10 мкл разбавленной надосадочной жидкости с антителами в течение 30 минут при 4°C. Клетки промывали проточным буфером и ресуспендировали в 50 мкл вторичного антитела, конъюгированного с фикоэритрином (PE) (Southern Biotech № 2042-09), разбавленного в проточном буфере до 1,25 мкг/мл, и инкубировали в течение 20 минут при 4°C. После двух стадий промывки клетки ресуспендировали в проточном буфере и анализировали с использованием системы Guava easyCyte 8HT. В **таблице E1** обобщена активность связывания мишени однодоменных антител к MSLN в виде кратности сигнала MFI относительно фонового значения.

Таблица E1. Связывание с линией клеток, экспрессирующей MSLN, и нецелевой линией клеток

ID клона №	CHO_huMSLN	CHO_OFFtgt
394556	540,4	1,1
394541	422,5	1,0
394582	367,3	1,0
392026	347,0	1,0
394573	193,7	1,1
394607	140,6	1,1
394606	87,3	1,0
394610	78,0	1,0

ID клона №	CHO_huMSLN	CHO_OFFtgt
394567	16,9	1,1

Пример 2. Связывание с линиями клеток, экспрессирующими MSLN, и нецелевой линией клеток

[252] Кривые зависимости от дозы связывания клеток, например, в случае однодоменных антител к MSLN, описанных в данном документе, получали с использованием клеток CHO, экспрессирующих MSLN человека (**фиг. 1A**), клеток HeLa (**фиг. 1B**) и клеток CHO-OFFtgt (**фиг. 1C**). Однодоменные антитела тестировали в начальной концентрации 150 нМ с последующими 3-кратными серийными разбавлениями с получением кривой зависимости от дозы по 8 точкам. Все промывки и разбавления клеток, антител и реагентов осуществляли с использованием проточного буфера (1X фосфатно-солевой буфер (PBS), 1% альбумина бычьей сыворотки (BSA) и 0,1% NaN₃). Клетки осаждали и ресуспендировали при 1×10⁶ клеток/мл в проточном буфере. Затем 50 мкл клеток объединяли с 50 мкл тестируемого антитела и инкубировали 30 минут при 4°C, после чего следовали две стадии промывки проточным буфером. Затем клетки ресуспендировали в 50 мкл вторичного антитела, конъюгированного с PE, разбавленного до 1,25 мкг/мл (Southern Biotech № 2042-09), и инкубировали в течение 20 минут при 4°C. После двух стадий промывки клетки ресуспендировали в проточном буфере и анализировали с использованием системы BD Celesta. Среднюю интенсивность флуоресценции PE представляли графически в виде кратности относительно фонового значения (клетки инкубировали только со вторичным детекторным антителом).

Пример 3. Значения EC50 при связывании с клетками в линиях клеток, экспрессирующих MSLN

[253] Для определения значений EC50 при связывании клеток, например, однодоменных антител к MSLN по настоящему изобретению, строили кривые зависимости от дозы связывания клеток для клеток HeLa и клеток CHO, экспрессирующих MSLN человека. Однодоменные антитела тестировали в начальной дозе 150 нМ с последующими 3-кратными серийными разбавлениями с получением кривой зависимости от дозы по 8 точкам, как описано в примере 2. Преобразованные данные представляли графически в виде ху-графика с применением подбора кривой методом нелинейной регрессии (доступного в GraphPad Prism 8.4.3) с получением значений EC50 (нМ), которые обобщены в **таблице E2**.

Таблица E2. Значения EC50 при связывании с клетками в линиях клеток, экспрессирующих MSLN

