

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202492007 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2024.10.18

(22) Дата подачи заявки  
2023.01.26

(51) Int. Cl. A61K 39/00 (2006.01)  
C07K 16/28 (2006.01)  
A61K 35/17 (2015.01)  
C07K 19/00 (2006.01)

---

(54) АНТИТЕЛА К IL13Ra2 И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

---

(31) 63/267,681

(32) 2022.02.08

(33) US

(86) PCT/US2023/061339

(87) WO 2023/154626 2023.08.17

(88) 2023.09.14

(71) Заявитель:  
ФАНЕС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

У Хуэйвэнь, Цзя Хайцюнь, Цзоу Хуэй  
(US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,  
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов  
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,  
Кузнецова Т.В. (RU)

---

(57) В изобретении описаны антитела к IL13Ra2 и их антигенсвязывающие фрагменты. Описаны также нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела, композиции, содержащие антитела, и способы получения антител и применение антител для лечения или предупреждения заболеваний, таких как рак, воспалительное заболевание и/или аутоиммунное заболевание.

A1

202492007

202492007

A1

## АНТИТЕЛА К IL13Ra2 И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

5 Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка претендует на приоритет предварительной заявки на патент США № 63/267681, поданной 8 февраля 2022 г., содержание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Область техники, к которой относится изобретение

10 Настоящее изобретение относится к моноклональным антителам, связывающимся с альфа-субъединицей 2 рецептора интерлейкина-13 (IL13Ra2), нуклеиновым кислотам и экспрессионным векторам, кодирующим антитела, рекомбинантным клеткам, кодирующим векторы, и композициям, содержащим антитела. Предложены также способы получения антител и способы применения  
15 антител для лечения заболеваний, включая рак, воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания и/или сопутствующие осложнения.

Ссылка на перечень последовательностей, представленный в электронном виде

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который  
20 представлен в электронном виде. Содержание электронного перечня последовательностей (065799.36WO1SequenceListing.xml; размер: 182964 байта; дата создания: 23 января 2023 г.) включено в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме.

Предпосылки создания изобретения

25 Альфа-2 рецептора интерлейкина-13 (известная также как IL13Ra2, IL-13Ra2,  $\alpha$ 2-субъединица рецептора IL-13, IL13Ra $\alpha$ 2, CT19, IL-13R2, IL13BP и CD213A2) представляет собой расположенный на клеточной поверхности рецептор массой 42 кДа для IL-13, провоспалительного цитокина, регулирующего как гематопозитические, так и негематопозитические клетки  
30 (Marone G., Granata F. и др., *Frontiers in Pharmacology* 10, 2019, с. 1387). Помимо IL13Ra2 IL-13 связывается также с IL13Ra1. IL-13 связывается с IL13Ra1 с меньшей аффинностью и активирует путь передачи сигналов JAK-STAT, что обуславливает опосредуемые IL-13 клеточные ответы. Поскольку у IL13Ra2 отсутствует каноническая функция передачи сигналов JAK-STAT, а связывание

IL13 с IL13Ra2 является высокоаффинным, существует предположение, что IL13Ra2 функционирует в качестве рецептора-"ловушки", который отрицательно регулирует ответы на IL-13 (Rahaman S. O., Sharma P., и др., Cancer Research 63, 2002, сс. 1103-1109). Позднее установлено, что IL13Ra2 активирует опосредованную AP-1 транскрипцию в определенных клетках (Fujisawa T., Joshi B. H., и др., International Journal of Cancer 131, 2012, 344-356), это позволяет предположить, что функция IL13Ra2 является более сложной, чем предполагалось ранее.

IL13Ra2 экспрессируется на раковых клетках различных типов, включая мультиформную глиобластому (GBM), рак поджелудочной железы, почечно-клеточную карциному, рак головы и шеи, мезотелиому, меланому, рак яичников, рак молочной железы, рак желудка и колоректальный рак (Suzuki A., Leland P. и др., Cytokine 75, 2015, сс. 79–88). Для IL13Ra2 характерен низкий уровень экспрессии лишь в ограниченном количестве клеток тканей, что делает его ценным биомаркером рака и перспективной терапевтической мишенью. Кроме того, IL13 и IL13Ra2 участвуют в стимулировании роста и инвазивности эпителиальных раков (Fujisawa T., Joshi B. H. и др., International Journal of Cancer 131, 2012, сс. 344-356). Таким образом, IL13Ra2 представляет собой опухолеассоциированный антиген (ТАА) и может являться очень хорошей мишенью лекарственных средств.

#### Краткое изложение сущности изобретения

Одним из основных объектов изобретения являются выделенные моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с IL13Ra2.

Предложены выделенные моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат определяющий комплементарность участок 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 тяжелой цепи, определяющий комплементарность участок 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 легкой цепи, которые имеют следующие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8 соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно;

(2) SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно;

(3) SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37, 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно;

(4) SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно;

5 (5) SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно;

(6) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно;

10 (7) SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно;

(8) SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно;

(9) SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно SEQ ID NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126 соответственно;

15 (10) SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно;

(11) SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно;

20 (12) SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно; или

(13) SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно;

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

25 В некоторых вариантах осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155 или 169,  
30 или переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 100, 114, 128, 142, 156 или 170.

В некоторых вариантах осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

- 5 (1) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;
- (2) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16;
- 10 (3) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 29, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 30;
- (4) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 44;
- 15 (5) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 57, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 58;
- (6) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 71, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 72;
- 20 (7) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 85, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 86;
- (8) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 99, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 100;
- 25 (9) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114;
- 30 (10) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128;

(11) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142;

5 (12) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 155, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 156;  
или

10 (13) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 169, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 170.

В некоторых вариантах осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с IL13Ra2 и обладает способностью индуцировать опосредуемый эффектором лизис опухолевых клеток посредством антитело-обусловленной  
15 клеточнозависимой цитотоксичности (ADCC), антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC); и/или опосредовать рекрутмент конъюгированных лекарственных средств; и/или может образовывать биспецифическое антитело с другим моноклональным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, обладающим  
20 противораковым действием.

В некоторых вариантах осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным.

В некоторых вариантах осуществления изобретения выделенное  
25 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим или гуманизированным. В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на  
30 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 183, 184, 185, 186, 191, 192, 193, 197, 198, 199, 203, 204, 207, 208, 211 или 212, или переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%,

по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 205, 206, 209, 210 или 213.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизованное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

10 (2) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

(3) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;

15 (4) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(5) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(6) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

25 (7) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;

(8) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

30 (9) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 185, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;









(43) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 211, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213; или

5 (44) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 212, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213.

Предложены также выделенные биспецифические антитела, которые содержат предлагаемые в изобретении моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты.

10 Предложены также выделенные нуклеиновые кислоты, которые кодируют предлагаемые в изобретении моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты или биспецифические антитела.

Предложены также векторы, содержащие выделенные нуклеиновые кислоты, которые кодируют предлагаемые в изобретении моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты или биспецифические антитела  
15 или их антигенсвязывающие фрагменты.

Предложены также клетки-хозяева, содержащие векторы, которые содержат выделенные нуклеиновые кислоты, которые кодируют предлагаемые в изобретении моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты  
20 или биспецифические антитела или их антигенсвязывающие фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления изобретения предложена фармацевтическая композиция, которая содержит выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или выделенное биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент,  
25 предлагаемые в изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель.

Предложены также способы специфического таргетинга IL13Ra2 на поверхности раковой клетки у субъекта, который нуждается в этом, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, предлагаемой в изобретении.

30 Предложены также способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включающие введение субъекту фармацевтических композиций, предлагаемых в изобретении. Рак может представлять собой любой жидкостный или солидный рак, например, его можно выбирать (но не ограничиваясь только ими) из рака легкого, рака желудка, рака пищевода, рака желчных протоков,

холангиокарциномы, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

Предложены также способы лечения воспалительного заболевания у субъекта, который нуждается в этом, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, предлагаемой в изобретении.

Предложены также способы лечения аутоиммунного заболевания у субъекта, который нуждается в этом, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, предлагаемой в изобретении.

Предложены также способы получения предлагаемого в изобретении моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающие культивирование клетки, которая содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в условиях, пригодных для получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, и выделение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

Предложены также способы получения фармацевтической композиции, которая содержит предлагаемые в изобретении моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающие объединение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

Предложены также способы определения уровня IL13Ra2 у субъекта. Способы включают (а) получение образца из организма субъекта; (б) приведение

в контакт образца с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, предлагаемым в изобретении; и (в) определение уровня IL13Ra2 у субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой образец ткани. Образец ткани может представлять собой, например, образец раковой ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретения образец представляет собой образец крови.

Другим основным объектом изобретения является конструкция химерного антигенного рецептора (CAR), которая индуцирует опосредованное T-клетками уничтожение рака, где конструкция CAR содержит по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с человеческим IL13Ra2, шарнирную область, трансмембранную область и внутриклеточный сигнальный домен.

Предложены выделенные полинуклеотиды, которые содержат нуклеотидную последовательность, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR). CAR может содержать (а) внеклеточный домен, содержащий по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с IL13Ra2; (б) шарнирную область; (в) трансмембранную область; и (г) внеклеточный сигнальный домен.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен содержит определяющий комплементарность участок 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 тяжелой цепи, определяющий комплементарность участок 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 легкой цепи, которые содержат следующие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8 соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно;

(2) SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно;

(3) SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37, 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно;

(4) SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно;

(5) SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно;

(6) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно;

(7) SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно;

5 (8) SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно;

(9) SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно или SEQ ID NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126 соответственно;

10 (10) SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно;

(11) SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно;

(12) SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно; или

15 (13) SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно;

где антигенсвязывающий домен специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155 или 169, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную

25 последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 100, 114, 128, 142, 156 или 170.

В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен содержит:

30 (1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;



(13) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 169, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 170.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 183, 184, 185, 186, 191, 192, 193, 197, 198, 199, 203, 204, 207, 208, 211 или 212, или вариабельную  
10 область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 205, 206, 209, 210 или 213.

15 В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен является гуманизированным и содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

20 (2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;

25 (4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи,  
30 имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;









(40) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 207, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 210;

5 (41) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 209;

(42) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 210;

10 (43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 211, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213; или

(44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 212, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213.

20 В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv). В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен представляет собой гуманизированный одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

В некоторых вариантах осуществления изобретения химерный антигенный рецептор (CAR) содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов.

25 В некоторых вариантах осуществления изобретения внутриклеточный сигнальный домен содержит один или несколько костимуляторных доменов и один или несколько активирующих доменов.

Предложны также химерные антигенные рецепторы (CAR), кодируемые выделенными полинуклеотидами, предлагаемыми в изобретении.

30 Предложены также векторы, содержащие выделенные полинуклеотиды, которые содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR, предлагаемые в изобретении.

Предложены также клетки-хозяева, которые содержат векторы, предлагаемые в изобретении.

В некоторых вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой Т-клетку, предпочтительно человеческую Т-клетку. В

некоторых вариантах осуществления изобретения клетка-хозяин представляет собой НК-клетку, предпочтительно человеческую НК-клетку. Т-клетку или НК-клетку можно, например, конструировать для экспрессии CAR, предлагаемого в изобретении, для лечения заболеваний, таких как рак.

5 Предложены также способы создания клетки-хозяина, которая экспрессирует химерный антигенный рецептор (CAR), предлагаемый в изобретении. Способы включают трансдукцию Т-клетки или НК-клетки вектором, который содержит выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR, предлагаемые в изобретении.

10 Предложены также способы получения CAR-Т-клетки или CAR-НК-клетки, предлагаемой в изобретении. Способы включают культивирование Т-клеток или НК-клеток, которые содержат выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует химерный антигенный рецептор (CAR), предлагаемый в изобретении, в условиях, пригодных для получения CAR-Т-клетки или CAR-НК-клетки, и выделение CAR-Т-клетки или CAR-НК-клетки.

15 Предложены также способы создания популяции клеток со сконструированной РНК, содержащих химерный антигенный рецептор (CAR), предлагаемый в изобретении. Способы включают приведение в контакт клетки с выделенным полинуклеотидом, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR), предлагаемый в изобретении, где выделенный полинуклеотид представляет собой транскрибируемую *in vitro* РНК или синтетическую РНК.

20 Предложены также способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включающие введение субъекту CAR-Т-клеток и/или CAR-НК-клеток, предлагаемых в изобретении. Рак может представлять собой любой жидкостный или солидный рак, например, его можно выбирать (но не ограничиваясь только ими) из рака легкого, рака желудка, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей и неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

В некоторых вариантах осуществления изобретения способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, дополнительно включают введение субъекту, который нуждается в этом, агента, повышающего эффективность клетки, которая экспрессирует молекулу CAR.

5 В некоторых вариантах осуществления изобретения способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, дополнительно включают введение субъекту, который нуждается в этом, агента, который облегчает одно или несколько побочных действий, связанных с введением клетки, которая экспрессирует молекулу CAR.

10 В некоторых вариантах осуществления изобретения способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, дополнительно включают введение субъекту, который нуждается в этом, агента, который лечит заболевание, связанное с IL13Ra2.

Краткое описание чертежей

15 Вышеприведенное краткое изложение сущности изобретения, а также следующее подробное описание предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения станут более очевидными при ознакомлении в сочетании с прилагаемыми чертежами. Однако следует понимать, что заявка не ограничена только вариантами осуществления изобретения, представленными на  
20 чертежах.

На чертежах показано:

на фиг. 1А-1Д - данные о связывании очищенных химерных анти-IL13Ra2 МАт (VH- и VL-области мышиноного МАт, слитые с константными областями тяжелой цепи и легкой каппа-цепи соответственно человеческого IgG1) и  
25 иммобилизованным рекомбинантным IL13Ra2, полученные с помощью ELISA-анализа. Антиген представлял собой человеческий IL13Ra2 (фирма ACROBiosystems; Ньюарк, шт. Дэлавер; каталожный № IL2-H52H5). L3A6-C обозначает химерную версию L3A6, другие антитела обозначали согласно такому же правилу; контроль изотипа (IgG1) включали в качестве  
30 представляющего собой отрицательный контроль антитела;

на фиг. 2А-2Б - данные о связывании анти-IL13Ra2 МАт с А375-клетками (АТСС; Манассас, шт. Вирджиния; каталожный № CRL-1619), полученные с помощью FACS-анализа. L3A6-C обозначает химерную версию L3A6, другие

антитела обозначали согласно такому же правилу; контроль изотипа (IgG1) включали в качестве представляющего собой отрицательный контроль антитела;

на фиг. 3А-3З - данные о связывании гуманизированных анти-IL13Ra2 МАт с иммобилизованным рекомбинантным IL13Ra2, полученные с помощью ELISA-анализа. Антиген представлял собой человеческий IL13Ra2 (фирма ACROBiosystems; Ньюарк, шт. Дэлавэр; каталожный № IL2-H52H5). L3A6-H1L1 обозначает гуманизированное МАт, сконструированное с использованием тяжелой цепи L3A6-H1 и легкой цепи L3A6-L1, представленных в таблице 7; другие гуманизированные клоны обозначали согласно такому же правилу.

10 Контроль изотипа (IgG1) включали в качестве представляющего собой отрицательный контроль антитела;

на фиг. 4А-4З - данные о связывании гуманизированных анти-IL13Ra2 МАт с А375-клетками (АТСС; Манассас, шт. Вирджиния; каталожный № CRL-1619), полученные с помощью FACS-анализа. L3A6-H1L1 обозначает

15 гуманизированное МАт, сконструированное с использованием тяжелой цепи L3A6-H1 и легкой цепи L3A6-L1, представленных в таблице 7; другие гуманизированные клоны обозначали согласно такому же правилу. Контроль изотипа (IgG1) включали в качестве представляющего собой отрицательный контроль антитела.

20 Подробное описание изобретения

Различные публикации, статьи и патенты процитированы или описаны в справочной информации и во всем описании; каждый документ включен в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме. Обсуждение документов, актов, материалов, устройств, изделий и т.п., которые включены в

25 настоящее описание, приведено с целью объяснения контекста изобретения. Указанное обсуждение не является признанием того, что какой-либо из этих вопросов или все они являются частью известного уровня техники касательно любых раскрытых или заявленных объектов изобретения.

Если не указано иное, все технические и научные понятия, используемые в

30 настоящем описании, имеют значение, общепринятое для обычного специалиста в области, к которой относится настоящее изобретение. В противном случае, некоторые понятия, используемые в описании, имеют значения, указанные в спецификации.

Следует отметить, что в контексте настоящего описания и в прилагаемой формуле изобретения упоминание понятие в единственном числе относится к его упоминанию во множественном числе, если из контекста четко не следует иное.

5 Если не указано иное, любые численные значения, такие как концентрация или диапазон концентраций, указанные в настоящем описании, следует понимать как модифицируемые во всех случаях понятием "примерно". Таким образом, численное значение, как правило, включает  $\pm 10\%$  от указанного значения. Например, концентрация 1 мг/мл включает от 0,9 мг/мл до 1,1 мг/мл.  
10 Аналогично этому, концентрация в диапазоне от 1% до 10% (мас./об.) включает от 0,9% (мас./об.) до 11% (мас./об.). В контексте настоящего описания использование численного диапазона явно включает в себя все возможные поддиапазоны, все отдельные численные значения в пределах этого диапазона, включая целые числа в пределах таких диапазонов и доли значений, если из  
15 контекста четко не следует иное.

Если не указано иное, понятие "по меньшей мере", предшествующее ряду элементов, следует понимать как относящееся к каждому элементу в ряду. Специалистам в данной области это должно быть очевидно или они могут убедиться в этом, используя лишь обычные эксперименты, многие из которых эквивалентны конкретным вариантам осуществления настоящего изобретения.  
20 Подразумевается, что такие эквиваленты подпадают под объем настоящего изобретения.

В контексте настоящего описания понятия "содержит", "содержащий", "включает", "включающий", "имеет", "имеющий", "входит", "входящий" или  
25 любые другие их варианты подразумевают включение указанного целого числа или группы целых чисел, но не исключение любого другого целого числа или группы целых чисел, и предназначены для того, чтобы быть не исключающими или открытыми. Например, композиция, смесь, процесс, способ, изделие или устройство, которые содержат перечень элементов, не обязательно ограничены  
30 только этими элементами, но могут включать другие элементы, не перечисленные в явном виде или присущие такой композиции, смеси, процессу, способу, изделию или устройству. Кроме того, если специально не указано иное, "или" относится к условию, включающему "или", а не к исключаящему "или".  
Например, условию А или В удовлетворяет любое из следующих условий: А



истинно (или присутствует), а Б ложно (или не присутствует), А ложно (или не присутствует), а Б истинно (или присутствует), и оба А и Б истинны (или присутствуют).

5 В контексте настоящего описания подразумевается, что объединительное понятие "и/или" между несколькими перечисленными элементами охватывает как индивидуальные, так и комбинированные варианты. Например, когда два элемента соединены с помощью "и/или", первый вариант относится к возможности применения первого элемента без второго. Второй вариант относится к возможности применения второго элемента без первого. Третий вариант относится к возможности применения первого и второго элементов вместе. Предполагается, что любой из этих вариантов соответствует значению и, следовательно, удовлетворяет требованиям, предъявляемым к понятию "и/или", используемому в контексте настоящего описания. Одновременное применение более чем одного из вариантов также подразумевается как соответствующее значению и, следовательно, удовлетворяющее требованию понятия "и/или".