ID клона №	EC50 CHO_huMSLN	EC50 HeLa
394556	2,9	2,5
394541	ND	ND

ID клона №	EC50 CHO_huMSLN	EC50 HeLa
394582	2,2	1,3
392026	12,4	9,8

Пример 4. Аффинность связывания и эпитопспецифическая сортировка

[254] В **таблице ЕЗ** обобщена информация об аффинности и группе эпитопов, например, для однодоменных антител к MSLN по настоящему изобретению. Аффинность каждого однодоменного антитела к рекомбинантному MSLN человека (R&D Systems, № 3265-MS) измеряли посредством биослойной интерферометрии (BLI) с использованием Octet НТХ. Датчики АНС (захват Fc-области антитела к hIgG) использовали для иммобилизации тестируемого антитела при 5 мкг/мл. После считываний исходного уровня датчики погружали в растворы антигена (начиная с 500 нМ с последующей серией 7-точечных 2-кратных разбавлений). Ассоциацию и диссоциацию измеряли в течение 180 и 240 секунд соответственно. Данные анализировали с помощью Octet Data Analysis v11.0 НТ (ForteBio) с использованием стандартной модели связывания 1:1. Группы эпитопов для однодоменных антител определяли посредством эксперимента по тандемному конкурентному связыванию BLI с использованием Octet НТХ. Антиген (5 мкг/мл) загружали на датчик сенсора Ni-NTA с последующим определением исходного уровня в кинетическом буфере. Затем датчик, покрытый антигеном, погружали в антитело 1 с насыщающей концентрацией. Далее второй исходный уровень устанавливали при 300 сек. Затем комплекс антиген-антитело 1 погружали в раствор антитела 2 в течение 180 сек., а затем обеспечивали его диссоциацию.

Таблица ЕЗ. Аффинность связывания и эпитопспецифическая сортировка

ID клона №	KD (M)	Группа эпитопов
394556	9,04E-08	1
394541	3,80E-06	1
394582	2,20E-07	1
392026	Связывание отсутствует	1

Пример 5. Опосредованная CAR-T активация Т-клеток линиями опухолевых клеток человека

[255] Активность CAR-T-клеток измеряли путем трансфекции Т-лимфоцитов Jurkat с помощью CAR для MSLN и бх репортера нанолуциферазы NFAT ТК в соответствии с протоколом производителя (Lonza 4D-Nucleofector X; набор L SE Cell Line 4D-Nucleofector X, № V4XC-1012; программа CL-120). На **фиг. 2А** представлена схематическая иллюстрация примера CAR-T-клеточной структуры, содержащей внеклеточный связывающий домен для MSLN, который содержит последовательность антитела по настоящему изобретению. Трансфицированные клетки Jurkat совместно

культивировали в RPMI-1640 (Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) с 10% FBS (ThermoFisher) в течение 24 часов в увлажненном инкубаторе, 37°C, 8% CO₂ с клетками MSLN+ CHO, стабильно трансфицированными для экспрессии MSLN человека, HeLa или MSLN-негативными клетками K562. Активность люциферазы измеряли на многорежимном микропланшетном ридере SpectraMax i3x (Molecular Devices) с использованием системы для анализа люциферазы Promega Nano-Glo Luciferase в соответствии с протоколом производителя (№ по каталогу N1110) и данные нормализовали по совместной культуре, содержащей линии клеток Jurkat, трансфицированных с помощью CAR, и MSLN-негативных клеток K562. Статистическую значимость определяли с применением непарного двустороннего t-критерия. Результаты представлены на **фиг. 2В**.

[256] Все документы или части документов, цитируемые в настоящей заявке, включая без ограничения патенты, заявки на патенты, статьи, книги и трактаты, настоящим явно включены посредством ссылки. Описанное в варианте осуществления настоящего изобретения можно объединять с одним или несколькими другими вариантами осуществления настоящего изобретения, если из контекста ясно не указано иное.

[257] Раскрытый объект изобретения не предназначен для ограничения объема конкретными вариантами осуществления, описанными в данном документе, которые вместо этого предназначены для неограничивающих иллюстраций отдельных аспектов настоящего изобретения. Функционально эквивалентные способы и компоненты входят в объем настоящего изобретения. Действительно, различные модификации раскрытого объекта изобретения, в дополнение к тем, которые показаны и описаны в данном документе, будут очевидны специалистам в данной области из приведенного выше описания и сопровождающего(-их) его графического(-их) материала(-ов). Предполагается, что такие модификации попадают в объем раскрытого объекта изобретения.

[258] Описания различных вариантов осуществления и/или примеров раскрытого объекта изобретения были представлены в целях иллюстрации, но не предназначены для того, чтобы быть исчерпывающими или ограничивающими каким-либо образом. Многие модификации и вариации будут очевидны специалистам среднего уровня квалификации в данной области без отступления от объема и сущности описанных вариантов осуществления. Терминология, используемая в данном документе, была выбрана для лучшего объяснения принципов вариантов осуществления, практического применения или технического усовершенствования по сравнению с технологиями, представленными на рынке, и/или для того, чтобы обеспечить возможность другим специалистам среднего уровня квалификации в данной области понять раскрытый объект изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), в которой полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

2. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 8.

3. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G G S I S X₁ S Y Y (SEQ ID NO: 53),

где X₁ представляет собой N или S;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность

I Y X₂ S G X₃ X₄ (SEQ ID NO: 68),

где X₂ представляет собой H или Y; X₃ представляет собой N или S; и X₄ представляет собой T или I; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

X₅ X₆ Q X₇ G V G A T T T E E Y (SEQ ID NO: 54),

где X₅ представляет собой T, V или A; X₆ представляет собой S или T; и X₇ представляет собой D или N.

4. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 9;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 10; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 8.

5. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 3 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 4 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 5 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 2 и 6 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 7 и 8 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 6 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 9, 2 и 4 соответственно; или

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 1, 10 и 4 соответственно.

6. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 11-19.

7. Однодоменное антитело по любому из пп. 1-6, где последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH присутствуют в каркасной области человеческой VH.

8. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), характеризующуюся по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 11-19.

9. Однодоменное антитело, которое специфически связывается с мезотелином (MSLN), где однодоменное антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH), выбранную из SEQ ID NO: 11-19.

10. Однодоменное антитело по любому из пп. 1-9, где однодоменное антитело специфически связывается с MSLN человека.

11. Однодоменное антитело по любому из пп. 1-10, где однодоменное антитело связывается с MSLN человека с K_D , составляющей от приблизительно 10^{-9} М до приблизительно 10^{-6} М.

12. Однодоменное антитело по любому из пп. 1-11, где однодоменное антитело представляет собой выделенное однодоменное антитело.

13. Мезотелинсвязывающий белок, содержащий однодоменное антитело по любому из пп. 1-11.

14. Мезотелинсвязывающий белок по п. 13, где мезотелинсвязывающий белок специфически связывается с MSLN человека.

15. Мезотелинсвязывающий белок по п. 13 или п. 14, где мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3.

16. Мезотелинсвязывающий белок по любому из пп. 13-15, где мезотелинсвязывающий белок дополнительно специфически связывается с CD3 человека.

17. Мезотелинсвязывающий белок по любому из пп. 13-16, где мезотелинсвязывающий белок представляет собой выделенное моноклональное антитело.

18. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий однодоменное антитело по любому из пп. 1-11.

19. Антитело к мезотелину, содержащее однодоменное антитело по любому из пп. 1-11.

20. Антитело к мезотелину по п. 19, где антитело к мезотелину является полиспецифическим.

21. Антитело к мезотелину по п. 19 или п. 20, где антитело к мезотелину дополнительно специфически связывается с опухолеспецифическим антигеном, отличным от MSLN.

22. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-21, где антитело к мезотелину является биспецифическим.

23. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-22, где антитело к мезотелину дополнительно специфически связывается с CD3.

24. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-23, где антитело к мезотелину дополнительно специфически связывается с CD3 человека.

25. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-24, где антитело к мезотелину дополнительно содержит CD3-связывающую область VH.

26. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-25, где антитело к мезотелину относится к подтипу IgG1 или IgG4.

27. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-26, где антитело к мезотелину дополнительно содержит CD3-связывающую область VH, которая спарена с вариабельной областью легкой цепи (LV).

28. Антитело к мезотелину по п. 25 или п. 27, где CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 20-25;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем двумя аминокислотными модификациями относительно SEQ ID NO: 26; и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность, характеризующуюся не более чем

двумя аминокислотными модификациями относительно любой из SEQ ID NO: 27-30.

29. Антитело к мезотелину по п. 28, где CD3-связывающая CDR1 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 20-25.

30. Антитело к мезотелину по п. 28 или п. 29, где CD3-связывающая CDR2 VH содержит последовательность под SEQ ID NO: 26.

31. Антитело к мезотелину по любому из пп. 28-30, где CD3-связывающая CDR3 VH содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 27-30.