15 В контексте настоящего описания понятие "состоит из" или его варианты, такие как "состоят из" или "состоящий из", применяемое в настоящей спецификации и формуле изобретения, подразумевает включение любого приведенного целого числа или группы целых чисел, но указывает на то, что никакое дополнительное целое число или группа целых чисел не могут быть добавлены к конкретному способу, структуре или композиции.

20 В контексте настоящего описания понятие "практически состоит из" или его варианты, такие как "практически состоят из" или "практически состоящий из", применяемое в настоящей спецификации и формуле изобретения, подразумевает включение любого приведенного целого числа или группы целых чисел и необязательное включение любого приведенного целого числа или группы целых чисел, которые существенно не изменяют основные или новые свойства конкретного способа, структуры или композиции (см. М.Р.Е.Р. § 2111.03).

30 В контексте настоящего описания понятие "субъект" означает любое животное, предпочтительно млекопитающее, наиболее предпочтительно человека. Понятие "млекопитающее", используемое в настоящем описании, относится к любому млекопитающему. Примеры млекопитающих включают (но не ограничиваясь только ими) коров, лошадей, овец, свиней, кошек, собак,

мышей, крыс, кроликов, морских свинок, обезьян, людей и т.д., более предпочтительно человека.

Слова "правый", "левый", "нижний" и "верхний" обозначают направления на чертежах, на которые делается ссылка.

5 Должно быть очевидно, что понятия "примерно", "приблизительно", "в целом", "практически" и подобные понятия, используемые в настоящем описании при обозначении размера или характеристики предпочтительного согласно изобретению компонента, указывают на то, что описанный размер/характеристика не является строгой границей или параметром и не  
10 исключает незначительных отклонений от них, которые функционально являются аналогичными или сходными, как должно быть очевидно обычному специалисту в данной области. Как минимум, такие ссылки, включающие численный параметр, должны содержать отклонения, которые при  
15 использовании математических и промышленных принципов, принятых в данной области (например, округление, погрешности измерений или другие систематические ошибки, производственные допуски и т.д.), не изменяют меньшую значащую цифру.

Понятия "идентичные" или процент "идентичности" в контексте двух или  
20 большего количества нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей (например, антител к IL13Ra2 и полинуклеотидов, которые их кодируют, химерных антигенных рецепторов (CAR), содержащих антигенсвязывающие домены, специфические для IL13Ra2, и полинуклеотидов, которые их кодируют) относятся к двум или большему количеству  
25 последовательностей или подпоследовательностей, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент аминокислотных остатков или нуклеотидов, которые являются одинаковыми при сравнении и выравнивании для достижения максимального соответствия, по данным, полученным с использованием одного из следующих алгоритмов сравнения последовательностей или путем визуального осмотра.

30 При сравнении последовательностей, как правило, одну последовательность рассматривают в качестве эталонной последовательности, с которой сравнивают тестируемые последовательности. При использовании алгоритма сравнения последовательностей тестируемую и эталонную последовательности вводят в компьютер, при необходимости задают координаты

подпоследовательности и задают параметры программы алгоритма сравнения последовательностей. Затем алгоритм сравнения последовательностей рассчитывает на основе заданных параметров программы процент идентичности тестируемой(ых) последовательности(ей) относительно эталонной последовательности.

Оптимальное выравнивание последовательностей для их сравнения можно осуществлять, например, с помощью алгоритма локальной гомологии Smith и Waterman, *Adv. Appl. Math.*; 2, 1981, с. 482, с помощью алгоритма гомологичного выравнивания Needleman и Wunsch, *J. Mol. Biol.*; 48, 1970, с. 443, с помощью метода поиска сходства Pearson и Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA*; 85, 1988, с. 2444, с помощью компьютеризированных реализаций указанных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA, входящих в пакет программ Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Мэдисон, шт. Висконсин) или с помощью визуального анализа (см. описание общего подхода в *Current Protocols in Molecular Biology*, под ред. F.M. Ausubel и др., Current Protocols, совместное издательство Greene Publishing Associates, Inc. и John Wiley & Sons, Inc., дополнение 1995 г. (Ausubel)).

Примерами алгоритмов, пригодных для определения процента идентичности последовательностей и сходства последовательностей являются алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны у Altschul и др., *J. Mol. Biol.*; 215, 1990, сс. 403-410 и у Altschul и др., *Nucleic Acids Res.*; 25, 1997, сс. 3389-3402 соответственно. Программное обеспечение для проведения анализа с помощью алгоритма BLAST находится в открытом доступе в Национальном центре биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information). С помощью этого алгоритма сначала идентифицируют пары последовательностей с высокой оценкой (сходства) (HSP) путем идентификации коротких слов длины  $W$  в запрашиваемой последовательности, которые при выравнивании со словом той же длины в последовательности из базы данных либо совпадают, либо удовлетворяют некоторому положительному пороговому значению оценки (сходства)  $T$ .  $T$  называют пороговым значением оценки (сходства) соседнего слова (Altschul и др., выше). Эти начальные соседние слова-хиты (наиболее сходные соседние слова) служат затравками для инициации поиска более длинных содержащих их HSP. После этого слова-хиты

удлиняют в обоих направлениях вдоль каждой последовательности до тех пор, пока это может приводить к увеличению кумулятивной оценки выравнивания.

Для нуклеотидных последовательностей кумулятивные оценки рассчитывают с использованием параметров  $M$  (призовая оценка за пару совпадающих остатков; всегда  $> 0$ ) и  $N$  (штрафная оценка за несовпадающие остатки; всегда  $< 0$ ). При расчете кумулятивной оценки для аминокислотных последовательностей используют оценочную матрицу. Удлинение слов-хитов прекращают в том случае, если: кумулятивная оценка выравнивания снижается на величину  $X$  относительно ее максимальной достигнутой величины; кумулятивная оценка становится равной нулю или ниже нуля из-за накопления одного или нескольких остатков, негативно оцененных при выравнивании; или достигается конец одной из последовательностей. Параметры алгоритма BLAST  $W$ ,  $T$  и  $X$  определяют чувствительность и скорость выравнивания. В программе BLASTN (для нуклеотидных последовательностей) в качестве задаваемых по умолчанию параметров используют длину слова ( $W$ ) 11, ожидание ( $E$ ) 10,  $M=5$ ,  $N=-4$  и осуществляют сравнение обеих цепей. Для аминокислотных последовательностей в программе BLASTP в качестве задаваемых по умолчанию параметров используют длину слова ( $W$ ) 3, ожидание ( $E$ ) 10 и оценочную матрицу BLOSUM62 (см. Henikoff и Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA; 89, 1989, с. 10915).

Помимо расчета процента идентичности последовательностей алгоритм BLAST позволяет осуществлять статистический анализ сходства двух последовательностей (см., например, Karlin и Altschul, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA; 90, 1993, сс. 5873-5787). Одним из показателей сходства, определяемых алгоритмом BLAST, является наименьшая суммарная вероятность ( $P(N)$ ), которая указывает на вероятность случайного совпадения двух нуклеотидных или аминокислотных последовательностей. Например, нуклеиновая кислота считается сходной с эталонной последовательностью, если наименьшая суммарная вероятность при сравнении тестируемой нуклеиновой кислоты с эталонной нуклеиновой кислотой составляет менее чем примерно 0,1, более предпочтительно менее чем примерно 0,01 и наиболее предпочтительно менее чем примерно 0,001.

Дополнительным показателем того, что две последовательности нуклеиновых кислот или два полипептида практически идентичны, является то,

что полипептид, кодируемый первой нуклеиновой кислотой, иммунологически перекрестно реагирует с полипептидом, кодируемым второй нуклеиновой кислотой, что описано ниже.

5 Так, полипептид, как правило, практически идентичен второму полипептиду, например, если два пептида отличаются только консервативными заменами. Другим показателем того, что две нуклеотидные последовательности являются практически идентичными, является то, что две молекулы гибридизуются друг с другом в строгих условиях.

10 В контексте настоящего описания понятие "выделенный" относится к биологическому компоненту (такому как нуклеиновая кислота, пептид или белок), практически отделенному, полученному отдельно или очищенному от других биологических компонентов организма, в котором этот компонент встречается в естественных условиях, т.е. от других хромосомных и внехромосомных ДНК и РНК и белков. Таким образом, "выделенные"

15 нуклеиновые кислоты, пептиды и белки включают нуклеиновые кислоты и белки, очищенные стандартными методами очистки. "Выделенные" нуклеиновые кислоты, пептиды и белки могут являться частью композиции и все еще могут являться выделенными, если композиция не является частью нативного окружения нуклеиновой кислоты, пептида или белка. Под понятие подпадают

20 также нуклеиновые кислоты, пептиды и белки, полученные путем рекомбинантной экспрессии в клетке-хозяине, а также химически синтезированные нуклеиновые кислоты.

В контексте настоящего описания понятие "полинуклеотид", синонимом которого являются также понятия "молекула нуклеиновой кислоты",

25 "нуклеотиды" или "нуклеиновые кислоты", относится к любому полирибонуклеотиду или полидезоксирибонуклеотиду, который может представлять собой немодифицированную РНК или ДНК или модифицированную РНК или ДНК. "Полинуклеотиды" включают (но не ограничиваясь только ими) одно- и двухцепочечную ДНК, ДНК, которая

30 представляет собой смесь одно- и двухцепочечных областей, одно- и двухцепочечную РНК, РНК, которая представляет собой смесь одно- и двухцепочечных областей, гибридные молекулы, содержащие ДНК и РНК, которые могут быть одноцепочечными или более типично двухцепочечными или представлять собой смесь одно- и двухцепочечных областей. Кроме того,

понятие "полинуклеотид" относится к трехцепочечным областям, которые содержат РНК или ДНК или и РНК, и ДНК. Понятие "полинуклеотид" включает также ДНК или РНК, содержащие одно или несколько модифицированных оснований, и ДНК или РНК с каркасами, модифицированными для стабильности или по другим причинам. "Модифицированные" основания включают, например, тритилированные основания и неканонические основания, такие как инозин. ДНК и РНК можно подвергать различным модификациям; таким образом, под понятие "полинуклеотид" подпадают химически, ферментативно или метаболически модифицированные формы полинуклеотидов, которые обычно встречаются в природе, а также химические формы ДНК и РНК, характерные для вирусов и клеток. Под понятие "полинуклеотид" подпадают также нуклеиновые кислоты с относительно короткими цепями, которые часто называют олигонуклеотидами.

В контексте настоящего описания понятие "вектор" относится к репликону, в который может быть функционально встроен другой сегмент нуклеиновой кислоты для осуществления репликации или экспрессии сегмента.

В контексте настоящего описания понятие "клетка-хозяин" относится к клетке, которая содержит молекулу нуклеиновой кислоты, предлагаемую в изобретении. "Клетка-хозяин" может представлять собой клетку любого типа, например, первичную клетку, клетку в культуре или клетку из клеточной линии. В одном из вариантов осуществления изобретения "клетка-хозяин" представляет собой клетку, трансфектированную молекулой нуклеиновой кислоты, предлагаемой в изобретении. В другом варианте осуществления изобретения "клетка-хозяин" представляет собой потомство или потенциальное потомство указанной трансфектированной клетки. Потомство клетки может быть или может не быть идентичным родительской клетке, например, из-за мутаций или воздействий окружающей среды, которые могут произойти в последующих поколениях, или интеграции молекулы нуклеиновой кислоты в геном клетки-хозяина.

В контексте настоящего описания понятие "экспрессия" относится к биосинтезу генного продукта. Под понятие подпадает транскрипция гена в РНК, Под понятие подпадает также трансляция РНК в один или несколько полипептидов, а также подпадают все встречающиеся в естественных условиях пост-транскрипционные и пост-трансляционные модификации.

Экспрессированное антитело может находиться в цитоплазме клетки-хозяина, во внеклеточных средах, таких как среда роста культуры клеток, или может быть прикреплено к клеточной мембране.

В контексте настоящего описания понятия "пептид", "полипептид" или "белок" могут относиться к молекуле, состоящей из аминокислот, и специалисты в данной области могут рассматривать их как белки. В настоящем описании для обозначения аминокислотных остатков используют общепринятый однобуквенный или трехбуквенный код. В контексте настоящего описания понятия "пептид", "полипептид" и "белок" можно использовать взаимозаменяемо для обозначения аминокислотных полимеров, имеющих различную длину. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты и он может прерываться соединениями, не относящимися к аминокислотам. Под понятие подпадает также аминокислотный полимер, модифицированный в естественных условиях или путем вмешательства; например, в результате образования дисульфидной связи, гликозилирования, липидирования, ацетилирования, фосфорилирования или любых других манипуляций или модификаций, таких как конъюгация с компонентом, представляющим собой метку. Под понятие подпадают также, например, полипептиды, содержащие один или несколько аналогов аминокислот (включая, например, не встречающиеся в естественных условиях аминокислоты и т.д.), а также другие модификации, известные в данной области.

В настоящем описании пептидные последовательности записаны в соответствии с общепринятым правилом, согласно которому N-концевая область пептида находится слева, а C-концевая область - справа. Хотя известны изомерные формы аминокислот, аминокислоты представлены в L-форме, если четко не указано иное.

#### Химерный антигенный рецептор (CAR)

В контексте настоящего описания понятие "химерный антигенный рецептор" (CAR) относится к рекомбинантному полипептиду, содержащему по меньшей мере внеклеточный домен, который связывается специфически с антигеном или мишенью, трансмембранный домен и внутриклеточный активирующий T-клеточный рецептор сигнальный домен. Взаимодействие внеклеточного домена CAR с антигеном-мишенью на поверхности клетки-мишени приводит к кластеризации CAR и передаче активирующего стимула к

клетке, содержащей CAR. CAR перенаправляют специфичность иммунных эффекторных клеток и запускают пролиферацию, выработку цитокинов, фагоцитоз и/или производство молекул, которые могут опосредовать гибель клеток, экспрессирующих антиген-мишень, независимым от главного комплекса гистосовместимости (МНС) образом.

В одном из объектов изобретения CAR содержит антигенсвязывающий домен, шарнирную область, костимуляторный домен, активирующий домен и трансмембранную область. В одном из объектов изобретения CAR содержит антигенсвязывающий домен, шарнирную область, два костимуляторных домена, активирующий домен и трансмембранную область. В одном из объектов изобретения CAR содержит два антигенсвязывающих домена, шарнирную область, костимуляторный домен, активирующий домен и трансмембранную область. В одном из объектов изобретения CAR содержит два антигенсвязывающих домена, шарнирную область, два костимуляторных домена, активирующий домен и трансмембранную область.

В контексте настоящего описания понятие "сигнальный пептид" относится к лидерной последовательности на аминоконце (N-конце) формирующегося белка CAR, которая котрансляционно или посттрансляционно направляет формирующийся белок к эндоплазматическому ретикулуму с последующей его экспрессией на поверхности.

В контексте настоящего описания понятие "внеклеточный антигенсвязывающий домен", "внеклеточный домен" или "внеклеточный лигандсвязывающий домен" относится к участку CAR, который расположен вне клеточной мембраны и обладает способностью связываться с антигеном, мишенью или лигандом.

В контексте настоящего описания понятие "шарнирный домен" относится к участку CAR, который соединяет два соседних домена белка CAR, например, внеклеточный домен и трансмембранный домен.

В контексте настоящего описания понятие "трансмембранный домен" относится к участку CAR, который пересекает клеточную мембрану и прикрепляет CAR к клеточной мембране. Его иногда обозначают как "трансмембранная область".



### Костимуляторные домены

Согласно настоящему описанию химерные антигенные рецепторы могут включать костимуляторные (сигнальные) домены, усиливающие их эффективность. Костимуляторный (сигнальный) домен можно получать из

5 костимуляторной молекулы. Костимуляторные молекулы представляет собой молекулы клеточной поверхности, отличные от рецепторов антигенов или их лигандов, которые необходимы для эффективного иммунного ответа.

Костимуляторные домены можно получать из костимуляторных молекул, которые могут включать (но не ограничиваясь только ими) CD28, CD28T, OX40,

10 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (альфа, бета, дельта, эпсилон, гамма, дзета), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD33, CD37, CD40, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, белок запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1), индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS), связанный с функцией лимфоцитов антиген-1 (LFA-1; CD11a и CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT

15 (член 14 суперсемейства факторов некроза опухоли; TNFSF14), NKG2C, Ig-альфа (CD79a), DAP10, Fc-гамма рецептор, молекула МНС класса I, TNFR, интегрин, сигнальная молекула активации лимфоцитов, BTLA, лиганд Толл-подобного рецептора, ICAM-1, CDS, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD8-альфа,

20 CD8-бета, IL-2R-бета, IL-2R-гамма, IL-7R-альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2 (CD18), ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD 160 (BY55), PSGL1,

25 CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганд CD8, рецептор цитокина, активирующие NK-клетки рецепторы или их фрагменты или любые их комбинации.

### Активирующие домены

30 Согласно настоящему описанию химерные антигенные рецепторы могут содержать активирующие домены. Активирующие домены могут включать (но не ограничиваясь только им) CD3. CD3 представляет собой элемент Т-клеточного рецептора на нативных Т-клетках, и как установлено, является важным внутриклеточным активирующим элементом в CAR. В

предпочтительном варианте осуществления изобретения CD3 представляет собой CD3-дзета.

#### Шарнирная область

5 Как указано в настоящем описании химерный антигенный рецептор может содержать шарнирную область. Она представляет собой участок внеклеточного домена, который иногда обозначают как "спейсерная" область. Согласно изобретению можно применять широкое разнообразие шарнирных областей, включая костимуляторные молекулы, указанные выше, последовательности иммуноглобулинов (Ig) или другие пригодные молекулы для достижения 10 желаемого конкретного расстояния от клетки-мишени. В некоторых вариантах осуществления изобретения полная внеклеточная область содержит шарнирную область.

#### Трансмембранная область

15 Согласно настоящему описанию химерные антигенные рецепторы (CAR) могут содержать трансмембранную область/трансмембранный домен. CAR можно создавать так, что он содержит трансмембранный домен, слитый с внеклеточным доменом CAR. Его можно сливать также с внутриклеточным доменом CAR. В одном из вариантов осуществления изобретения применяют трансмембранный домен, который в естественных условиях ассоциирован с 20 одним из доменов в CAR. В некоторых случаях трансмембранный домен можно модифицировать путем аминокислотной замены во избежание связывания таких доменов с трансмембранными доменами таких же или других поверхностных мембранных белков, для того, чтобы сводить к минимуму взаимодействие с другими членами рецепторного комплекса, или выбрать так, чтобы он обладал 25 указанными свойствами. Трансмембранный домен можно получать из встречающегося в естественных условиях или синтетического источника. Если источник встречается в естественных условиях, то домен можно получать из любого связанного с мембраной или трансмембранного белка. Трансмембранные области, которые применяют конкретно в настоящем изобретении, можно 30 получать из (т.е. они содержат или их конструируют из) (но не ограничиваясь только ими) CD28, CD28T, OX40, 4-1BB/CD137, CD2, CD3 (альфа, бета, дельта, эпсилон, гамма, дзета), CD4, CD5, CD7, CD9, CD16, CD22, CD27, CD30, CD33, CD37, CD40, CD45, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, белка запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1), индуцибельного костимулятора T-

клеток (ICOS), связанного с функцией лимфоцитов антигена-1 (LFA-1; CD11a и CD18), CD247, CD276 (B7-H3), LIGHT (член 14 суперсемейства факторов некроза опухоли; TNFSF14), NKG2C, Ig-альфа (CD79a), DAP10, Fc-гамма рецептора, молекулы МНС класса I, TNFR, интегрина, сигнальной молекулы активации лимфоцитов, BTLA, лиганда Толл-подобного рецептора, ICAM-1, CDS, GITR, BAFFR, LIGHT, HVEM (LIGHTR), KIRDS2, SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD19, CD8-альфа, CD8-бета, IL-2R-бета, IL-2R-гамма, IL-7R-альфа, ITGA4, VLA1, CD49a, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, ITGAM, ITGAX, ITGB1, CD29, ITGB2 (CD18), ITGB7, NKG2D, TNFR2, TRANCE/RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD 160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG/Cbp, CD19a, лиганда CD83, рецептора цитокина, активирующих NK-клетки рецепторов или их фрагментов или любых их комбинаций.