32. Антитело к мезотелину по любому из п. 25 или пп. 27-31, где полный набор из CDR 1, 2 и 3 VH (объединенных) в CD3-связывающей области VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с CDR 1, 2 и 3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

33. Антитело к мезотелину по п. 25 или п. 27, где CD3-связывающая область VH содержит:

(i) определяющую комплементарность область один (CDR1) VH, содержащую последовательность

G F T F X₈ X₉ Y A (SEQ ID NO: 55),

где X₈ представляет собой D, A или H, и X₉ представляет собой D или N;

(ii) CDR2 VH, содержащую последовательность ISWNSGSI (SEQ ID NO: 26); и

(iii) CDR3 VH, содержащую последовательность

A K D S R G Y G X₁₀ Y X₁₁ X₁₂ G G A Y (SEQ ID NO: 56),

где X₁₀ представляет собой D или S; X₁₁ представляет собой R или S; и X₁₂ представляет собой L или R.

34. Антитело к мезотелину по п. 25 или п. 27, где CD3-связывающая область VH содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под любым из SEQ ID NO: 31-48.

35. Антитело к мезотелину по любому из пп. 25-34, где последовательности CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH в CD3-связывающей области VH присутствуют в каркасной области человеческой VH.

36. Антитело к мезотелину по любому из пп. 25-35, где CD3-связывающая область VH характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 31-48.

37. Антитело к мезотелину по любому из пп. 25-36, где CD3-связывающая область VH содержит:

(a) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 27 соответственно;

(b) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 28 соответственно;

(c) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 29 соответственно;

(d) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 21, 26 и 28 соответственно;

(e) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 22, 26 и 28 соответственно;

(f) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 23, 26 и 28 соответственно;

(g) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 24, 26 и 28 соответственно;

(h) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 30 соответственно;

(i) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 25, 26 и 29 соответственно; или

(j) CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 24, 26 и 29 соответственно.

38. Антитело к мезотелину по п. 37, где CD3-связывающая область VH содержит CDR1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, содержащие последовательности под SEQ ID NO: 20, 26 и 27.

39. Антитело к мезотелину по любому из пп. 27-38, где переменная область легкой цепи содержит CDR1, CDR2 и CDR3 под SEQ ID NO: 52.

40. Антитело к мезотелину по любому из пп. 27-39, где переменная область легкой цепи содержит CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, содержащие последовательность под SEQ ID NO: 49, 50 и 51 соответственно.

41. Антитело к мезотелину по любому из пп. 27-40, где последовательности CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL присутствуют в каркасной области человеческой VH.

42. Антитело к мезотелину по любому из пп. 27-41, где переменная область легкой цепи характеризуется по меньшей мере 95% идентичностью последовательности с SEQ ID NO: 52.

43. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-42, где антитело к мезотелину специфически связывается с MSLN человека.

44. Антитело к мезотелину по любому из пп. 19-43, где антитело к мезотелину представляет собой выделенное антитело.

45. Фрагмент антитела, который специфически связывается с мезотелином, где фрагмент антитела предусматривает фрагмент антитела к мезотелину по любому из пп. 19-44.

46. Фрагмент антитела по п. 45, где фрагмент антитела представляет собой трехцепочечную антителоподобную молекулу.

47. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере один мезотелинсвязывающий белок, конъюгат антитело-лекарственное средство, антитело к мезотелину или фрагмент антитела по любому из пп. 13-46 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

48. Полинуклеотид, кодирующий однодоменное антитело по любому из пп. 1-12.

49. Композиция, содержащая один или несколько полинуклеотидов, кодирующих

мезотелинсвязывающий белок, антитело к мезотелину или фрагмент антитела по любому из пп. 13-17 или пп. 19-46.

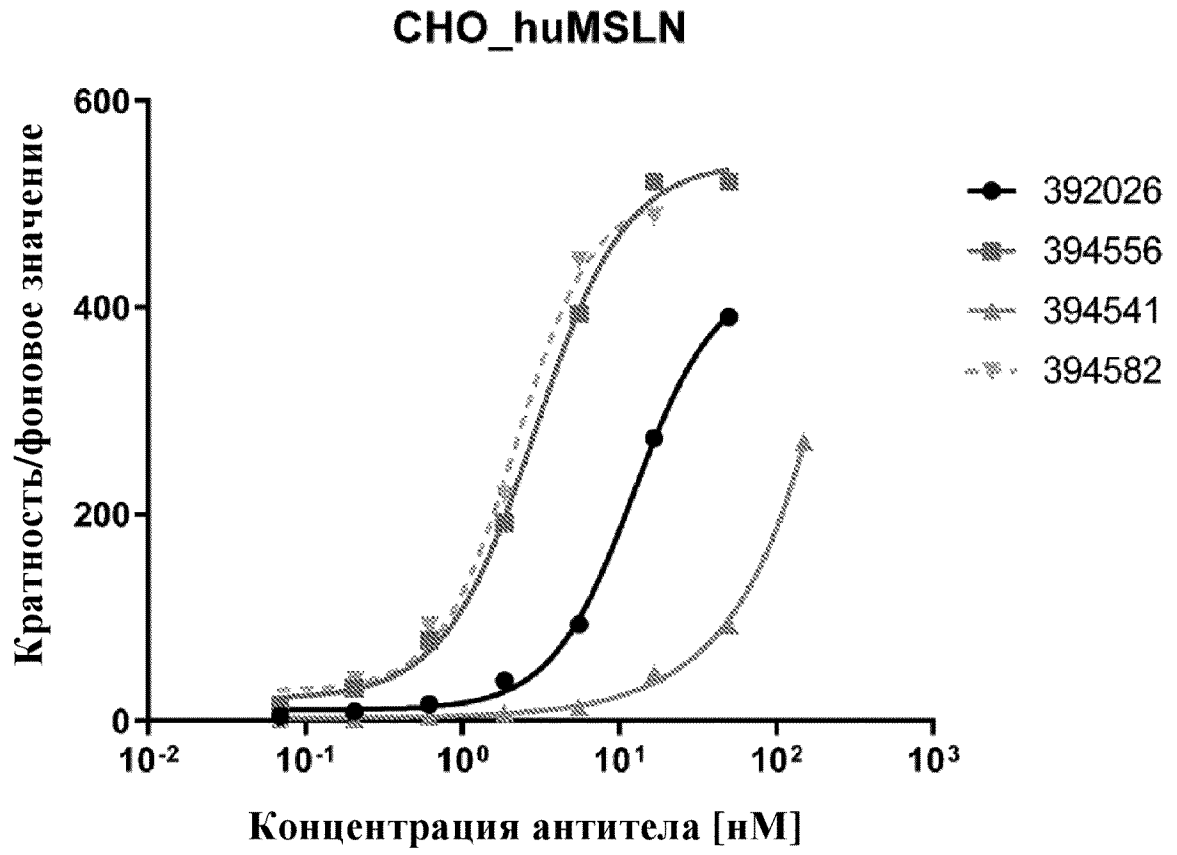
50. Рекомбинантный вектор экспрессии, содержащий полинуклеотид или композицию по п. 48 или п. 49.

51. Клетка-хозяин, содержащая рекомбинантный вектор экспрессии по п. 50.