#### Иммунные клетки

Согласно конкретным объектам изобретения в нем предложены клетки, представляющие собой иммунные клетки, которые содержат выделенные полинуклеотиды или векторы, содержащие выделенные полинуклеотиды, которые содержат нуклеотидные последовательности, кодирующие CAR, представленные в настоящем описании. Иммунные клетки, содержащие выделенные полинуклеотиды и/или векторы, предлагаемые в изобретении, можно обозначать как "сконструированные иммунные клетки". Предпочтительно сконструированные иммунные клетки являются человеческими (имеют человеческое происхождение до того, как они станут рекомбинантными).

Сконструированные иммунные клетки могут представлять собой, например, клетки лимфоидной линии. Примеры клеток лимфоидной линии могут включать (но не ограничиваясь только ими) Т-клетки и естественные клетки-киллеры (NK). Т-клетки экспрессируют Т-клеточный рецептор (TCR), при этом большинство клеток экспрессируют  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи, и меньшая популяция экспрессирует  $\gamma$ - и  $\delta$ -цепи. Т-клетки, которые можно применять в качестве сконструированных иммунных клеток, предлагаемых в изобретении, могут представлять собой  $CD4^+$ - или  $CD8^+$ -клетки и могут включать (но не

ограничиваясь только ими) хелперы Т-клетки (CD4<sup>+</sup>), цитотоксические Т-клетки (которые обозначают также как цитотоксические Т-лимфоциты, CTL; CD8<sup>+</sup>-клетки) и Т-клетки памяти, включая центральные Т-клетки памяти, стволовые Т-клетки памяти и эффекторные Т-клетки памяти, естественные Т-клетки-киллеры, инвариантные Т-клетки, ассоциированные со слизистой оболочкой, и  $\gamma\delta$ -Т-клетки. Другие примеры иммунных клеток включают (но не ограничиваясь только ими) макрофаги, антигенпрезентирующие клетки (APC) или любые иммунные клетки, которые экспрессируют ингибитор опосредуемого клетками иммунного ответа, например, рецептор ингибитора пути иммунной контрольной точки (например, PD-1). Клетки-предшественники иммунных клеток, которые можно использовать согласно изобретению, включают гематопоэтические стволовые клетки и/или клетки-предшественники. Гематопоэтические стволовые клетки и/или клетки-предшественники можно получать из костного мозга, пуповинной крови, периферической крови взрослого человека после мобилизации цитокинов и т.п. с помощью методов, известных в данной области. Иммунные клетки можно конструировать для рекомбинантной экспрессии CAR, предлагаемых в изобретении.

Иммунные клетки и их клетки-предшественники можно выделять методами, известными в данной области, включая поступающие в продажу наборы для осуществления методов (см., например, Rowland Jones и др., *Lymphocytes: A Practical Approach*, изд-во Oxford University Press, NY, 1999). Источники иммунных клеток или их предшественников включают (но не ограничиваясь только ими) периферическую кровь, пуповинную кровь, костный мозг или другие источники гемопоэтических клеток. Для отделения выделенных или обогащенных требуемых иммунных клеток можно применять различные технологии. Например, методы негативной селекции можно применять для удаления клеток, которые не относятся к требуемым иммунным клеткам. Кроме того, методы позитивной селекции можно применять для выделения или обогащения требуемых иммунных клеток или их предшественников, или можно применять комбинацию методов позитивной и негативной селекции. Если требуется выделять конкретный тип клеток, например, конкретную Т-клетку, то для отделения клеток можно применять различные маркеры клеточной поверхности или комбинации маркеров (например, CD3, CD4, CD8, CD34).

В способах лечения, предлагаемых в изобретении, иммунные клетки или их предшественники могут быть аутологичными или неаутологичными по отношению к субъекту, которому их вводят. Аутологичные клетки выделяют из организма субъекта, которому требуется вводить сконструированные иммунные клетки, экспрессирующие рекомбинантный CAR. Не обязательно клетки можно получать с помощью лейкофереза, при котором лейкоциты избирательно удаляют из взятой крови, подвергают рекомбинации, а затем повторно вводят донору. Альтернативно этому, можно использовать аллогенные клетки из неаутологичного донора, который не представляет собой указанного субъекта. В случае неаутологичного донора клетки типировать и сопоставлять по человеческому лейкоцитарному антигену (HLA) для определения соответствующего уровня совместимости. Как аутологичные, так и неаутологичные клетки можно дополнительно подвергать криоконсервации до применения.

Различные методы выделения иммунных клеток, которые можно использовать для рекомбинантной экспрессии CAR, предлагаемых в изобретении, описаны ранее и для их применения можно использовать (но не ограничиваясь только ими) периферические лимфоциты доноров (Sadelain и др., Nat. Rev. Cancer 3, 2003, сс. 35-45; Morgan и др., Science 314, 2006, сс. 126-129), используя культуры лимфоцитов, полученных из инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL) в биопсиях опухолей (Panelli и др., J. Immunol. 164, 2000, сс. 495-504; Panelli и др., J. Immunol. 164, 2000, сс. 4382-4392), и используя селективно размноженные *in vitro* антигенспецифические лейкоциты периферической крови с применением искусственных антигенпрезентирующих клеток (AAPC) или дендритных клеток (Dupont и др., Cancer Res. 65, 2005, сс. 5417-5427; Papanicolaou и др., Blood 102, 2003, сс. 2498-2505). В случае применения стволовых клеток клетки можно выделять с помощью методов, хорошо известных в данной области (см., например, Klug и др., Hematopoietic Stem Cell Protocols, изд-во Humana Press, NJ, 2002; Freshney и др., Culture of Human Stem Cells, изд-во John Wiley & Sons, 2007).

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения способ получения сконструированных иммунных клеток включает трансфекцию или трансдукцию иммунных эффекторных клеток, выделенных из индивидуума, таких как иммунные эффекторные клетки, которые экспрессируют один или

несколько CAR, указанных в вариантах осуществления изобретения. Методы подготовки иммунных клеток для иммунотерапии описаны, например, в WO 2014/130635, WO 2013/176916 и WO 2013/176915, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки. Отдельные стадии, которые можно  
5 применять для подготовки сконструированных иммунных клеток, описаны, например, в WO 2014/039523, WO 2014/184741, WO 2014/191128, WO 2014/184744 и WO 2014/184143, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки.

В конкретном варианте осуществления изобретения иммунные  
10 эффекторские клетки, такие как Т-клетки, генетически модифицируют с помощью CAR, предлагаемых в изобретении (например, трансдуцируют вирусным вектором, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR), а затем активируют и размножают *in vitro*. В различных вариантах осуществления изобретения Т-клетки можно активировать и размножить до или  
15 после генетической модификации, приводящей к экспрессии CAR, применяя методы, описанные, например, в US6352694, US6534055, US6905680, US6692964, US5858358, US6887466, US6905681, US7144575, US7067318, US7172869, US7232566, US7175843, US5883223, US6905874, US6797514, US6867041, US2006/121005, которые включены в настоящее описание в качестве  
20 ссылки. Т-клетки можно размножать *in vitro* или *in vivo*. Как правило, Т-клетки, предлагаемые в изобретении, можно размножить путем контакта с поверхностью, к которой прикреплен агент, который стимулирует сигнал, связанный с комплексом CD3/TCR, и лиганд, который стимулирует костимуляторную молекулу на поверхности Т-клеток. В качестве не  
25 ограничивающих объем изобретения примеров популяции Т-клеток можно стимулировать согласно указанным в описании методам, например, путем контакта с антителом к CD3 или его антигенсвязывающим фрагментом или антителом к CD3, иммобилизованным на поверхности, или путем контакта с активатором протеинкиназы С (например, бриостатином) в сочетании с  
30 ионофором кальция, или путем активации самого CAR. Для совместной стимуляции вспомогательной молекулы на поверхности Т-клеток используют лиганд, который связывает вспомогательную молекулу. Например, популяцию Т-клеток можно приводить в контакт с антителом к CD3 и антителом к CD28 в условиях, пригодных для стимуляции пролиферации Т-клеток. Условия,

пригодные для культивирования Т-клеток, включают, например, соответствующие среды (например, минимальную поддерживающую среду или среду RPMI 1640 или X-vivo 5 (фирма Lonza)), которые могут содержать факторы, необходимые для пролиферации и жизнеспособности, включая сыворотку (например, эмбриональную бычью или человеческую сыворотку), цитокины, такие как IL-2, IL-7, IL-15 и/или IL-21, инсулин, IFN-g, GM-CSF, TGFβ и/или любые другие добавки для роста клеток, известные специалисту в данной области. В других вариантах осуществления изобретения Т-клетки можно активировать и стимулировать их пролиферацию с помощью фидерных клеток и соответствующих антител и цитокинов, используя методы, описанные в US6040177, US5827642 и WO 2012/129514, которые включены в настоящее описание в качестве ссылки.

#### Антитела и антигенсвязывающие домены

Настоящее изобретение относится в целом к выделенным антителам к IL13Ra2; химерным антигенным рецепторам (CAR); нуклеиновым кислотам и экспрессионным векторам, которые кодируют антитела и CAR; рекомбинантным клеткам, содержащим векторы; и композициям, содержащим антитела, CAR и рекомбинантные клетки, которые экспрессируют CAR. Настоящее изобретение в целом относится также к способам создания антител и CAR и способам применения антител и CAR для лечения заболеваний, которые включают (но не ограничиваясь только ими) рак, воспалительные заболевания и аутоиммунные заболевания. Антитела и антигенсвязывающие домены CAR, предлагаемые в изобретении, обладают одним или несколькими требуемыми функциональными свойствами, включая (но не ограничиваясь только ими) высокоаффинное связывание с IL13Ra2, высокую специфичность в отношении IL13Ra2, способность стимулировать комплементзависимую цитотоксичность (CDC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) и/или антитело-обусловленную клеточнозависимую цитотоксичность (ADCC) в отношении клеток, экспрессирующих IL13Ra2, и способность ингибировать рост опухолей у субъектов на животных моделях при введении индивидуально или в комбинации с другими противораковыми терапиями.

Основным объектом изобретения являются выделенные моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с IL13Ra2.

В контексте настоящего описания понятие "антитело" применяют в широком смысле, и оно включает молекулы иммуноглобулина или антитела, включая человеческие, гуманизированные, композитные и химерные антитела и фрагменты антител, которые являются моноклональными или поликлональными.

5 В целом, антитела представляют собой белки или пептидные цепи, которые обладают способностью специфически связываться со специфическим антигеном. Структуры антител хорошо известны. Иммуноглобулины могут принадлежать к пяти основным классам (т.е. IgA, IgD, IgE, IgG и IgM) в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG дополнительно подразделяют на подклассы, такие как изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Таким образом, антитела, предлагаемые в изобретении, могут относиться к любому из пяти основных классов или к соответствующим подклассам. Предпочтительно антитела, предлагаемые в изобретении, представляют собой IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4.

15 Легкие цепи антител позвоночных животных могут принадлежать к одному из двух четко различающихся типов, а именно, каппа и лямбда, на основе аминокислотных последовательностей их константных доменов. Таким образом, антитела, предлагаемые в изобретении, могут содержать константный домен легкой каппа- или лямбда цепи. Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения антитела, предлагаемые в изобретении, включают константные области тяжелых и/или легких цепей крысиных или человеческих антител. Помимо константных доменов тяжелых и легких цепей антитела содержат антигенсвязывающий участок, состоящий из варибельной области легкой цепи и варибельной области тяжелой цепи, каждая из которых содержит три домена

20 (т.е. определяющие комплементарность участки 1-3; CDR1, CDR2 и CDR3). Альтернативно этому, домены варибельной области легкой цепи альтернативно обозначают как LCDR1, LCDR2 и LCDR3, а домены варибельной области тяжелой цепи альтернативно этому обозначают как HCDR1, HCDR2 и HCDR3.

"Определяющие комплементарность участки (гиперварибельные участки)"

30 (CDR) представляют собой участки антитела, которые связываются с антигеном CDR можно описывать с использованием различных определений, например, представленных у Кэбота (Wu и др. J Exp Med 132, 1970, сс. 211-250) (Kabat и др., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-ое изд., изд-во Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), Чотиа (Chothia и др. J



Mol Biol 196, 1987, сс. 901-917), в IMGT (Lefranc и др. Dev Comp Immunol 27, 2003, сс. 55-77) и AbM (Martin и Thornton J Bmol Biol 263, 1996, сс. 800-815).  
Описано соответствие между различными определениями и нумерацией  
вариабельных областей (см., например, Lefranc и др. Dev Comp Immunol 27,  
5 2003, сс. 55-77; Honegger и Pluckthun, J Mol Biol 309, 2001, сс. 657-670, 2001;  
международная база данных ImMunoGeneTics (IMGT); Веб-ресурсы,  
http://www\_imgt\_org). Для определения CDR можно использовать доступные  
программы, такие как abYsis UCL Business PLC. В контексте настоящего  
описания понятия "CDR", "HCDR1", "HCDR2", "HCDR3", "LCDR1", "LCDR2" и  
10 "LCDR3" включают CDR, определенные с помощью любого из методов,  
описанных выше, т.е. методов Кэбота, Чотиа, IMGT или AbM, если из  
спецификации четко не следует иное. Соответствие между системой нумерации,  
включающей, например, нумерацию по Кэботу и уникальную систему  
нумерации IMGT, хорошо известно специалисту в данной области (см.,  
15 например, Kabat; Chothia; Martin; Lefranc и др.).

Таблица А. Определения CDR с помощью различных методов

	IMGT	Кэбот	AbM	Чотиа
V <sub>H</sub> CDR1	27-38	31-35	26-35	26-32
V <sub>H</sub> CDR2	56-65	50-65	50-58	53-55
V <sub>H</sub> CDR3	105-117	95-102	95-102	96-101
V <sub>L</sub> CDR1	27-38	24-34	24-34	26-32
V <sub>L</sub> CDR2	56-65	50-56	50-56	50-52
V <sub>L</sub> CDR3	105-117	89-97	89-97	91-96

В контексте настоящего описания понятие "выделенное антитело"  
относится к антителу, которое практически свободно от других антител,  
20 обладающих другими антигенными специфичностями (например, выделенное  
антитело, которое специфически связывается с IL13Ra2, практически свободно  
от антител, которые не связываются с таким же IL13Ra2). Кроме того,  
выделенное антитело практически свободно от других клеточных материалов  
и/или химических веществ.

25 В контексте настоящего описания понятие "моноклональное антитело"  
относится к антителу, полученному из практически гомогенной популяции  
антител, т.е. индивидуальные антитела, образующие популяцию, являются  
идентичными за исключением возможных встречающихся в естественных  
условиях мутаций, которые могут присутствовать в минорных количествах.  
30 Моноклональные антитела, предлагаемые в изобретении, можно получать

методом гибридом, с использованием технологии фагового дисплея, технологии клонирования генов отдельных лимфоцитов или методом рекомбинантной ДНК. Например, моноклональные антитела можно получать с помощью гибридомы, которая включает В-клетку, полученную из трансгенного животного кроме человека, такого как трансгенная мышь или крыса, которая имеет геном, содержащий трансген человеческой тяжелой цепи и трансген человеческой легкой цепи.

В контексте настоящего описания понятие "антигенсвязывающий фрагмент" и/или "антигенсвязывающий домен" относится к фрагменту антитела, такому, например, как димерное антитело (диабоди), Fab-, Fab'-, F(ab')<sub>2</sub>, Fv-фрагмент, стабилизированный дисульфидной связью Fv-фрагмент (dsFv), (dsFv)<sub>2</sub>, биспецифический dsFv (dsFv-dsFv'), стабилизированное дисульфидной связью димерное антитело (ds-диабоди), одноцепочечная молекула антитела (scFv), однодоменное антитело (sdab) и scFv-димер (двухвалентное димерное антитело), мультиспецифическое антитело, образованное из участка антитела, содержащего один или несколько CDR, камелизированное однодоменное антитело, нанободи, доменное антитело, двухвалентное доменное антитело или любой другой фрагмент антитела, который связывается с антигеном, но не содержит полную структуру антитела. Антигенсвязывающий фрагмент обладает способностью связываться с тем же антигеном, с которым связывается родительское антитело или фрагмент родительского антитела. Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область легкой цепи, константную область легкой цепи и Fd-сегмент тяжелой цепи. Согласно другим конкретным вариантам осуществления изобретения антигенсвязывающий фрагмент содержит Fab и F(ab'). Антигенсвязывающий домен обладает способностью связываться с тем же антигеном, с которым связывается родительское антитело. Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения антигенсвязывающий домен содержит одноцепочечную молекулу антитела (scFv).

В контексте настоящего описания понятие "одноцепочечное антитело" относится к каноническому для данной области одноцепочечному антителу, которое содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соединенные коротким пептидом, состоящим примерно из 15-20 аминокислот. В контексте настоящего описания понятие "однодоменное

антитело" относится к каноническому для данной области однодоменному антителу, которое содержит переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи или которое содержит только переменную область тяжелой цепи.

5 В контексте настоящего описания понятие "человеческое антитело" относится к антителу, продуцируемому в организме человека, или антителу, которое имеет аминокислотную последовательность, соответствующую антителу, которое продуцируется в организме человека, полученную с помощью любой технологии, известной в данной области. Указанное понятие  
10 "человеческое антитело" включает интактные или полноразмерные антитела, их фрагменты и/или антитела, содержащие по меньшей мере один полипептид человеческой тяжелой и/или легкой цепи.

В контексте настоящего описания понятие "гуманизированное антитело" и/или "гуманизированный антигенсвязывающий домен" относится к  
15 нечеловеческому антителу и/или нечеловеческому антигенсвязывающему домену, модифицированному для повышения гомологии последовательности с последовательностью человеческого антитела и/или человеческого антигенсвязывающего домена, в результате чего антигенсвязывающие свойства антитела и/или антигенсвязывающего домена сохраняются, но их антигенность в  
20 организме человека снижается.

В контексте настоящего описания понятие "химерное антитело" и/или "химерный антигенсвязывающий домен" относится к антителу и/или антигенсвязывающему домену, в котором аминокислотная последовательность молекулы иммуноглобулина имеет происхождение из двух или большего  
25 количества видов. Переменная область как легкой, так и тяжелой цепи часто соответствует переменной области антитела и/или антигенсвязывающего домена, имеющей происхождение из одного вида млекопитающего (например, мыши, крысы, кролика и т.д.), которая обладает требуемой специфичностью, аффинностью и потенциалом, а константные области соответствуют  
30 последовательностям антитела и/или антигенсвязывающего домена, имеющим происхождение из другого вида млекопитающего (например, человека), во избежание возникновения иммунного ответа у этого вида.