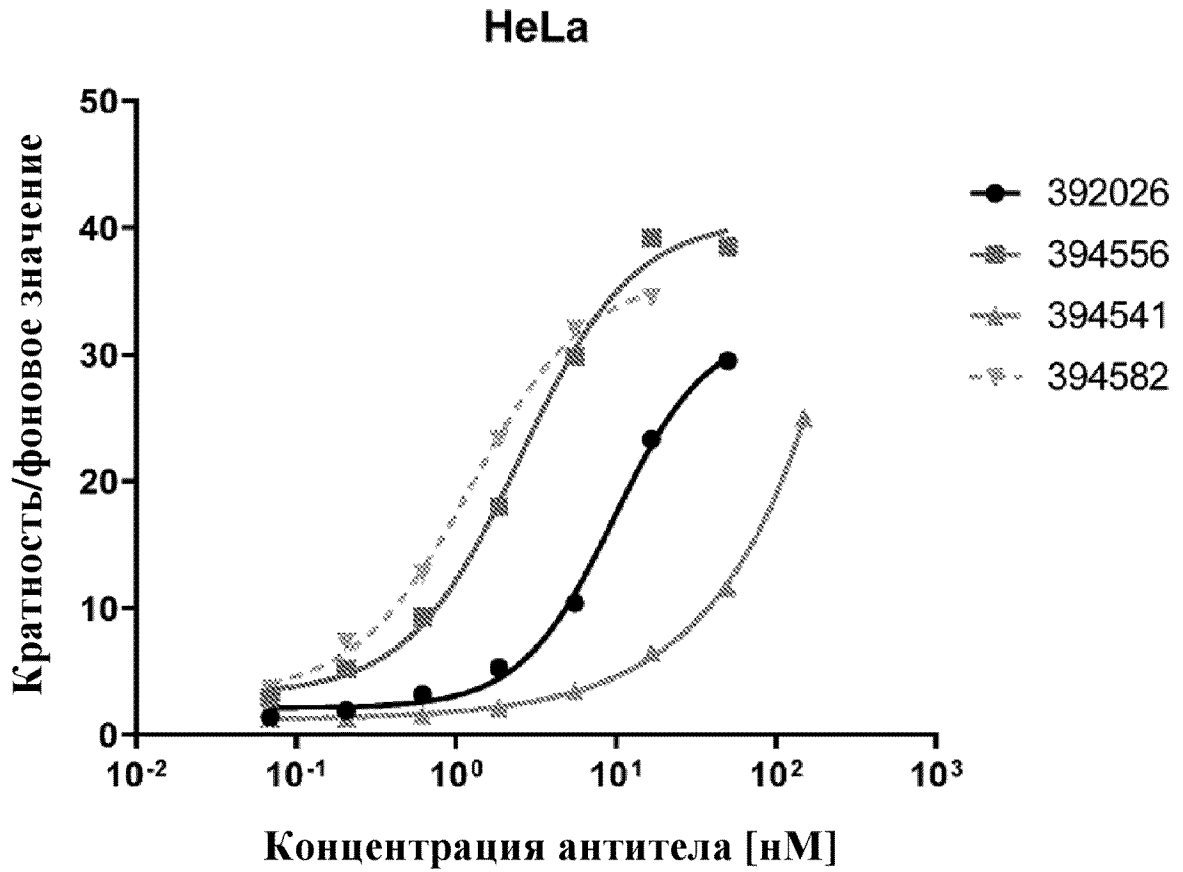
52. Способ лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией мезотелина, у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту по меньшей мере одного мезотелинсвязывающего белка, конъюгата антитело-лекарственное средство, антитела к мезотелину или фрагмента антитела по любому из пп. 13-46.

53. Способ по п. 52, где заболевание, ассоциированное с экспрессией мезотелина, выбрано из мезотелиомы, рака поджелудочной железы, рака желудка, рака яичника, рака легкого и трижды негативного рака молочной железы.