В контексте настоящего описания понятие "мультиспецифическое антитело" относится к антителу, которое содержит несколько

последовательностей вариабельных доменов иммуноглобулинов, в котором первая из нескольких последовательностей вариабельных доменов иммуноглобулинов обладает способностью специфически связываться с первым эпитопом, а вторая из нескольких последовательностей вариабельных доменов иммуноглобулинов обладает способностью специфически связываться со вторым эпитопом. В одном из вариантов осуществления изобретения первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например, одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления изобретения первый и второй эпитопы перекрываются или практически перекрываются. В одном из вариантов осуществления изобретения первый и второй эпитопы не перекрываются или практически не перекрываются. В одном из вариантов осуществления изобретения первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, например, разных белках (или разных субъединицах мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления изобретения мультиспецифическое антитело содержит третий, четвертый или пятый вариабельный домен иммуноглобулина. В одном из вариантов осуществления изобретения мультиспецифическое антитело представляет собой молекулу биспецифического антитела, молекулу триспецифического антитела или молекулу тетраспецифического антитела.

В контексте настоящего описания понятие "биспецифическое антитело" относится к мультиспецифическому антителу, которое связывается не более чем с двумя эпитопами или двумя антигенами. Биспецифическое антитело характеризуется первой последовательностью вариабельного домена иммуноглобулина, которая обладает способностью специфически связываться с первым эпитопом, и второй последовательностью вариабельного домена иммуноглобулина, которая обладает способностью специфически связываться со вторым эпитопом. В одном из вариантов осуществления изобретения первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например, одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления изобретения первый и второй эпитопы перекрываются или практически перекрываются. В одном из вариантов осуществления изобретения первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, например, разных белках (или разных субъединицах мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит

последовательность переменного домена тяжелой цепи и последовательность  
переменного домена легкой цепи, которые обладают способностью  
специфически связываться с первым эпитопом, и последовательность  
переменного домена тяжелой цепи и последовательность переменного  
5 домена легкой цепи, которые обладают способностью специфически связываться  
со вторым эпитопом. В одном из вариантов осуществления изобретения  
биспецифическое антитело содержит половину антитела или его фрагмент,  
обладающую/обладающий способностью специфически связываться с первым  
эпитопом, и половину антитела или его фрагмент, обладающую/обладающий  
10 способностью специфически связываться со вторым эпитопом. В одном из  
вариантов осуществления изобретения биспецифическое антитело содержит scFv  
или его фрагмент, обладающий способностью специфически связываться с  
первым эпитопом, и scFv или его фрагмент, обладающий способностью  
специфически связываться со вторым эпитопом. В одном из вариантов  
15 осуществления изобретения первый эпитоп локализован на IL13Ra2,  
предлагаемом в настоящем изобретении, а второй эпитоп локализован на PD-1,  
PD-L1, TIM-3, LAG-3, CTLA-4, EGFR, HER-2, CD19, CD20, CD33, CD3, CD73,  
CD47, TIG-1, GPC-3, апелине, DLL3, альфа-рецепторе фолиевой кислоты,  
клаудине 18.2 и/или других иммуносупрессорах, ассоциированных с опухолью,  
20 или поверхностных антигенах. В одном из вариантов осуществления  
изобретения первый и второй эпитопы локализованы на одном и том же  
IL13Ra2, предлагаемом в настоящем изобретении.

В контексте настоящего описания антитело и/или антигенсвязывающий  
домен, которое/который "специфически связывается с IL13Ra2" относится к  
25 антителу и/или антигенсвязывающему домену, связывание которого с IL13Ra2,  
предпочтительно человеческим IL13Ra2, характеризуется величиной KD,  
составляющей  $1 \times 10^{-7}$  М или менее, предпочтительно  $1 \times 10^{-8}$  М или менее, более  
предпочтительно  $5 \times 10^{-9}$  М или менее,  $1 \times 10^{-9}$  М или менее,  $5 \times 10^{-10}$  М или менее  
или  $1 \times 10^{-10}$  М или менее. Понятие "KD" относится к константе диссоциации,  
30 которую получают из соотношения Kd к Ka (т.е. Kd/Ka) и выражают в виде  
молярной концентрации (М). Величины KD антител и/или антигенсвязывающих  
доменов можно определять, используя методы, известные в области, к которой  
относится настоящее изобретение. Например, KD антитела и/или  
антигенсвязывающих доменов можно определять с помощью поверхностного

плазмонного резонанса, например, с использованием биосенсорной системы, такой как Viacore®-система, или с помощью технологии биослойной интерферометрии, такой как система Octet RED96.

5 Чем меньшей величина KD антитела и/или антигенсвязывающего домена, тем выше аффинность, с которой антитело и/или антигенсвязывающий домен связывается с антигеном-мишенью.

10 В контексте настоящего описания понятие "IC<sub>50</sub>" относится к половине максимальной ингибирующей концентрации моноклонального или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предлагаемого в изобретении. IC<sub>50</sub> является мерой эффективности моноклонального или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предлагаемого в изобретении, в отношении ингибирования связывания антигена-мишени (т.е. рецептора или лиганда) с его встречающимся в естественных условиях лигандом или рецептором или в отношении  
15 ингибирования функции антигена-мишени в клетке. В некоторых вариантах осуществления изобретения моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет величину KD, которая ниже примерно 10<sup>-7</sup>М, ниже примерно 10<sup>-8</sup>М, ниже примерно 10<sup>-9</sup>М, ниже примерно 10<sup>-10</sup>М, ниже  
20 примерно 10<sup>-11</sup>М, ниже примерно 10<sup>-12</sup>М или ниже примерно 10<sup>-13</sup>М.

В контексте настоящего описания понятие "EC<sub>50</sub>" относится к половине максимальной эффективной концентрации моноклонального или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предлагаемого в изобретении. Понятие "EC<sub>50</sub>" относится к концентрации  
25 моноклонального или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, индуцирующей биологический ответ (т.е. гибель клетки), в виде среднего значения между базовой линией и максимумом в течение заданного времени экспозиции. В некоторых вариантах осуществления изобретения моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или  
30 биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент имеет величину EC<sub>50</sub>, составляющую менее примерно 1мкМ, от примерно 1000нМ до примерно 100нМ, от примерно 100нМ до примерно 10нМ, от примерно 10нМ до примерно 1нМ, от примерно 1000пМ до примерно 500пМ, от примерно 500пМ до примерно 200пМ, менее примерно 200пМ, от примерно 200пМ до примерно

150пМ, от примерно 200пМ до примерно 100пМ, от примерно 100пМ до примерно 10пМ или от примерно 10пМ до примерно 1пМ.

Согласно конкретному объекту изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту или химерному антигенному рецептору (CAR), содержащему антигенсвязывающий домен, при этом моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или антигенсвязывающий домен содержит определяющий комплементарность участок 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 тяжелой цепи, определяющий комплементарность участок 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 легкой цепи, которые имеют следующие полипептидные последовательности:

- (1) SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8 соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно;
- (2) SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно;
- (3) SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37, 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно;
- (4) SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно;
- (5) SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно;
- (6) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно;
- (7) SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно;
- (8) SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно;
- (9) SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно SEQ ID NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126 соответственно;
- (10) SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно;
- (11) SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно;
- (12) SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно; или

(13) SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно;

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или антигенсвязывающий домен специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

Согласно другому конкретному объекту изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту или химерному антигенному рецептору (CAR), содержащему антигенсвязывающий домен, при этом моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или антигенсвязывающий домен содержит полипептидную последовательность вариабельной области тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична одной из SEQ ID NO: 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155 или 169, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична одной из SEQ ID NO: 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 100, 114, 128, 142, 156 или 170.

Согласно другому конкретному объекту изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, или антигенсвязывающему домену, предлагаемому в изобретении, содержащему:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16;

(3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 29, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 30;



(4) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 44;

5 (5) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 57, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 58;

(6) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 71, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 72;

10 (7) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 85, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 86;

(8) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 99, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 100;

15 (9) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114;

20 (10) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128;

(11) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142;

25 (12) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 155, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 156; или

(13) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 169, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 170.

30 Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8

соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 2. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 15, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 16. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент,

содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37, 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 30. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 29; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 30.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 44. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 43; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 44.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 57, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 58. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 57; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 58.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 71, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 72. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID

NO: 71; и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 72.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 85, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 86. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 85; и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 86.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 99, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 100. Предпочтительно

выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 99; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 100.

5 Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно или SEQ ID NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126  
10 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или  
15 99% идентична SEQ ID NO: 113, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 114. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент  
20 содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент,  
25 содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит  
30 переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 127, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%,

предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 128. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 141, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 142. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141; и переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или

99% идентична SEQ ID NO: 155, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 156. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 155; и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 156.

Одним из вариантов осуществления изобретения является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, которые имеют полипептидные последовательности SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно. В другом варианте осуществления изобретения выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 169, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% или более, например, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 170. Предпочтительно выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 169; и вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 170.

Согласно другому конкретному объекту изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, предлагаемому в изобретении, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным.

Согласно другому конкретному объекту изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, предлагаемому в изобретении, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим или гуманизированным.



Согласно другому конкретному объекту изобретения гуманизированное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 183, 184, 185, 186, 191, 192, 193, 197, 198, 199, 203, 204, 207, 208, 211 или 212, или переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 205, 206, 209, 210 или 213.

Согласно другому конкретному объекту изобретения гуманизированное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(2) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

(3) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;

(4) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(5) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(6) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

(7) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;







(41) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 209;

5 (42) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 210;

(43) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 211, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213; или

10 (44) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 212, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213.

Согласно другому конкретному объекту изобретения антигенсвязывающий домен представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv),  
15 который специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения кодируемый антигенсвязывающий домен представляет собой гуманизированный одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), который специфически  
20 связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен представляет собой гуманизированный одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), который специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

25 В некоторых вариантах осуществления изобретения кодируемый антигенсвязывающий домен представляет собой гуманизированный одноцепочечный переменный фрагмент (scFv), который специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2. В некоторых вариантах осуществления изобретения антигенсвязывающий домен представляет собой гуманизированный одноцепочечный переменный фрагмент (scFv),  
30 который специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

Согласно другому конкретному объекту изобретения химерный антигенный рецептор содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов.

Согласно другому конкретному объекту изобретения внутриклеточный сигнальный домен содержит один или несколько костимуляторных доменов и один или несколько активирующих доменов.

Другим основным объектом изобретения является выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предлагаемое/предлагаемый в изобретении. Другим основным объектом изобретения является выделенный полинуклеотид, содержащий нуклеиновую кислоту, которая кодирует химерный антигенный рецептор (CAR), при этом CAR содержит антигенсвязывающий домен, предлагаемый в изобретении. Специалистам в данной области должно быть очевидно, что кодирующую белок последовательность можно изменять (например, путем замены, делеции, инсерции и т.д.) без изменения аминокислотной последовательности белка. Таким образом, специалистам в данной области должно быть очевидно, что нуклеотидные последовательности, кодирующие моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, предлагаемые в изобретении, можно изменять без изменения аминокислотных последовательностей белков.

Другим основным объектом изобретения является вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует предлагаемые в изобретении моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или CAR. Можно применять любой вектор, известный специалистам в области, к которой относится настоящее изобретение, такой как плазмидный, космидный, фаговый вектор или вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления изобретения вектор представляет собой рекомбинантный экспрессионный вектор, такой как плазида. Вектор может включать любой элемент, обеспечивающий обычную функцию экспрессионного вектора, например, промотор, связывающий рибосому элемент, терминатор, энхансер, маркер селекции и сайт инициации репликации. Промотор может представлять собой конститутивный, индуцибельный или репрессируемый промотор. В данной области известен ряд экспрессионных векторов, способных доставлять нуклеиновые кислоты в клетку, и их можно использовать в настоящем изобретении для получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в

клетке. Согласно вариантам осуществления изобретения общепринятые технологии клонирования или синтеза искусственных генов можно применять для создания рекомбинантного экспрессионного вектора.

Другим основным объектом изобретения является клетка-хозяин, содержащая выделенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует предлагаемые в изобретении моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Для рекомбинантной экспрессии антител или их антигенсвязывающих фрагментов, предлагаемых в изобретении, можно использовать любую клетку-хозяина, известную специалистам в области, к которой относится настоящее изобретение. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки-хозяева представляют собой клетки *E. coli* TG1 или BL21 (для экспрессии, например, scFv или Fab-фрагмента антитела), клетки CHO-DG44 или CHO-K1 или клетки HEK293 (для экспрессии, например, полноразмерного антитела IgG-типа). Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения рекомбинантным экспрессионным вектором трансформируют клетки-хозяева с помощью общепринятых методов, таких как химическая трансфекция, тепловой шок или электропорация, при этом он стабильно интегрируется в геном клетки-хозяина так, что происходит эффективная экспрессия рекомбинантной нуклеиновой кислоты.

Другим основным объектом изобретения является способ получения предлагаемых в изобретении моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, которая кодирует моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в условиях, пригодных для получения предлагаемых в изобретении моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента из клетки или клеточной культуры (например, из супернатанта). Экспрессированные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты можно собирать из клеток и очищать с помощью общепринятых

технологий, которые известны в данной области и указаны в настоящем описании.

Другим основным объектом изобретения является клетка, трансдуцированная вектором, который содержит выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR, предлагаемые в изобретении. Понятие "трансдуцированная" или "трансдукция" относится к процессу, посредством которого экзогенную нуклеиновую кислоту переносят или интродуцируют в клетку-хозяина. "Трансдуцированная" клетка представляет собой клетку, трансдуцированную экзогенной нуклеиновой кислотой. Клетка включает первичную клетку субъекта и ее потомство. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетка представляет собой CAR-T-клетку, предпочтительно человеческую CAR-T-клетку, где T-клетка сконструирована для экспрессии CAR, предлагаемого в изобретении, предназначенную для лечения заболевания, такого как рак. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетка представляет собой CAR-NK-клетку, предпочтительно человеческую CAR-NK-клетку, где NK-клетка сконструирована для экспрессии CAR, предлагаемого в изобретении, предназначенную для лечения заболевания, такого как рак.

Другим основным объектом изобретения является способ получения CAR-T-клетки путем трансдукции T-клетки вектором, который содержит выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR, предлагаемые в изобретении.

Другим основным объектом изобретения является способ получения CAR-T-клетки, предлагаемой в изобретении, который включает культивирование T-клеток, содержащих нуклеиновую кислоту, которая кодирует химерный антигенный рецептор (CAR), предлагаемый в изобретении, в условиях, пригодных для получения CAR-T-клетки, и выделение CAR-T-клетки.

Другим основным объектом изобретения является способ получения CAR-NK-клетки путем трансдукции NK-клетки вектором, который содержит выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие CAR, предлагаемые в изобретении.

Другим основным объектом изобретения является способ получения CAR-NK-клетки, предлагаемой в изобретении, который включает культивирование NK-клеток, содержащих нуклеиновые кислоты, которые кодируют химерный



антигенный рецептор (CAR), предлагаемый в изобретении, в условиях, пригодных для получения CAR-NK-клетки, и выделение CAR-NK-клетки.

Другим основным объектом изобретения является способ создания популяции клеток со сконструированной РНК, содержащих химерный антигенный рецептор (CAR), предлагаемый в изобретении. Способы включают приведение в контакт популяции клеток с выделенными полинуклеотидами, которые содержат нуклеиновую кислоту, кодирующую CAR, предлагаемый в изобретении, в которых выделенные полинуклеотиды представляют собой транскрибируемую *in vitro* РНК или синтетическую РНК.

#### 10 Фармацевтические композиции

Другим основным объектом изобретения является фармацевтическая композиция, которая содержит предлагаемые в изобретении выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, выделенный полипептид, клетку-хозяина и/или сконструированную иммунную клетку и фармацевтически приемлемый носитель.

В контексте настоящего описания "фармацевтическая композиция" означает продукт, который содержит выделенный полинуклеотид, предлагаемый в изобретении, выделенный полипептид, предлагаемый в изобретении, клетку-хозяина, предлагаемую в изобретении, сконструированную иммунную клетку, предлагаемую в изобретении, моноклональное антитело к IL13Ra2 или его антигенсвязывающий фрагмент и/или биспецифическое антитело, предлагаемое в изобретении, в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем.

Полинуклеотиды, полипептиды, клетки-хозяева, сконструированные иммунные клетки, предлагаемые в изобретении, моноклональное антитело к IL13Ra2 или его антигенсвязывающий фрагмент и/или биспецифическое антитело, предлагаемое в изобретении, и содержащие их композиции также являются ценными для приготовления лекарственного средства для терапевтических целей, указанных в настоящем описании.

30 В контексте настоящего описания понятие "носитель" относится к любому из следующих ингредиентов: эксципиент, разбавитель, наполнитель, соль, буфер, стабилизатор, солюбилизатор, масло, липид, содержащая липид везикула, микросфера, капсулированный в липосому продукт или другой продукт, хорошо известный в данной области в качестве применяемого в

фармацевтических препаратах. Известно, что характеристики носителя, эксципиента или разбавителя должны зависеть от пути введения при конкретном применении. В контексте настоящего описания понятие "фармацевтически приемлемый носитель" относится к нетоксичному продукту, который не влияет на эффективность композиции, предлагаемой в изобретении, или биологическую активность композиции, предлагаемой в изобретении. Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения в свете настоящего описания согласно изобретению можно использовать любой фармацевтически приемлемый носитель, приемлемый для применения содержащей антитело фармацевтической композиции.

Препараты, содержащие фармацевтически активные ингредиенты с фармацевтически приемлемыми носителями, известны в данной области, см., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (например, 21-ое изд. (2005 г.), и любые более поздние издания). Примеры дополнительных ингредиентов включают (но не ограничиваясь только ими) буферы, разбавители, растворители, средства, регулирующие тоничность, консерванты, стабилизаторы и хелатирующие агенты. В составе фармацевтических композиций, предлагаемых в изобретении, можно применять один или несколько фармацевтически приемлемый(их) носитель(ей).

В одном из вариантов осуществления изобретения фармацевтическая композиция представляет собой жидкий препарат. Предпочтительным примером жидкого препарата является водный препарат, т.е. препарат, содержащий воду. Жидкий препарат может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию, микроэмульсию, гель и т.п. Водный препарат, как правило, содержит по меньшей мере 50 мас.% воды или по меньшей мере 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или по меньшей мере 95 мас.% воды.

В одном из вариантов осуществления изобретения фармацевтическая композиция может быть приготовлена в инъекционной форме, которую можно вводить, например, с помощью устройства для инъекций (например, шприца или инфузионного насоса). Инъекцию можно осуществлять, например, подкожно, внутримышечно, внутривенно, интравитреально или внутривенно.

В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция представляет собой твердый препарат, например, полученную путем сушки вымораживанием или сушки распылением композицию, которую можно

использовать непосредственно, или в которую врач или пациент добавляет растворители и/или разбавители перед использованием. Твердые лекарственные формы могут включать таблетки, такие как спрессованные таблетки и/или таблетки, покрытые оболочкой, и капсулы (например, твердые или мягкие желатиновые капсулы). Фармацевтическая композиция может иметь также, например, форму саше, драже, порошков, гранул, пастилок или предназначенных для восстановления порошков.

Лекарственные формы могут представлять собой формы с немедленным высвобождением, и в этом случае они могут содержать водорастворимый или диспергируемый носитель, или они могут представлять собой формы с замедленным высвобождением, пролонгированным высвобождением или модифицированным высвобождением, и в этом случае они могут содержать водонерастворимые полимеры, которые регулируют скорость растворения лекарственной формы в желудочно-кишечном тракте или под кожей.

В других вариантах осуществления изобретения фармацевтическую композицию можно вводить интраназально, внутривенно или сублингвально.