По доверенности

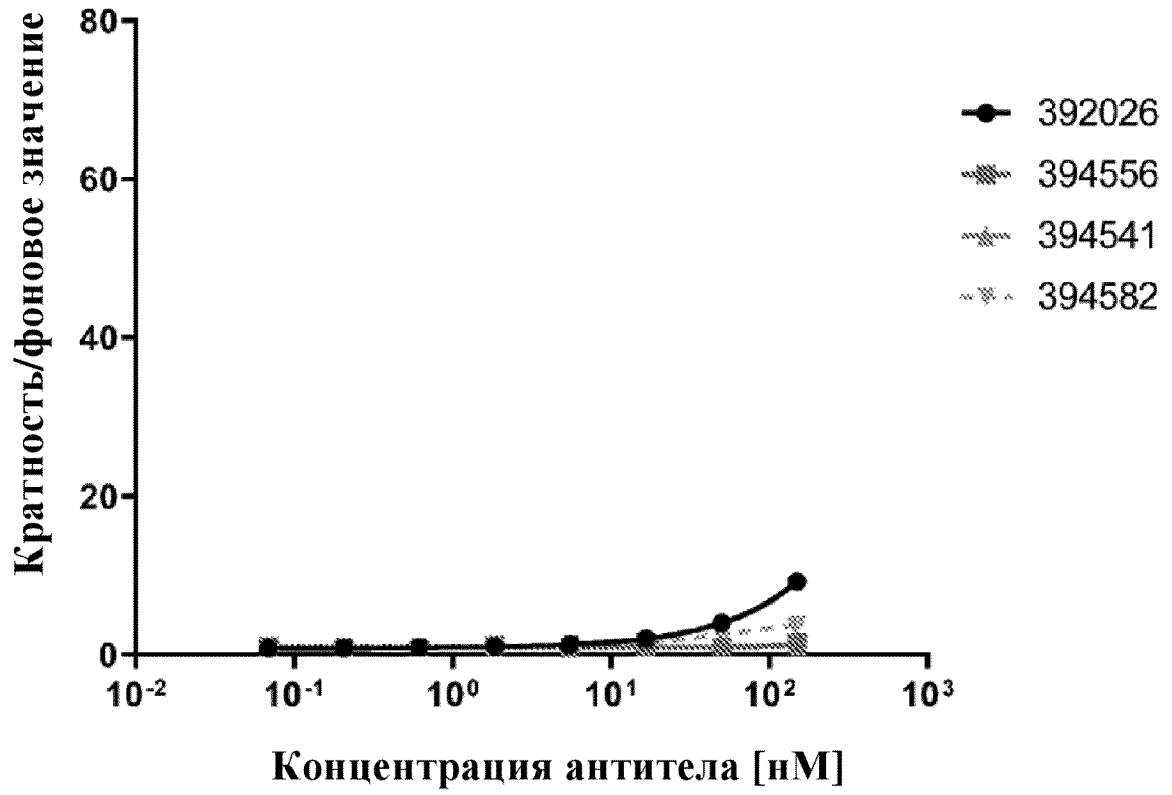


ФИГ. 1А



ФИГ. 1В

CHO-OFFtgt

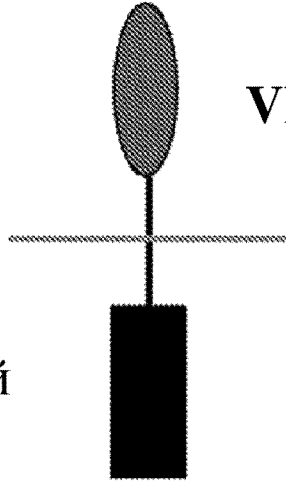


ФИГ. 1С

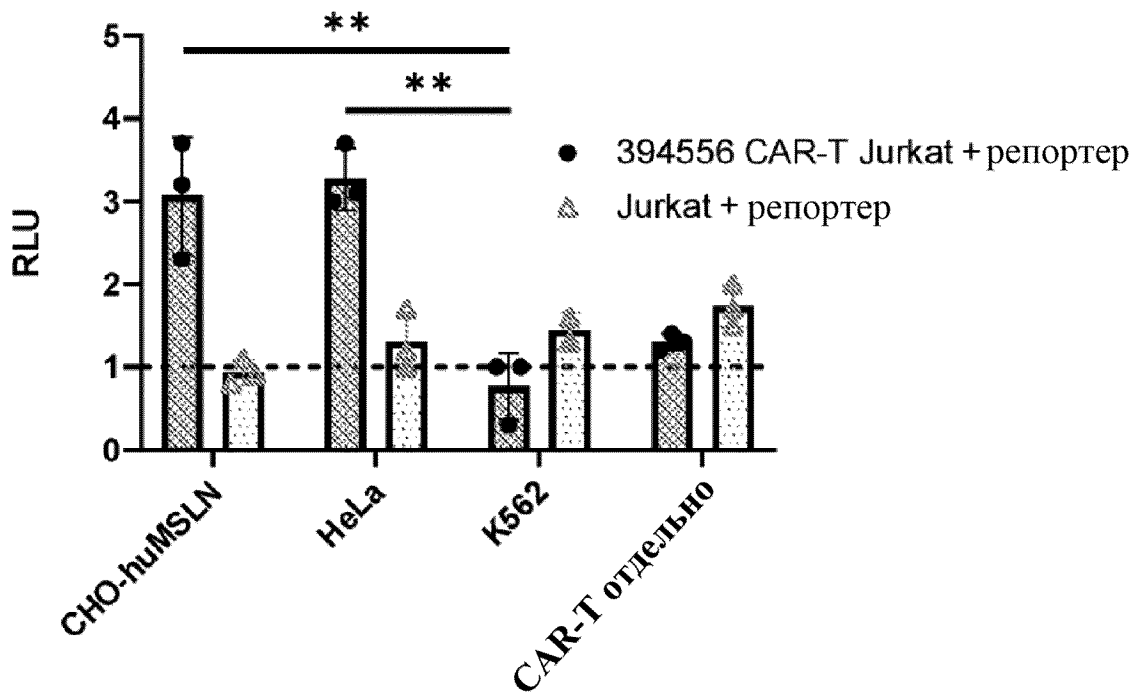
Внеклеточный
домен

VH к MSLN

Внутриклеточный
домен



ФИГ. 2А



ФИГ. 2В