Значение pH водного препарата может находиться между pH 3 и pH 10. В одном из вариантов осуществления изобретения pH препарата составляет от примерно 7,0 до примерно 9,5. В другом варианте осуществления изобретения pH препарата составляет от примерно 3,0 до примерно 7,0.

В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит буфер. Примеры буферов включают (но не ограничиваясь только ими): аргинин, аспарагиновую кислоту, бицин, цитрат, вторичный кислый фосфат натрия, фумаровую кислоту, глицин, глицилглицин, гистидин, лизин, малеиновую кислоту, яблочную кислоту, ацетат натрия, карбонат натрия, первичный кислый фосфат натрия, фосфат натрия, сукцинат, винную кислоту, трицин и трис(гидроксиметил)аминометан и их смеси. Буфер может присутствовать индивидуально или в совокупности с другими ингредиентами в концентрации от примерно 0,01 мг/мл до примерно 50 мг/мл, например, от примерно 0,1 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из указанных конкретных буферов, представляют собой альтернативные варианты осуществления изобретения.

В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит консервант. Примеры консервантов включают (но не ограничиваясь только ими): бензетония хлорид, бензойную кислоту, бензиловый спирт, бронопол, бутил-4-гидроксибензоат, хлорбутанол, хлоркрезол, хлоргексидин, хлорфенезин, *o*-крезол, *m*-крезол, *n*-крезол, этил-4-гидроксибензоат, имидамочевину, метил-4-гидроксибензоат, фенол, 2-феноксэтанол, 2-фенилэтанол, пропил-4-гидроксибензоат, дегидроацетат натрия, тиомеросал и их смеси. Консервант может присутствовать индивидуально или в совокупности с другими ингредиентами в концентрации от примерно 0,01 мг/мл до примерно 50 мг/мл, например, от примерно 0,1 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из указанных конкретных консервантов, представляют собой альтернативные варианты осуществления изобретения.

В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит изотонирующий агент. Примеры изотонирующих агентов включают (но не ограничиваясь только ими): соль (такую как хлорид натрия), аминокислоту (такую как глицин, гистидин, аргинин, лизин, изолейцин, аспарагиновую кислоту, триптофан и треонин), альдит (такой как глицерин, 1,2-пропандиолпропиленгликоль), 1,3-пропандиол и 1,3-бутандиол), полиэтиленгликоль (например, ПЭГ 400) и их смеси. Другой пример изотонирующего агента включает сахар. Примерами сахаров (но не ограничиваясь только ими) могут быть моно-, ди- или полисахариды или водорастворимые глюканы, включая, например, фруктозу, глюкозу, маннозу, сорбозу, ксилозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, трегалозу, декстран, пуллулан, декстрин, циклодекстрин, альфа- и бета-HPCD (гидроксипропилциклодекстрин), растворимый крахмал, гидроксипропилкрахмал и натрийкарбоксиметилцеллюлозу. Другим примером изотонирующего агента является сахарный спирт, где понятие "сахарный спирт" относится к C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub>углеводороду, имеющему по меньшей мере одну -ОН-группу. Примеры сахарных спиртов включают (но не ограничиваясь только ими) маннит, сорбит, инозит, галактит, дульцит, ксилит и арабит. Изотонирующий агент может присутствовать индивидуально или в совокупности с другими ингредиентами в концентрации от примерно 0,01 мг/мл до примерно 50 мг/мл, например, от примерно 0,1 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из указанных конкретных

изотонирующих агентов, представляют собой альтернативные варианты осуществления изобретения.

5 В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит хелатирующий агент. Примеры хелатирующих агентов включают (но не ограничиваясь только ими): лимонную кислоту, аспарагиновую кислоту, соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA) и их смеси.

Хелатирующий агент может присутствовать индивидуально или в совокупности с другими ингредиентами в концентрации от примерно 0,01 мг/мл до примерно 50 мг/мл, например, от примерно 0,1 мг/мл до примерно 20 мг/мл.

10 Фармацевтические композиции, содержащие каждый из указанных конкретных хелатирующих агентов, представляют собой альтернативные варианты осуществления изобретения.

15 В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит стабилизатор. Примеры стабилизаторов включают (но не ограничиваясь только ими): один или несколько ингибиторов агрегации, один или несколько ингибиторов окисления, одно или несколько поверхностно-активных веществ и/или один или несколько ингибиторов протеаз.

20 В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит стабилизатор, где указанный стабилизатор представляет собой карбокси-/гидроксицеллюлозу и ее производные (такие как НРС, НРС-SL, НРС-L и НРМС), циклодекстрины, 2-метилтиоэтанол, полиэтиленгликоль (такой как ПЭГ 3350), поливиниловый спирт (PVA), поливинилпирролидон, соли (такие как хлорид натрия), серосодержащие соединения (такие как монотиоглицерин) или тиогликолевую кислоту. Стабилизатор может присутствовать

25 индивидуально или в совокупности с другими ингредиентами в концентрации от примерно 0,01 мг/мл до примерно 50 мг/мл, например, от примерно 0,1 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из указанных конкретных стабилизаторов, представляют собой альтернативные варианты осуществления изобретения.

30 В следующих вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит одно или несколько поверхностно-активных веществ, предпочтительно поверхностно-активное вещество, по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество или два различных поверхностно-активных вещества. Понятие "поверхностно-активное вещество" относится к любым

молекулам или ионам, которые состоят из водорастворимой (гидрофильной) части и жирорастворимой (липофильной) части. Поверхностно-активное вещество можно выбирать, например, из группы, которая состоит из анионных поверхностно-активных веществ, катионных поверхностно-активных веществ и/или цвиттерионных поверхностно-активных веществ. Поверхностно-активное 5 вещество может присутствовать индивидуально или в совокупности с другими ингредиентами в концентрации от примерно 0,01 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждое из указанных конкретных поверхностно-активных веществ, представляют собой альтернативные варианты 10 осуществления изобретения.

В следующем варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит один или несколько ингибиторов протеаз, таких как EDTA и/или бензамидин соляной кислоты (HCl). Ингибитор протеазы может присутствовать индивидуально или в совокупности с другими ингредиентами в 15 концентрации от примерно 0,01 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из указанных конкретных ингибиторов протеаз, представляют собой альтернативные варианты осуществления изобретения.

Другим основным объектом изобретения является способ получения 20 фармацевтической композиции, которая содержит предлагаемые в изобретении моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, включающий объединение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или биспецифического антитела или его 25 антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

#### Способы применения

Другим основным объектом изобретения является способ таргетинга 30 IL13Ra2 на поверхности раковой клетки у субъекта для достижения цитолиза клетки, способ включает введение субъекту выделенного моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфически связывающегося с IL13Ra2, или фармацевтической композиции, которая содержит предлагаемые в изобретении выделенное моноклональное антитело

или его антигенсвязывающий фрагмент и/или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Связывание с IL13Ra2 моноклонального или биспецифического антитела против IL13Ra2 или его антигенсвязывающего фрагмента может опосредовать комплементзависимую цитотоксичность (CDC),  
5 антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) и/или антитело- обусловленную клеточнозависимую цитотоксичность (ADCC) или другие действия, которые приводят к гибели целевой раковой клетки. Моноклональное или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент может служить, например, для рекрутмента конъюгированных лекарственных средств;  
10 и/или может образовывать биспецифическое антитело с другим моноклональным антителом для того, чтобы опосредовать гибель целевой раковой клетки.

Функциональную активность антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые связываются с IL13Ra2, можно характеризовать методами, известным в данной области и указанными в настоящем описании. Методы,  
15 применяемые для характеристики антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые связываются с IL13Ra2, включают (но не ограничиваясь только ими) анализы аффинности и специфичности, включающие анализы Biacore, ELISA и OctetRed, и определение с помощью FACS связывания антител и антигенсвязывающих фрагментов с IL13Ra2 на клетках (либо на клетках,  
20 трансфектированных IL13Ra2, либо на клетках, которые в естественных условиях экспрессируют IL13Ra2). Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения методы характеристики антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые связываются с IL13Ra2, включают методы, описанные ниже. Другим основным объектом изобретения является  
25 способ лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включающий введение субъекту предлагаемых в изобретении выделенного моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с IL13Ra2, или фармацевтической композиции. Рак, например,  
30 можно выбирать (но не ограничиваясь только ими) из рака легкого, рака желудка, рака пищевода, рака желчных протоков, холангиокарциномы, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака

головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

Другим основным объектом изобретения является способ лечения воспалительного заболевания у субъекта, который нуждается в этом, включающий введение субъекту предлагаемых в изобретении выделенного моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с IL13Ra2, или фармацевтической композиции.

Другим основным объектом изобретения является способ лечения аутоиммунного заболевания у субъекта, который нуждается в этом, включающий введение субъекту предлагаемых в изобретении выделенного моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с IL13Ra2, или фармацевтической композиции.

Другим основным объектом изобретения является способ лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включающий введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток, предлагаемых в изобретении. Рак, например, можно выбирать (но не ограничиваясь только ими) из рака легкого, рака желудка, рака пищевода, рака желчных протоков, холангиокарциномы, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

Согласно вариантам осуществления изобретения CAR-T-клетки или CAR-NK-клетки содержат в терапевтически эффективном количестве экспрессируемые CAR, предлагаемые в изобретении, а фармацевтическая композиция содержит в терапевтически эффективном количестве антитело к



IL13Ra2 или его антигенсвязывающий фрагмент. В контексте настоящего описания понятие "терапевтически эффективное количество" относится к количеству активного ингредиента или компонента, которое вызывает требуемый биологический или медицинский ответ у субъекта. Терапевтически эффективное количество можно определять эмпирически и общепринятым путем в соответствии с поставленной целью.

В контексте настоящего описания касательно CAR терапевтически эффективное количество означает количество молекул CAR, которое экспрессируется в трансдуцированной Т-клетке или НК-клетке, которое модулирует иммунный ответ у субъекта, нуждающегося в этом. Кроме того, в контексте настоящего описания касательно CAR терапевтически эффективное количество означает количество молекул CAR, которое экспрессируется в трансдуцированной Т-клетке или НК-клетке, которое приводит к лечению заболевания, нарушения или состояния; предупреждает или замедляет развитие заболевания, нарушения или состояния; или уменьшает или полностью облегчает симптомы, связанные с заболеванием, нарушением или состоянием.

В контексте настоящего описания касательно CAR-Т-клетки или CAR-НК-клетки терапевтически эффективное количество означает количество CAR-Т-клеток или CAR-НК-клеток, которое модулирует иммунный ответ у субъекта, нуждающегося в этом. Кроме того, в контексте настоящего описания касательно CAR-Т-клетки или CAR-НК-клетки терапевтически эффективное количество означает количество CAR-Т-клеток или CAR-НК-клеток, которое приводит к лечению заболевания, нарушения или состояния; предупреждает или замедляет развитие заболевания, нарушения или состояния; или уменьшает или полностью облегчает симптомы, связанные с заболеванием, нарушением или состоянием.

В контексте настоящего описания касательно антител к IL13Ra2 или их антигенсвязывающих фрагментов терапевтически эффективное количество означает количество антитела к IL13Ra2 или его антигенсвязывающего фрагмента, которое модулирует иммунный ответ у субъекта, нуждающегося в этом. Кроме того, в контексте настоящего описания касательно антител к IL13Ra2 или их антигенсвязывающих фрагментов терапевтически эффективное количество означает количество антитела к IL13Ra2 или его антигенсвязывающего фрагмента, которое приводит к лечению заболевания, нарушения или состояния; предупреждает или замедляет развитие заболевания,

нарушения или состояния; или уменьшает или полностью облегчает симптомы, связанные с заболеванием, нарушением или состоянием.

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения подлежащее лечению заболевание, нарушение или состояние представляет собой рак, предпочтительно рак, выбранный из группы, которая состоит из рака легкого, рака желудка, рака пищевода, рака желчных протоков, холангиокарциномы, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения подлежащее лечению заболевание, нарушение или состояние представляет собой воспалительное заболевание. Согласно другим конкретным вариантам осуществления изобретения подлежащее лечению заболевание, нарушение или состояние представляет собой аутоиммунное заболевание.

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения терапевтически эффективное количество относится к уровню терапии, достаточному для достижения одного, двух, трех, четырех или большего количества из следующих действий: (I) уменьшение или облегчение тяжести подлежащего лечению заболевания, нарушения или состояния или связанного с ними симптома; (II) снижение продолжительности подлежащего лечению заболевания, нарушения или состояния или связанного с ними симптома; (III) предупреждение прогрессирования подлежащего лечению заболевания, нарушения или состояния или связанного с ними симптома; (IV) вызывание регресса подлежащего лечению заболевания, нарушения или состояния или связанного с ними симптома; (V) предупреждение развития или возникновения подлежащего лечению заболевания, нарушения или состояния или связанного с ними симптома; (VI) предупреждение рецидива подлежащего лечению заболевания, нарушения или состояния или связанного с ними симптома; (VII) снижение случаев госпитализации субъекта, имеющего подлежащее лечению

заболевание, нарушение или состояние или связанный с ними симптом; (VIII) снижение продолжительности госпитализации субъекта, имеющего подлежащее лечению заболевание, нарушение или состояние или связанный с ними симптом; (IX) повышение выживаемости субъекта, имеющего подлежащее лечению

5 заболевание, нарушение или состояние или связанный с ними симптом; (X) ингибирование или уменьшение подлежащего лечению заболевания, нарушения или состояния или связанного с ними симптома у субъекта; и/или (XI) усиление или улучшение профилактического(их) или терапевтического(их) действия(й) другой терапии.

10 Терапевтически эффективное количество или дозировку можно варьировать в зависимости от различных факторов, таких как заболевание, нарушение или состояние, подлежащие лечению, метод введения, область-мишень, физиологическое состояние субъекта (включая, например, возраст, вес тела, состояние здоровья), представляет ли собой субъект человека или животное,

15 вводимые другие лекарственные препараты и является ли лечение профилактическим или терапевтическим. Применяемые для лечения дозы подбираются таким образом, чтобы они были оптимальными для обеспечения максимальной безопасности и эффективности.

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения композиции, указанные в настоящем описании, приготавливают таким образом, чтобы они соответствовали предполагаемому пути введения субъекту. Например,

20 композиции, указанные в настоящем описании, можно приготавливать таким образом, чтобы их можно было применять для внутривенного, подкожного или внутримышечного введения.

25 Клетки, предлагаемые в изобретении, можно вводить любым удобным путем, известным специалистам в данной области. Например, клетки, предлагаемые в изобретении, можно вводить субъекту путем аэрозольной ингаляции, инъекции, приема внутрь, переливания, имплантации и/или трансплантации. Композиции, содержащие клетки, предлагаемые в изобретении,

30 можно вводить трансартериально, подкожно, внутрикожно, внутрь опухоли, внутрь узла, интрамедуллярно, внутримышечно, внутривенно, с помощью внутривенной (i.v.) инъекции или внутривенно. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки, предлагаемые в изобретении, можно вводить субъекту как после лимфодеплеции, так и без нее.

Фармацевтические композиции, содержащие клетки, предлагаемые в изобретении, которые экспрессируют CAR, предлагаемые в изобретении, могут поставляться в виде стерильных жидких препаратов, как правило, изотонических водных растворов с клеточными суспензиями, или необязательно в виде 5 эмульсий, дисперсий и т.п., которые, как правило, забуферены до выбранного значения pH. Композиции могут содержать носители, например, воду, физиологический раствор, забуференный фосфатом физиологический раствор и т.п., пригодные для сохранения целостности и жизнеспособности клеток и для введения клеточной композиции.

10 Стерильные растворы для инъекций можно приготавливать путем введения клеток, предлагаемых в изобретении, в пригодном количестве соответствующего растворителя при необходимости с различными другими ингредиентами. Такие композиции могут включать фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент, такой как стерильная вода, физиологический 15 раствор, глюкоза, декстроза или т.п., которые пригодны для использования с клеточной композицией и для введения субъекту, такому как человек. Приемлемые для получения клеточной композиции буферы хорошо известны в данной области. Любые используемые носитель, разбавитель или добавка должны быть пригодны для сохранения целостности и жизнеспособности клеток, 20 предлагаемых в изобретении.

Клетки, предлагаемые в изобретении, можно вводить в любом физиологически приемлемом носителе. Клеточная популяция, которая содержит клетки, предлагаемые в изобретении, может содержать очищенную популяцию клеток. Специалисты в данной области легко могут определять клетки в 25 клеточной популяции с использованием различных хорошо известных методов. Диапазоны чистоты в клеточных популяциях, которые содержат генетически модифицированные клетки, предлагаемые в изобретении, могут составлять от примерно 50% до примерно 55%, от примерно 55% до примерно 60%, от 30 примерно 60% до примерно 65%, от примерно 65% до примерно 70%, от примерно 70% до примерно 75%, от примерно 75% до примерно 80%, от примерно 80% до примерно 85%, от примерно 85% до примерно 90%, от примерно 90% до примерно 95% или от примерно 95% до примерно 100%. Дозировки могут легко корректироваться специалистами в данной области, например, при снижении чистоты может потребоваться увеличение дозировки.

Клетки, предлагаемые в изобретении, как правило, вводят в виде дозы, установленной из расчета количества клеток на килограмм (клетки/кг) веса тела субъекта, которому вводят клетки. Как правило, дозы клеток находятся в диапазоне от примерно  $10^4$  до примерно  $10^{10}$  клеток/кг веса тела, например, от примерно  $10^5$  до примерно  $10^9$ , от примерно  $10^5$  до примерно  $10^8$ , от примерно  $10^5$  до примерно  $10^7$  или от примерно  $10^5$  до примерно  $10^6$ , в зависимости от пути и места введения. Как правило, в случае системного введения применяют более высокую дозу, чем в случае регионального введения, при котором иммунные клетки, предлагаемые в изобретении, вводят в область опухоли и/или рака. Примеры диапазонов доз включают (но не ограничиваясь только ими) от  $1 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$ , от  $2 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$ , от  $3 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$ , от  $4 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$ , от  $5 \times 10^4$  до  $6 \times 10^8$ , от  $7 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$ , от  $8 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$ , от  $9 \times 10^4$  до  $1 \times 10^8$ , от  $1 \times 10^5$  до  $1 \times 10^8$ , от  $1 \times 10^5$  до  $9 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $8 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $7 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $6 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $5 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $4 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $4 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $3 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $2 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $1 \times 10^7$ , от  $1 \times 10^5$  до  $9 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $8 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $7 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $6 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $5 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $4 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $4 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $3 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $2 \times 10^6$ , от  $1 \times 10^5$  до  $1 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $9 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $8 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $7 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $6 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $5 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $4 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $4 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $3 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $2 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $1 \times 10^7$ , от  $2 \times 10^5$  до  $9 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $8 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $7 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $6 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $5 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $4 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $4 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $3 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $2 \times 10^6$ , от  $2 \times 10^5$  до  $1 \times 10^6$ , от  $3 \times 10^5$  до  $3 \times 10^6$  клеток/кг и т.п. Кроме того, дозу можно корректировать в зависимости от того, вводят ли однократную дозу или вводят несколько доз. Точное определение того, какую дозу можно рассматривать в качестве эффективной, может основываться на факторах, индивидуальных для каждого субъекта.

В контексте настоящего описания подразумевается, что все понятия "лечить", "процесс лечения" и "лечебный режим" применяют для обозначения улучшения или реверсии по меньшей мере одного поддающегося измерению физического параметра, связанного с раком и/или воспалительным или аутоиммунным заболеванием, нарушением или состоянием, которое не обязательно проявляется у субъекта, но может проявляться у субъекта. Понятия "лечить", "процесс лечения" и "лечебный режим" могут относиться также к

обеспечению регресса, предотвращению прогрессирования или по меньшей мере замедлению прогрессирования заболевания, нарушения или состояния. В конкретном варианте осуществления изобретения понятия "лечить", "процесс лечения" и "лечебный режим" относятся к облегчению, предупреждению развития или возникновению или сокращению продолжительности одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием, нарушением или состоянием, таким как опухоль или более предпочтительно рак. В конкретном варианте осуществления изобретения понятия "лечить", "процесс лечения" и "лечебный режим" относятся к предупреждению рецидива заболевания, нарушения или состояния. В конкретном варианте осуществления изобретения понятия "лечить", "процесс лечения" и "лечебный режим" относятся к повышению выживаемости субъекта, имеющего заболевание, нарушение или состояние. В конкретном варианте осуществления изобретения понятия "лечить", "процесс лечения" и "лечебный режим" относятся к элиминации заболевания, нарушения или состояния у субъекта.

Конкретными вариантами осуществления изобретения являются композиции, применяемые для лечения рака и/или воспалительного заболевания, нарушения или состояния. Для противораковой терапии предложенные композиции можно применять в комбинации с другим лечением, которое включает (но не ограничиваясь только ими) химиотерапию, МАт к CD20, МАт к TIM-3, МАт к LAG-3, МАт к EGFR, МАт к HER-2, МАт к CD19, МАт к CD33, МАт к CD47, МАт к CD73, МАт к DLL-3, МАт к апелину, МАт к FOLR1, МАт к CTLA-4, МАт к PD-L1, МАт к PD-1, МАт к клаудину 18.2, другие иммуноонкологические лекарственные средства, антиангиогенные средства, лучевую терапию, конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), таргетную терапию или другие противоопухолевые лекарственные средства. Антитела против IL13Ra2 можно применять для конструирования биспецифических антител с партнерскими МАт против PD-1, PD-L1, LAG3, TIM-3, CTLA-4, EGFR, HER-2, CD19, CD20, CD33, CD73, CD47, CD3, апелина, DLL-3, TIG-1, GPC3, клаудина 18.2, альфа-рецептора фолиевой кислоты (FOLR1) и/или другими ТАА для лечения раков/опухолей, которые экспрессируют оба антигена. Два антитела, которые распознают два различных эпитопа на IL13Ra2, можно применять также для конструирования биспецифического антитела для лечения раков/опухолей, которые экспрессируют IL13Ra2.

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включают введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток, предлагаемых в изобретении, в комбинации с агентом, который повышает эффективность клетки, экспрессирующей молекулу CAR. Указанные агенты включают (но не ограничиваясь только ими) фрагмент антитела, который связывается с CD73, CD39, PD1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3 или LAG3, или антагонист рецептора аденозина A2a.

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включают введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток, предлагаемых в изобретении, в комбинации с агентом, который облегчает одно или несколько побочных действий, связанных с введением клетки, экспрессирующей молекулу CAR. Указанные агенты включают (но не ограничиваясь только ими) стероид, ингибитор TNF $\alpha$  или ингибитор IL-6.

Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения способы лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включают введение субъекту CAR-T-клеток и/или CAR-NK-клеток, предлагаемых в изобретении, в комбинации с агентом, который лечит заболевание, связанное с IL13Ra2. Указанные агенты включают (но не ограничиваясь только ими) моноклональное антитело или биспецифическое антитело к IL13Ra2.

В настоящем описании понятие "в комбинации" в контексте введения двух или большего количества терапевтических средств субъекту относится к применению более чем одной терапии. Применение понятия "в комбинации" не ограничивает порядок, в котором субъекту назначаются терапии. Например, первую терапию (например, композицию, указанную в настоящем описании) можно применять до (например, за 5 мин, , 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 12 ч, 16 ч, 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), одновременно или после (например, через 5 мин, 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 12 ч, 16 ч, 24 ч, 48 ч, 72 ч, 96 ч, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель) относительно назначения второй терапии субъекту.

Другим основным объектом изобретения является способ определения уровня IL13Ra2 у субъекта. Способ включает (а) получение образца из

организма субъекта; (б) приведение образца в контакт с моноклональным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом; и (в) определение уровня IL13Ra2 у субъекта.

В контексте настоящего описания понятие "образец" относится к биологическому образцу, выделенному у субъекта, и может включать (но не ограничиваясь только ими) цельную кровь, сыворотку, плазму, клетки крови, эндотелиальные клетки, биоптаты тканей (например, раковой ткани), лимфатическую жидкость, асцитную жидкость, интерстициальную жидкость, костный мозг, спинномозговую жидкость, слюну, слизистые, мокроту, пот, мочу или любые другие секреты, выделения или другие жидкости организма. Понятие "образец крови" относится к цельной крови или любой ее фракции, включая клетки крови, сыворотку и плазму.

В некоторых вариантах осуществления изобретения уровень IL13Ra2 у субъекта можно определять, используя анализы, выбранные (но не ограничиваясь только ими) из Вестерн-блоттинга, иммуногистохимии (ИНС) и ELISA-анализа. Относительные уровни белков можно определять, используя Вестерн-блоттинг и ИНС, а абсолютные уровни белков можно определять, используя ELISA-анализ. При определении относительных уровней IL13Ra2 уровни IL13Ra2 можно определять между по меньшей мере двумя образцами, например, между образцами из одного и того же субъекта, полученными в различные моменты времени, между образцами из различных тканей одного и того же субъекта и/или между образцами из различных субъектов.

Альтернативно этому, при определении абсолютных уровней IL13Ra2, например, с помощью ELISA-анализа, абсолютный уровень IL13Ra2 в образце можно определять путем создания стандарта для ELISA-анализа перед тестированием образца. Специалисту в данной области должно быть очевидно, какие аналитические методы следует использовать для определения уровня IL13Ra2 в образце, полученном из организма субъекта, с использованием антител или их антигенсвязывающих фрагментов, предлагаемых в изобретении.

Использование методов определения уровня IL13Ra2 в образце, полученном из организма субъекта, может приводить к диагностике аномальных (повышенных, пониженных или недостаточных) уровней IL13Ra2 при заболевании и принятию соответствующих решений, касающихся терапии. Указанное заболевание можно выбирать (но не ограничиваясь только ими) из



рака, воспалительного заболевания и аутоиммунного заболевания. Кроме того, посредством мониторинга уровней IL13Ra2 у субъекта, риск развития указанного выше заболевания можно определять на основе данных об уровне IL13Ra2 при конкретном заболевании и/или при прогрессировании конкретного

5 заболевания.

Варианты осуществления изобретения

В изобретении предложены также следующие варианты осуществления изобретения, не ограничивающие его объем.

Вариантом осуществления изобретения 1 является выделенное

10 моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое/который содержит определяющий комплементарный участок 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 тяжелой цепи, определяющий комплементарный участок 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 легкой цепи, которые имеют следующие полипептидные последовательности:

15 (1) SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8 соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно;

(2) SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно;

20 (3) SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37, 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно;

(4) SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно;

(5) SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно;

25 (6) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно;

(7) SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно;

(8) SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID

30 NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно;

(9) SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно SEQ ID NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126 соответственно;

(10) SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно;

(11) SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно;

(12) SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно; или

5 (13) SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно;

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

10 Вариантом осуществления изобретения 2 является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления изобретения 1, которое/который содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155 или 169, или переменную область легкой цепи, имеющую  
15 полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 100, 114, 128, 142, 156 или 170.

Вариантом осуществления изобретения 3 является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления изобретения 1 или 2, которое/который содержит

20 (1) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(2) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и переменную область легкой цепи,  
25 имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16;

(3) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 29, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 30;

(4) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи,  
30 имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 44;

(5) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 57, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 58;

(6) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 71, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 72;

5 (7) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 85, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 86;

(8) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 99, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 100;

10 (9) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114;

(10) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128;

15 (11) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142;

(12) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 155, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 156;

или

20 (13) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 169, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 170.

25 Вариантом осуществления изобретения 4 является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из вариантов осуществления изобретения 1-3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным или человеческим, или гуманизированным.

30 Вариантом осуществления изобретения 5 является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления изобретения 4, где гуманизированное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой

цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO:183, 184, 185, 186, 191, 192, 193, 197, 198, 199, 203, 204, 207, 208, 211 или 212, или  
5  
вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 205, 206, 209, 210 или 213.

10           Вариантом осуществления изобретения 6 является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления изобретения 5, где гуманизированное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
15 последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

20           (3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 183, и вариабельную область легкой цепи,  
25 имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

30           (6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

(7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 184, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;







(41) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 209;

5 (42) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 210;

(43) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 211, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213; или

10 (44) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 212, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213.

Вариантом осуществления изобретения 7 является выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из  
15 вариантов осуществления изобретения 1-6, где выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обладает способностью индуцировать опосредуемый эффектором лизис опухолевых клеток посредством антитело-обусловленной клеточнозависимой цитотоксичности (ADCC), антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP) и/или комплементзависимой  
20 цитотоксичности (CDC); и/или опосредовать рекрутмент конъюгированных лекарственных средств; и/или образовывать биспецифическое антитело с другим МАт или его антигенсвязывающим фрагментом, обладающим противораковым действием.

Вариантом осуществления изобретения 8 является выделенное  
25 биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из вариантов осуществления изобретения 1-7.

Вариантом осуществления изобретения 9 является выделенная нуклеиновая  
30 кислота, кодирующая моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из вариантов осуществления изобретения 1-7 или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления изобретения 8.



Вариантом осуществления изобретения 10 является вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по варианту осуществления изобретения 9.

Вариантом осуществления изобретения 11 является клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту осуществления изобретения 10.

5           Вариантом осуществления изобретения 12 является фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из вариантов осуществления изобретения 1-7 или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления изобретения 8 и фармацевтически приемлемый носитель.

10           Вариантом осуществления изобретения 13 является способ таргетинга IL13Ra2 на поверхности раковой клетки и/или лечения рака, лечения воспалительного заболевания и/или лечения аутоиммунного заболевания у субъекта, который нуждается в этом, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по варианту осуществления изобретения 12, где  
15           необязательно рак выбирают из группы, которая состоит из рака легкого, рака желудка, рака пищевода, рака желчных протоков, холангиокарциномы, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической  
20           меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого  
25           миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

30           Вариантом осуществления изобретения 14 является способ получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по одному из вариантов осуществления изобретения 1-7 или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по варианту осуществления изобретения 8, включающий культивирование клетки, которая содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в условиях, пригодных для получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или

биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, и выделение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

5            Вариантом осуществления изобретения 15 является способ получения фармацевтической композиции, которая содержит моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из вариантов осуществления изобретения 1-7 или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления изобретения 8, включающий объединение  
10            моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

              Вариантом осуществления изобретения 16 является способ определения  
15            уровня IL13Ra2 у субъекта, где способ включает:

- (1) получение образца из организма субъекта;
- (2) приведение образца в контакт с выделенным моноклональным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по одному из вариантов осуществления изобретения 1-7; и
- 20            (3) определение уровня IL13Ra2 у субъекта.

              Вариантом осуществления изобретения 17 является способ по варианту осуществления изобретения 16, в котором образец представляет собой образец ткани или образец крови, где необязательно образец ткани представляет собой образец раковой ткани.

25            Вариантом осуществления изобретения 18 является выделенный полинуклеотид, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR), где CAR содержит:

- (а) внеклеточный домен, содержащий по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с IL13Ra2;
- 30            (б) шарнирную область;
- (в) трансмембранную область; и
- (г) внеклеточный сигнальный домен.

              Вариантом осуществления изобретения 19 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления изобретения 18, где

антигенсвязывающий домен содержит определяющий комплементарность участок 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 тяжелой цепи, определяющий комплементарность участок 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 легкой цепи, которые содержат следующие полипептидные последовательности:

- 5 (1) SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8 соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно;
- (2) SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно;
- 10 (3) SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37, 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно;
- (4) SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно;
- (5) SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно;
- 15 (6) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно;
- (7) SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно;
- (8) SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID  
20 NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно;
- (9) SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно или SEQ ID  
NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126 соответственно;
- (10) SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID  
NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно;
- 25 (11) SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID  
NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно;
- (12) SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID  
NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно; или
- (13) SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID  
30 NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно;

где антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

Вариантом осуществления изобретения 20 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления изобретения 18 или 19, где

антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155, 169, 183, 184, 185, 186, 191, 192, 193, 197, 198, 199, 203, 204, 207, 208, 211 или 212, или  
5 вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 100, 114, 128, 142, 156, 170, 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 205, 206, 209, 210 или 213.

10 Вариантом осуществления изобретения 21 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления изобретения 20, где антигенсвязывающий домен содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

15 (2) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16;

20 (3) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 29, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 30;

(4) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 43, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 44;

25 (5) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 57, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 58;

(6) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 71, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 72;

30 (7) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 85, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 86;











(52) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 207, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 209;

5 (53) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 207, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 210;

(54) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 209;

10 (55) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 208, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 210;

(56) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 211, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213; или

15 (57) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 212, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213.

Вариантом осуществления изобретения 22 является выделенный полинуклеотид по одному из вариантов осуществления изобретения 18-21, где антигенсвязывающий домен представляет собой одноцепочечный переменный фрагмент (scFv).

20 Вариантом осуществления изобретения 23 является выделенный полинуклеотид по варианту осуществления изобретения 22, где одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) является гуманизированным.

Вариантом осуществления изобретения 24 является выделенный полинуклеотид по одному из вариантов осуществления изобретения 18-23, где химерный антигенный рецептор (CAR) содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов и/или где внутриклеточный сигнальный домен содержит один или несколько костимуляторных доменов и один или несколько активизирующих доменов.

30 Вариантом осуществления изобретения 25 является химерный антигенный рецептор (CAR), кодируемый выделенным полинуклеотидом по одному из вариантов осуществления изобретения 18-24.

Вариантом осуществления изобретения 26 является вектор, содержащий выделенный полинуклеотид по одному из вариантов осуществления изобретения 18-24.

5 Вариантом осуществления изобретения 27 является клетка-хозяин, содержащая вектор по варианту осуществления изобретения 26, где необязательно клетка представляет собой Т-клетку или НК-клетку, предпочтительно человеческую Т-клетку или человеческую НК-клетку.

10 Вариантом осуществления изобретения 28 является способ создания клетки-хозяина, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR), где способ включает трансдукцию Т-клетки или НК-клетки вектором по варианту осуществления изобретения 26.

15 Вариантом осуществления изобретения 29 является способ получения содержащей химерный антигенный рецептор (CAR) Т-клетки или содержащей химерный антигенный рецептор (CAR) НК-клетки, где способ включает культивирование Т-клеток или НК-клеток, содержащих выделенный полинуклеотид, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по одному из вариантов осуществления изобретения 18-24, в условиях, пригодных для получения CAR-Т-клетки или CAR-НК-клетки, и выделение CAR-Т-клетки или CAR-НК-клетки.

20 Вариантом осуществления изобретения 30 является способ создания клетки, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR), где способ включает приведение в контакт клетки с выделенным полинуклеотидом, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по одному из вариантов осуществления изобретения 18-24, где выделенный полинуклеотид представляет собой транскрибируемую *in vitro* РНК или синтетическую РНК.

30 Вариантом осуществления изобретения 31 является способ лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включающий введение субъекту, который нуждается в этом, клетки-хозяина по варианту осуществления изобретения 27, где необязательно рак выбирают из группы, которая состоит из рака легкого, рака желудка, рака пищевода, рака желчных протоков, холангиокарциномы, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака

головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

Вариантом осуществления изобретения 32 является способ по варианту осуществления изобретения 31, дополнительно включающий введение субъекту, который нуждается в этом, агента, повышающего эффективность клетки, экспрессирующей CAR, или агента, который облегчает одно или несколько побочных действий, связанных с введением клетки, экспрессирующей CAR, или агента, который лечит заболевание, связанное с IL13Ra2.

Примеры

Пример 1: Идентификация моноклональных антител к IL13Ra2

Мышей иммунизировали рекомбинантным человеческим IL13Ra2 (фирма ACROBiosystems; каталожный № IL2-H52H5, партия № C333P1-97HF1-Q5) и получали гибридомы, которые подвергали скринингу с использованием ELISA и/или FACS. Позитивные клоны выделяли и секвенировали.

Последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепей (VH- и VL-области соответственно) моноклональных антител к IL13Ra2 представлены в таблицах 1 и 2, а CDR-участки моноклональных антител к IL13Ra2 представлены в таблицах 3-6.

Таблица 1: Последовательности переменной области тяжелой цепи МАт

Клоны МАт	VH	SEQ ID NO:
L3A6	QVQLQQPGAELVKPGAPVKLSCKASGYTFTNYWMNWVKQRPGRGLEWIGRIDPSDTETHYNQEVKDKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCARGYGTYYGMDYWGQGTSVTVSS	1
L1E1	QVQLQQSGPELVKPGASVRLSCKASGYSFTSYIHWKQRPGQGLEWIGYIFPGDGSSNYNEKFKGKATLTADTSSSTVYMQLSSLTSEDSAVYFCARPYYYSGRGFAYWGQGTLTVSA	15
L2E3	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYVFSRSWMNWVKQRPGKGLEWIGRIYPGDGDTNYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGYYGNFYFDYWGQGTTTLTVSS	29
L4B11	QAQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSDSWMSWVKQRPGKGLEWIGQIYPGDGDTNFNGNFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYFCARRYYPVWFAYWGQGTLTVSA	43
L1A11	QVTLKESGPGILQSSQTLSTLTCFSGFSLSSTSGMGVSWIRQPSGMGLEWLAHIYWDKDKRYNPSLKSRLTISKDTSRDQIFLKIASVDTSDTATYYCARRAYDNYPYYYFDVWGAGTTVTVSS	57
L3E3	EVQLQQSGPALVKPGASVKISCKASGFTFTDYMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPNNGGTNYNRKFKDKASLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARRYGN	71

Клоны МАт	VH	SEQ ID NO:
	YIWFAYWGQGTLVTVSA	
L2A2	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYIHWVKQRPGQGLEWIGWIY PGSDNTKYNEKFKDKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARDWENR PYFGYWGQGTTTLTVSS	85
L2F7	QVQLKQSGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTDSYINWVRQRPGQGLEWIARIY PKNNNTYYNEKFKDKATLTAEKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARTGGSS WAWFAYWGQGTLVTVSA	99
L4D10	EVKLVLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFDFSKAWMSWVRQATGKGLEWIGEI SPGSSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCSSDYDPFA FWGQGILVTVSA	113
S1B3	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYIMNWVKQRTEQGLEWIGRI DPEDGEIKYAPKFQGKATITADTSSNTAYLQVSSLTSEDTAVYYCARPRDSSG YVGFAYWGQGTLVTVSA	127
L3F8	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTGYWIEWVKERPGHGLEWIGEI LPGNGNTYYNEKFKGKATFTADTSSNTAYMLLSSLTTEDSAIYYCASERRNR YAWFAYWGQGTLVTVSA	141
L1D8	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDYIMNWVKQRTEQGLEWIGRI DPEDGEIKYAPKFQGRATITADTSSNTAYLQLGSLTSEDTAVYYCARPLASS GYVGFAYWGQGTLVTVSS	155
L2H3	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTGYWIEWLQKRPGHGLEWIGEI LPGNGSTYYNEKFKGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTTEDSAIYYCATEEYGN YEAWFSYWGQGTLVTVSA	169

VH: переменная область тяжелой цепи

**Таблица 2: Последовательности переменной области легкой цепи МАт**

Клоны МАт	VL	SEQ ID NO:
L3A6	DIVLTQSPASLA VSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGQPPKLLIY AASNQSGGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPLEEDDTALYFCQQSKEVPWTFGGG TKLEIK	2
L1E1	DIVLTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSSISNYLHWYQQKSHESPRLLIKSASQS ISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLELK	16
L2E3	DIVMTQA AFSNPVTLGTSASISCRSSK SLLHTDGITYLWYLRPGQSPQLLI YWMSNLAGV PDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDGVVYYCAQILEFPRTFGG GTKLEIK	30
L4B11	DVLMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKPLI YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCFQSSHVPFTFGSG TKLEIK	44
L1A11	DIQMTQTSSLASLGDRTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSR LHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQQYGKLFTEGTGKLEIK	58
L3E3	DVVMQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLL IYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYFCSQSTHVPTFGGG TKLEIK	72
L2A2	DIVLIQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISSYLHWYQQKSHESPRLLIKYASQS ISGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVETEDFGMYFCQQSNSWPLTFGAGTKLVK	86
L2F7	DIQMTQSPASLAASVGETITITCQASENIYFSLAWYQQKQKSPQLLIYNANS LEDGVPSRFSGSGSGTQFSMKINSMQPEDTATYFCKQAYDFPYTFGGGKLE IK	100
L4D10	DVLMQTPLSLPVSLGDHASISCRSSQTIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLI YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCFQSSHVPFTFGSG TKLEIK	114
S1B3	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSTVSSSYLHWYQQKSGASPKLWIYGT SNLAGV PDRFSGSGSGTSYSLTISGVEAEDAATYYCQQYHSDPPTFGGGTK LEIK	128

Клоны МАТ	VL	SEQ ID NO:
L3F8	DVVMQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSDGKTYLTWLQQRPGQSPKRL MYQVSKLDPGIPDRFSGSGSETDFSLKISRVEAEDLGVYYCLQGTYYPRTFG GGTKLEIK	142
L1D8	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSSRYLHWYQQKSGASPKLWIYVT SNLASGVPARFSGSGSGTSSYSLTISSVEAEDAATYYCQQYHSAPPTFGGGTKL EIK	156
L2H3	DVVMQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSDGKTYLNWLQQRPGQSPKRL MYQVSKLDPGIPDRFSGSGSETDFTLKISRVEAEDLGVYYCLQGTYYPQTFG SGTKLEIK	170

VL: переменная область легкой цепи

**Таблица 3: CDR-участки 1-3 тяжелой цепи МАТ**

Клоны МАТ	HC CDR1	NO	HC CDR2	NO	HC CDR3	NO
L3A6	GYTFTNYW	3	IDPSDTET	4	ARGYGTYYGMDY	5
L1E1	GYSFTSY	17	IFPGDGSS	18	ARPYYSGRGFAY	19
L2E3	GYVFSRSW	31	IYPGDGDT	32	ARGYYGNYFDY	33
L4B11	GYAFSDSW	45	IYPGDGDT	46	ARRYYPVWFAY	47
L1A11	GFSLSTSGMG	59	IYWDDDK	60	ARRAYDNYPYYFDV	61
L3E3	GFTFTDYY	73	IYPNNGGT	74	ARRYGNYIWFAY	75
L2A2	GYSFTSY	87	IYPGSDNT	88	ARDWENRPYFGY	89
L2F7	GYTFTDSY	101	IYPKNNNT	102	ARTGGSSWAWFAY	103
L4D10	GDFFSKAW	115	ISPGSSTI	116	SSDYDPFAF	117
S1B3	GFNIKDYY	129	IDPEDGEI	130	ARPRDSSGYVGFAY	131
L3F8	GYTFTGYW	143	ILPGNGNT	144	ASERRNRYAWFAY	145
L1D8	GFNIKDYY	157	IDPEDGET	158	ARPLASSGYVGFAY	159
L2H3	GYTFTGYW	171	ILPGNGST	172	ATEEYGNYEAWFSY	173

5

HC: тяжелая цепь; CDR: определяющий комплементарность участок; NO: SEQ ID NO

CDR HC МАТ к IL13Ra2 определяли, используя метод IMGT (Lefranc M.-P. и др., Nucleic Acids Res. 27, 1999, сс. 209-212).

10

**Таблица 4: CDR-участки 1-3 легкой цепи МАТ**

Клоны МАТ	LC CDR1	NO	LC CDR2	NO	LC CDR3	NO
L3A6	ESVDNYGISF	6	AAS	7	QQSKEVPWT	8
L1E1	QISISNY	20	SAS	21	QQSNSWPLT	22
L2E3	KSLLHTDGITY	34	WMS	35	AQILEFPRT	36
L4B11	QSIVHSNGNTY	48	KVS	49	FQSSHVPFT	50
L1A11	QDISNY	62	YTS	63	QQYGKLFT	64
L3E3	QSLVHSNGNTY	76	KVS	77	SQSTHVPT	78
L2A2	QSISSY	90	YAS	91	QQSNSWPLT	92
L2F7	ENIYFS	104	NAN	105	KQAYDFPYT	106
L4D10	QTIVHSNGNTY	118	KVS	119	FQSSHVPFT	120
S1B3	STVSSSY	132	GTS	133	QQYHSDPPT	134
L3F8	QSLLYSDGKTY	146	QVS	147	LQGTYYPRT	148
L1D8	SSVSSRY	160	VTS	161	QQYHSAPPT	162
L2H3	QSLLYSDGKTY	174	QVS	175	LQGTYYPQT	176

LC: легкая цепь; CDR: определяющий комплементарность участок; NO: SEQ ID NO  
 CDR LC МАТ к IL13Ra2 определяли, используя метод IMGТ (Lefranc M.-P. и др., Nucleic Acids Res. 27, 1999, сс. 209-212).

5 **Таблица 5: CDR-участки 1-3 тяжелой цепи МАТ**

Клоны МАТ	HC CDR1	NO	HC CDR2	NO	HC CDR3	NO
L3A6	NYWMN	9	RIDPSDTETHYNQEVDK	10	GYGTYYGMDY	11
L1E1	SYYIH	23	YIFPGDGSSNYNEKFKG	24	PYYYSGRGFAY	25
L2E3	RSWMN	37	RIYPGDGDТNYNGKFKG	38	GYYGNYFDY	39
L4B11	DSWMS	51	QIYPGDGDТNFNGNFKG	52	RYYPVWFAY	53
L1A11	TSGMGVS	65	HIYWDDDKRYNPSLKS	66	RAYDNYPYYFDV	67
L3E3	DYYMD	79	YIYPNNGGTNYNRKFKD	80	RYGNYIWFAY	81
L2A2	SYYIH	93	WIYPGSDNTKYNEKFKD	94	DWENRPYFGY	95
L2F7	DSYIN	107	RIYPKNNNTYYNEKFKD	108	TGGSSWAWFAY	109
L4D10	KAWMS	121	EISPGSSTINYTPSLKD	122	DYDPFAF	123
S1B3	DYYMN	135	RIDPEDGEIKYAPKFQG	136	PRDSSGYVGWFAY	137
L3F8	GYWIE	149	EILPGNGNTYYNEKFKG	150	ERRNRYAWFAY	151
L1D8	DYYMN	163	RIDPEDGETKYAPKFQG	164	PLASSGYVGWFAY	165
L2H3	GYWIE	177	EILPGNGSTYYNEKFKG	178	EEYGNYEAWFSY	179

HC: тяжелая цепь; CDR: определяющий комплементарность участок; NO: SEQ ID NO  
 CDR HC МАТ к IL13Ra2 определяли, используя метод Кэбота (Elvin A. Kabat и др, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-ое изд., 1991).

10

**Таблица 6: CDR-участки 1-3 легкой цепи МАТ**

Клоны МАТ	LC CDR1	NO	LC CDR2	NO	LC CDR3	NO
L3A6	RASESVDNYGISFMN	12	AASNQGS	13	QQSKEVPWT	14
L1E1	RASQISNYLH	26	SASQIS	27	QQSNSWPLT	28
L2E3	RSSKSLHTDGITYLY	40	WMSNLAS	41	AQILEFPRT	42
L4B11	RSSQSIVHSNGNTYLE	54	KVSNRFS	55	FQSSHVPFT	56
L1A11	RASQDISNYLN	68	YTSRLHS	69	QQYGKLFT	70
L3E3	RSSQSLVHSNGNTYLH	82	KVSNRFS	83	SQSTHVPT	84
L2A2	RASQISSYLH	96	YASQIS	97	QQSNSWPLT	98
L2F7	QASENIYFLA	110	NANSLED	111	KQAYDFPYT	112
L4D10	RSSQTIVHSNGNTYLE	124	KVSNRFS	125	FQSSHVPFT	126
S1B3	SASSTVSSSYLH	138	GTSNLAS	139	QQYHSDPPT	140
L3F8	KSSQSLLYSDGKTYLT	152	QVSKLDP	153	LQGTYYPRT	154
L1D8	SASSSVSSRYLH	166	VTSNLAS	167	QQYHSAPPT	168
L2H3	KSSQSLLYSDGKTYLN	180	QVSKLDP	181	LQGTYYPQT	182

LC: легкая цепь; CDR: определяющий комплементарность участок; NO: SEQ ID NO

CDR LC МАт к IL13Ra2 определяли, используя метод Кэбота (Elvin A. Kabat и др, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5-ое изд., 1991).

Пример 2: Получение и очистка МАт из культуральных сред

5 трансфектированных клеток

Для получения рекомбинантных химерных МАт к IL13Ra2 экспрессионными векторами, содержащими мышинные вариабельные области (VH и VL), слитые с константными областями тяжелой цепи и легкой каппа-цепи соответственно человеческого IgG1, кратковременно трансфектировали 10 клетки ExpiCHO-S. Рекомбинантные антитела, полученные в суспензии клеток ExpiCHO-S, очищали, используя аффинную хроматографию на белке А.

Пример 3: ELISA-анализ связывания очищенных химерных МАт

Очищенные химерные МАт тестировали с использованием ELISA-анализа в отношении их способности связываться с иммобилизованным IL13Ra2. 15 Рекомбинантным человеческим IL13Ra2 в карбонатном-бикарбонатном буфере (фирма Sigma; Сент-Луис, шт. Миссури; каталожный №: C3041-100CAP) сенсibilizировали 96-луночный планшет при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшет блокировали с помощью 5% БСА в TBST в течение 1 ч при 20 комнатной температуре. В каждой лунке одного планшета инкубировали МАт в одной из различных концентраций в течение 1 ч при комнатной температуре. Планшет промывали и оценивали связывание с IL13Ra2 с использованием 25 мышинового антитела к человеческому IgG Fc-специфического, конъюгированного с пероксидазой из хрена (фирма Genescript; Пискатауэй, шт. Нью-Джерси; каталожный № A01854) путем инкубации в течение 1 ч при комнатной 25 температуре. Затем после промывки планшеты для ELISA обрабатывали раствором для одностадийной детекции (One-step Detection Solution) (фирма ThermoFisher Scientific; Уолтем, шт. Массачусетс; каталожный № 34028) и измеряли абсорбцию при 450 нм. Результаты представлены на фиг. 1А-1Д. L3A6-C обозначает химерную версию L3A6, другие антитела обозначали 30 согласно такому же правилу.

Пример 4: FACS-анализ связывания очищенных химерных МАт

Клетки A375 переносили в 96-луночный планшет. Приблизительно 50000 клеток инкубировали с очищенными химерными МАт к IL13Ra2 (вариабельные области мышинных МАт, слитые с константными областями тяжелой цепи и

легкой каппа-цепи соответственно человеческого IgG1) в различных концентрациях в течение 15 мин при 4°C. Затем клетки центрифугировали в течение 5 мин и однократно промывали FACS-буфером (HBSS, дополненный 5% БСА и 0,05% азида натрия). Затем клетки инкубировали с меченым PE/цианином7 рекомбинантным антителом к человеческому IgG Fc-специфическим (фирма Biolegend; Сан-Диего, шт. Калифорния; каталожный № 366907) или с вторичным антителом, представляющим собой F(ab')<sub>2</sub>-козье антитело к человеческому IgG Fc-специфическое, конъюгированное с Alexa Fluor™ 488 (фирма ThermoFisher; каталожный № H10120), и инкубировали на льду в течение еще 15 мин. Затем клетки однократно промывали FACS-буфером и ресуспендировали в FACS-буфере. Затем клетки пропускали через цитометр Attune NxT и данные анализировали с использованием программного обеспечения Attune NxT. Результаты представлены на фиг. 2А-2Б. L3A6-С обозначает химерную версию L3A6, другие антитела обозначали согласно такому же правилу.

#### Пример 5: Гуманизация МАт к IL13Ra2

Мышиные МАт к IL13Ra2 гуманизировали для снижения потенциальной иммуногенности при применении на больных людях. Последовательности переменных областей тяжелых и легких цепей (VH и VL) сравнивали с последовательностями человеческих областей в базе данных Банка данных о белках (PDB) и строили модели гомологии. CDR и тяжелых, и легких цепей мышиных МАт трансплантировали в человеческие каркасные участки, которые обладали наибольшей вероятностью сохранения надлежащей структуры, вероятно необходимой для связывания антигена. При необходимости создавали обратные мутации, приводящие к замене человеческих остатков на мышиные, или другие мутации. Последовательности гуманизированных VH- и VL-областей представлены в таблице 7. Гуманизированные VH- и VL-области сливали с константными областями тяжелой цепи и легкой каппа-цепи соответственно человеческого IgG1. Связывание гуманизированных МАт с IL13Ra2 оценивали с помощью ELISA-анализа (фиг. 3А-33) и FACS-анализа (фиг. 4А-43). L3A6-H1L1 обозначает гуманизированное МАт, сконструированное с тяжелой цепью L3A6-H1 и легкой цепью L3A6-L1, которые представлены в таблице 7; другие гуманизированные клоны обозначали согласно такому же правилу.



**Таблица 7: Последовательности переменных областей тяжелых и легких цепей гуманизированных МАТ к IL13Ra2**

VH/VL	Последовательность	NO
L3A6-H1	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTASGYFTFTNYWMNWVRQPPGKALEWIGRIDPSDTEETHYNQEVKDRATLSVDKSKNQAVLTMTNMDPVDTATYYCARGYGTYYGMDYWGQGS�VTVSS	183
L3A6-H2	EVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCTASGYFTFTNYWMNWVRQPPGKALEWIGRIDPSDTEETHYNQEVKDRATLTVDKSKNQAVLTMTNMDPVDTATYYCARGYGTYYGMDYWGQGTЛVTVSS	184
L3A6-H3	EVTLKESGPTLVKPTQTLTLTCKASGYFTFTNYWMNWVRQPPGKALEWIGRIDPSDTEETHYNQEVKDRATLTVDTSKNQAVLTMTNMDPVDTATYYCARGYGTYYGMDYWGQGTЛVTVSS	185
L3A6-H4	EVQLVQSGAELKKPGSSVKVSCKASGYFTFTNYWMNWVKQAPGQGLEWIGRIDPSDTEETHYNQEVKDKATLTVDKSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYGTYYGMDYWGQGTЛVTVSS	186
L3A6-L1	DIVLTQSPDSLVSLSGERATINCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPKLLIYAASNQSGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK	187
L3A6-L2	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPKLLIYAASNQSGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK	188
L3A6-L3	DIVLTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPKLLIYAASNQSGSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSKEVPWTFGGGTKVEIK	189
L3A6-L4	DIQLTQSPSTLSASVGDRVITICRASESVDNYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYFCQQSKEVPWTFGGGTKVEVK	190
L4B11-H1	QAQLVQSGPEVKKPGTSSVRVSKASGYAFSDSWMSWVRQARGQRLEWIGQIYPGDGDТNFNGNFKGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARRYYPVWFAYWGQGTMTVTVSS	191
L4B11-H2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFSDSWMSWVRQAPGKGLEWIGQIYPGDGDТNFNGNFKGRATLSADKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYFCARRYYPVWFAYWGQGTMTVTVSS	192
L4B11-H3	QVQLEQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSDSWMSWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGDТNFNQRFQGRATLTADKSMTTAYMELSSLRSEDTAMYFCARRYYPVWFAYWGQGTMTVTVSS	193
L4B11-L1	DVVMТQTPGTLSPGERATLSCRSSQSIVHSNGNTYLEWYQKPGQAPRPLIYKVSНRFSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFVYVYCFQSSHVPFTFGQGTKVEIK	194
L4B11-L2	DVQMTQSPSTLSASVGDRVITICRSSQSIVHSNGNTYLEWYQKPGKAPKPLIYKVSНRFSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYVYCFQSSHVPFTFGQGTKVEIK	195
L4B11-L3	EVENTQSPATLSVSPGESATLSCRSSQSIVHSNGNTYLEWYQKPGQAPRPLIYKVSНRAPAIPGRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDLAVYVYCFQSSHVPFTFGQGTKVEIK	196
L2E3-H1	QVQLQESGPELVKPSQTLSTCTASGYVFSRSWMNWVRQSPGKGLEWIGRIYPGDGDТNYNGKFKGRATLSADKSKTQASLKLSSVTAADTAIYFCARGYYGNVFDYWGQGTMTVTVSS	197
L2E3-H2	QVQLVESGPELVKPSQTLSTCTASGYVFSRSWMNWVRQPAGKGLEWIGRIYPGDGDТNYNGKFKGRATLSADKSKNQASLKLSSVTAADTAVYFCARGYYGNVFDYWGKGTЛVTVSS	198
L2E3-H3	EVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTASGYVFSRSWMNWVRQPPGKALEWIGRIYPGDGDТNYNGKFKGRATLSADKSKSQAVLTMTNMDPVDTATYFCARGYYGNVFDYWGQGTЛVTVSS	199
L2E3-L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSSKSLHTDGITYLYWYQKPGKAPKLLIYWMSNLAGVPSRFSGSGSGTDFTFТИSSLQPEDIATYYCAQILEFPRTFGG	200

VH/VL	Последовательность	NO
	GTKVEIK	
L2E3-L2	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSKSLHTDGITYLYWYQQKPGRAPDLL IYWMSNLAGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCAQILEFPRTFGQ GTKLQIK	201
L2E3-L3	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLHTDGITYLYWYQQKPGQAPRL IYWMSNLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCAQILEFPRTFGQ GTKLEIK	202
L1A11-H 1	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTASGFTFTDYMDWVRQPPGKALEWIGYI HIYWDKDKRYNPSLKSRLTISKDTSKTQISLKLSSVTAADTAIYYCARRAYD NYPYFYFDVWGQGTMTVSS	203
L1A11-H 2	QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTASGFTFTDYMDWVRQPPGKALEWIGYI HIYWDKDKRYNPSLKSRLTISKDTSKNQIVLTMNMDPVDTATYYCARRA YDNYFYFDVWGQGSLLTVSS	204
L1A11-L 1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYYTS RLHSGVPSRFSGSGSGTDYFTISSLQPEDATYYCQQYGKLFTEGGGTKVEI K	205
L1A11-L 2	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASQDISNYLNWYQQKPGQPVKLLIYYTS RLHSGVPDRFSGSGSGTDYTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGKLFTEGGGTKV EIK	206
L3E3-H1	EVTLKESGPTLVKPTQTLTLCTASGFTFTDYMDWVRQPPGKALEWIGYI YPNNGGTNYNRKFKDRATLTVDKSKNQAVLTMNMDPVDTATYYCARRY GNYIWFAYWGQGTITVSS	207
L3E3-H2	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTASGFTFTDYMDWVRQLPGKALEWIGYI YPNNGGTNYNRKFKDRATLSVDKSKKQASRLSSVTAADTAVYYCARRY GNYIWFAYWGQGTITVSS	208
L3E3-L1	DVVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQQKPGQPPK LLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCSQSTHVPTFG QGKVEIK	209
L3E3-L2	EVVMTQSPGTLSPGERATLSCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQQKPGQAPSL LIYKVSNRFSGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCSQSTHVPTFGQ GTKVEIK	210
L2A2-H1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYSFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGW IYPGSDNTKYNEKFKDRATLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDWE NRPYFGYWGQGTITVSS	211
L2A2-H2	QVQLEESGPGLVKPSQTLSTCTASGYSFTSYIHWVRQPPGKALEWIGWI YYPGSDNTKYNEKFKDRATLSADTSKNEASRLTSVTAADTAVYYCARDWEN RPYFGYWGQGTITVSS	212
L2A2-L1	DIQLTQSPSSVSASVGDRTITCRASQSISSYLHWYQQKPGKAPKLLIKYAS QSISGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSNSWPLTFGQGTKVEI K	213

NO: SEQ ID NO

Пример 6: Создание конструкций химерных антигенных рецепторов,

5 содержащих анти-IL13Ra2 антигенсвязывающие домены

Для создания конструкций CAR МАт превращали в scFv, используя VH, VL и (G<sub>4</sub>S)<sub>n</sub>-линкер, и scFv сливали с N-концом шарнирного и трансмембранного доменов, полученных из человеческого CD8a (аминокислоты (ак) 114-118, Boursier J.P. и др., J. Biol. Chem. 268(3), 1993, сс. 2013-2020). С-концевой  
10 внутриклеточный сигнальный домен CAR конструировали путем слияния

внутриклеточного костимуляторного домена CD28 (ак 162-202, Aruffo A. и Seed B., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84(23), 1987, сс. 8573-8577), за которым располагался активационный домен из дзета-цепи CD3 (ак 52-162, Letourneur F. и Klausner R.D., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88(20), 1991, сс. 8905-8909).

5 Последовательность ДНК, кодирующую CAR, собирали и клонировали в экспрессионном векторе (ретровирусный, лентивирусный, внехромосомный или интегрированный) с получением конструкции CAR с использованием стандартных для молекулярной биологии технологий клонирования.

10 Специалистам в данной области должно быть очевидно, что в описанные выше варианты осуществления можно вносить изменения, не отступая от концепции изобретения в широком смысле. Таким образом, должно быть очевидно, что настоящее изобретение не ограничено описанными конкретными вариантами осуществления, но подразумевается, что под объем настоящего изобретения подпадают модификации, указанные в настоящем описании.

15

## ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое/который содержит определяющий комплементарность участок 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 тяжелой цепи, определяющий комплементарность участок 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 легкой цепи, которые имеют следующие полипептидные последовательности:

(1) SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8 соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно;

(2) SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно;

(3) SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37, 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно;

(4) SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно;

(5) SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно;

(6) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно;

(7) SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно;

(8) SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно;

(9) SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно SEQ ID NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126 соответственно;

(10) SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно;

(11) SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно;

(12) SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно; или

(13) SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно;

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

2. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, которое/который содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155 или 169, или переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 100, 114, 128, 142, 156 или 170.

3. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 2, которое/который содержит

(1) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(2) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16;

(3) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 29, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 30;

(4) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 43, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 44;

(5) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 57, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 58;

(6) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 71, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 72;

(7) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 85, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 86;

(8) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 99, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 100;

5 (9) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 113, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 114;

(10) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 127, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 128;

10 (11) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 141, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 142;

(12) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 155, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 156;

или

(13) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 169, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 170.

20

4. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из п.п. 1-3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным или человеческим, или гуманизированным.

25 5. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 4, где гуманизированное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на

95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой из SEQ ID NO: 183, 184, 185, 186, 191, 192, 193, 197, 198, 199, 203, 204, 207, 208, 211 или 212, или

30 переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%

последовательность, которая по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%

идентична любой из SEQ ID NO: 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 205, 206, 209, 210 или 213.

6. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий  
фрагмент по п. 5, где гуманизированное моноклональное антитело или его  
антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(1) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи,  
имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

10 (2) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи,  
имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

(3) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи,  
15 имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;

(4) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 183, и переменную область легкой цепи,  
имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

20 (5) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи,  
имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;

(6) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи,  
имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 188;

25 (7) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи,  
имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 189;

(8) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 184, и переменную область легкой цепи,  
30 имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 190;

(9) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную  
последовательность SEQ ID NO: 185, и переменную область легкой цепи,  
имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 187;









(43) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 211, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213; или

5 (44) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 212, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213.

10 7. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из п.п. 1-6, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обладает способностью индуцировать опосредуемый эффектором лизис опухолевых клеток посредством антитело-обусловленной клеточнозависимой цитотоксичности (ADCC), антителозависимого клеточного фагоцитоза (ADCP) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC); и/или опосредовать рекрутмент конъюгированных лекарственных средств; и/или  
15 образовывать биспецифическое антитело с другим МАт или его антигенсвязывающим фрагментом, обладающим противораковым действием.

20 8. Биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее/содержащий моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из п.п. 1-7.

25 9. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из п.п. 1-7 или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 8.

10. Вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по п. 9.

11. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п. 10.

30 12. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из п. 1-7 или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 8 и фармацевтически приемлемый носитель.

13. Способ таргетинга IL13Ra2 на поверхности раковой клетки и/или  
лечения рака, и/или лечения воспалительного заболевания, и/или лечения  
аутоиммунного заболевания у субъекта, который нуждается в этом,  
включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п. 12, где  
5       необязательно рак выбирают из группы, которая состоит из рака легкого, рака  
желудка, рака пищевода, рака желчных протоков, холангиокарциномы, рака  
ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной  
карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической  
меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака  
10       головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы,  
мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы  
(NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL),  
хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого  
миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

15  
14. Способ получения моноклонального антитела или его  
антигенсвязывающего фрагмента по одному из п.п. 1-7 или биспецифического  
антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по п. 8, включающий  
культивирование клетки, которая содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую  
20       моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или  
биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, в условиях,  
пригодных для получения моноклонального антитела или его  
антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его  
антигенсвязывающего фрагмента, и выделение моноклонального антитела или  
25       его антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его  
антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

15. Способ получения фармацевтической композиции, которая содержит  
моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по одному из  
30       п.п. 1-7 или биспецифическое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент  
по п. 8, включающий объединение моноклонального антитела или его  
антигенсвязывающего фрагмента или биспецифического антитела или его  
антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с  
получением фармацевтической композиции.

16. Способ определения уровня IL13Ra2 у субъекта, где способ включает:

- (а) получение образца из организма субъекта;
- (б) приведение образца в контакт с выделенным моноклональным
- 5 антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по одному из п.п. 1-7; и
- (в) определение уровня IL13Ra2 у субъекта.

17. Способ по п. 16, в котором образец представляет собой образец ткани или образец крови, где необязательно образец ткани представляет собой образец

10 раковой ткани.

18. Выделенный полинуклеотид, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR), где CAR содержит:

- (а) внеклеточный домен, содержащий по меньшей мере один
- 15 антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с IL13Ra2;
- (б) шарнирную область;
- (в) трансмембранную область; и
- (г) внеклеточный сигнальный домен.

20 19. Выделенный полинуклеотид по п. 18, где антигенсвязывающий домен содержит определяющий комплементарность участок 1 (HCDR1), HCDR2, HCDR3 тяжелой цепи, определяющий комплементарность участок 1 (LCDR1), LCDR2 и LCDR3 легкой цепи, которые содержат следующие полипептидные последовательности:

- 25 (1) SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 и 8 соответственно или SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13 и 14 соответственно;
- (2) SEQ ID NO: 17, 18, 19, 20, 21 и 22 соответственно или SEQ ID NO: 23, 24, 25, 26, 27 и 28 соответственно;
- (3) SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35 и 36 соответственно или SEQ ID NO: 37,
- 30 38, 39, 40, 41 и 42 соответственно;
- (4) SEQ ID NO: 45, 46, 47, 48, 49 и 50 соответственно или SEQ ID NO: 51, 52, 53, 54, 55 и 56 соответственно;
- (5) SEQ ID NO: 59, 60, 61, 62, 63 и 64 соответственно или SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69 и 70 соответственно;

(6) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 76, 77 и 78 соответственно или SEQ ID NO: 79, 80, 81, 82, 83 и 84 соответственно;

(7) SEQ ID NO: 87, 88, 89, 90, 91 и 92 соответственно или SEQ ID NO: 93, 94, 95, 96, 97 и 98 соответственно;

5 (8) SEQ ID NO: 101, 102, 103, 104, 105 и 106 соответственно или SEQ ID NO: 107, 108, 109, 110, 111 и 112 соответственно;

(9) SEQ ID NO: 115, 116, 117, 118, 119 и 120 соответственно или SEQ ID NO: 121, 122, 123, 124, 125 и 126 соответственно;

10 (10) SEQ ID NO: 129, 130, 131, 132, 133 и 134 соответственно или SEQ ID NO: 135, 136, 137, 138, 139 и 140 соответственно;

(11) SEQ ID NO: 143, 144, 145, 146, 147 и 148 соответственно или SEQ ID NO: 149, 150, 151, 152, 153 и 154 соответственно;

(12) SEQ ID NO: 157, 158, 159, 160, 161 и 162 соответственно или SEQ ID NO: 163, 164, 165, 166, 167 и 168 соответственно; или

15 (13) SEQ ID NO: 171, 172, 173, 174, 175 и 176 соответственно или SEQ ID NO: 177, 178, 179, 180, 181 и 182 соответственно;

где антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с IL13Ra2, предпочтительно человеческим IL13Ra2.

20 20. Выделенный полинуклеотид по п. 18 или п. 19, где антигенсвязывающий домен содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 1, 15, 29, 43, 57, 71, 85, 99, 113, 127, 141, 155, 169, 183, 184, 185, 186, 191, 192, 193, 197, 198, 199, 203, 204, 207, 208, 211 или 212, или  
25 вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, которая по меньшей мере на 95% идентична SEQ ID NO: 2, 16, 30, 44, 58, 72, 86, 100, 114, 128, 142, 156, 170, 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 200, 201, 202, 205, 206, 209, 210 или 213.

30 21. Выделенный полинуклеотид по п. 20, где антигенсвязывающий домен содержит:

(1) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;













(57) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 212, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 213.

5            22. Выделенный полинуклеотид по одному из п.п. 18-21, где антигенсвязывающий домен представляет собой одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv).

10           23. Выделенный полинуклеотид по п. 22, где одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv) является гуманизированным.

15           24. Выделенный полинуклеотид по одному из п.п. 18-23, где химерный антигенный рецептор (CAR) содержит один или несколько антигенсвязывающих доменов и/или где внутриклеточный сигнальный домен содержит один или несколько костимуляторных доменов и один или несколько активирующих доменов.

20           25. Химерный антигенный рецептор (CAR), кодируемый выделенным полинуклеотидом по одному из п.п. 18-24.

26. Вектор, содержащий выделенный полинуклеотид по одному из п.п. 18-24.

25           27. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п. 26, где необязательно клетка-хозяин представляет собой Т-клетку или НК-клетку, предпочтительно человеческую Т-клетку или человеческую НК-клетку.

30           28. Способ создания клетки-хозяина, экспрессирующей химерный антигенный рецептор (CAR), где способ включает трансдукцию Т-клетки или НК-клетки вектором по п. 26.

29. Способ получения содержащей химерный антигенный рецептор (CAR) Т-клетки или содержащей химерный антигенный рецептор (CAR) НК-клетки, где способ включает культивирование Т-клеток или НК-клеток, содержащих

выделенный полинуклеотид, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по одному из п.п. 18-24, в условиях, пригодных для получения CAR-T-клетки или CAR-NK-клетки, и выделение CAR-T-клетки или CAR-NK-клетки.

5

30. Способ создания клетки, содержащей химерный антигенный рецептор (CAR), где способ включает приведение в контакт клетки с выделенным полинуклеотидом, который содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный антигенный рецептор (CAR) по одному из п.п. 18-24, где выделенный полинуклеотид представляет собой транскрибируемую *in vitro* РНК или синтетическую РНК.

10

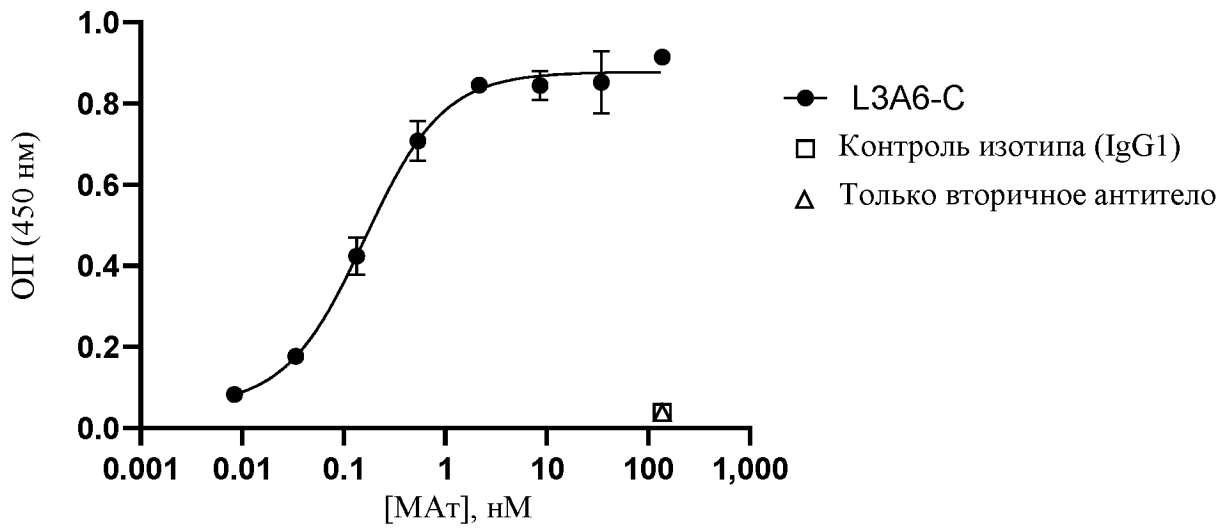
31. Способ лечения рака у субъекта, который нуждается в этом, включающий введение субъекту, который нуждается в этом, клетки-хозяина по п. 27, где необязательно рак выбирают из группы, которая состоит из рака легкого, рака желудка, рака пищевода, рака ободочной кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточной карциномы, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы, мезотелиомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (NHL), острого лимфолейкоза (ALL), хронического лимфолейкоза (CLL), хронического миелолейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других жидкостных опухолей.

20

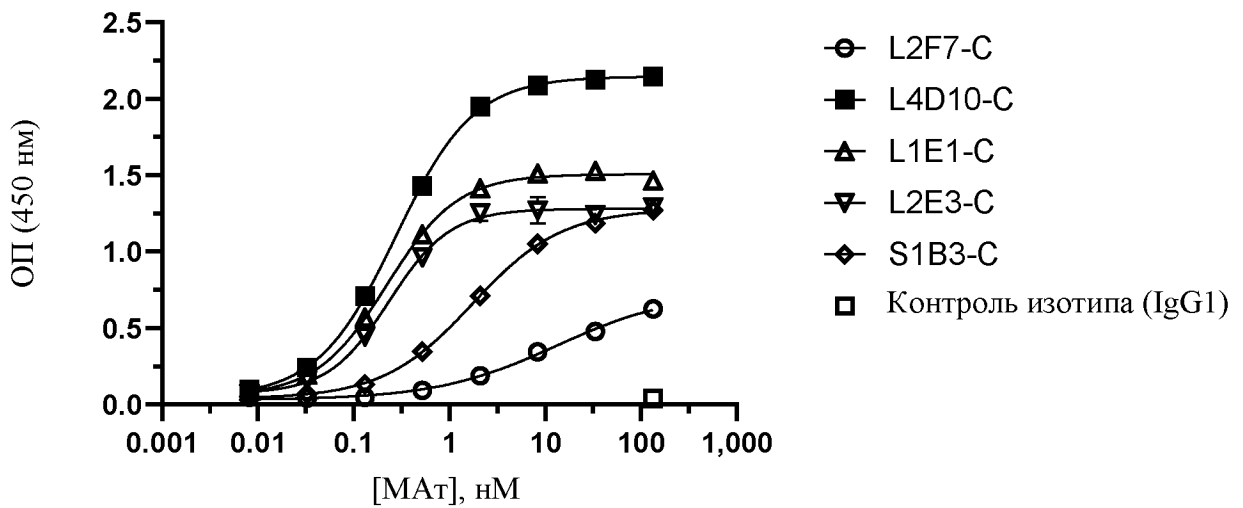
25

32. Способ по п. 31, дополнительно включающий введение субъекту, который нуждается в этом, агента, повышающего эффективность клетки, экспрессирующей CAR, агента, который облегчает одно или несколько побочных действий, связанных с введением клетки, экспрессирующей CAR, или агента, который лечит заболевание, связанное с IL13Ra2.

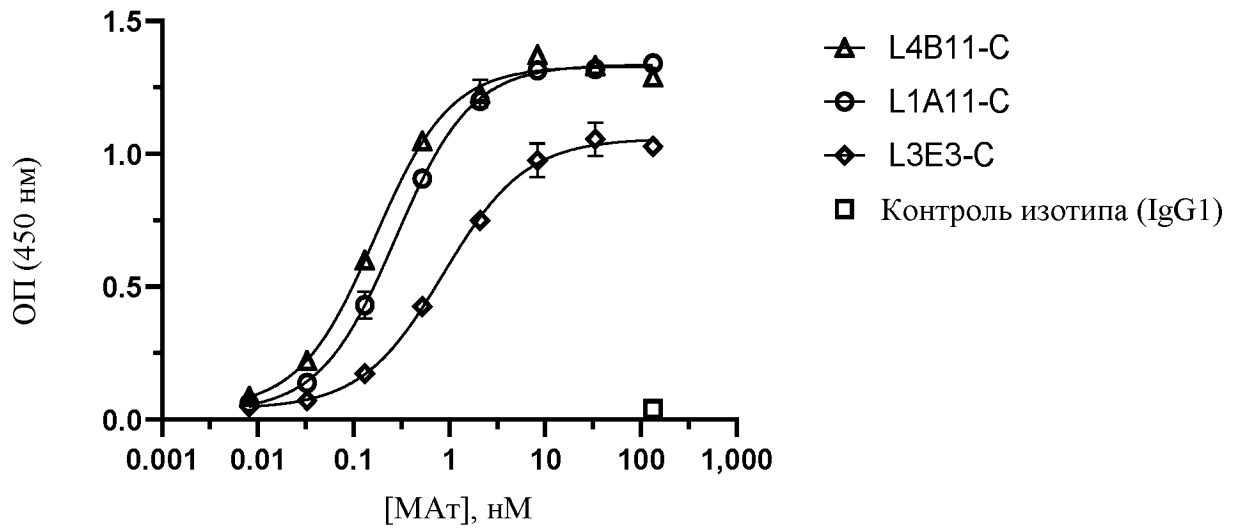
30



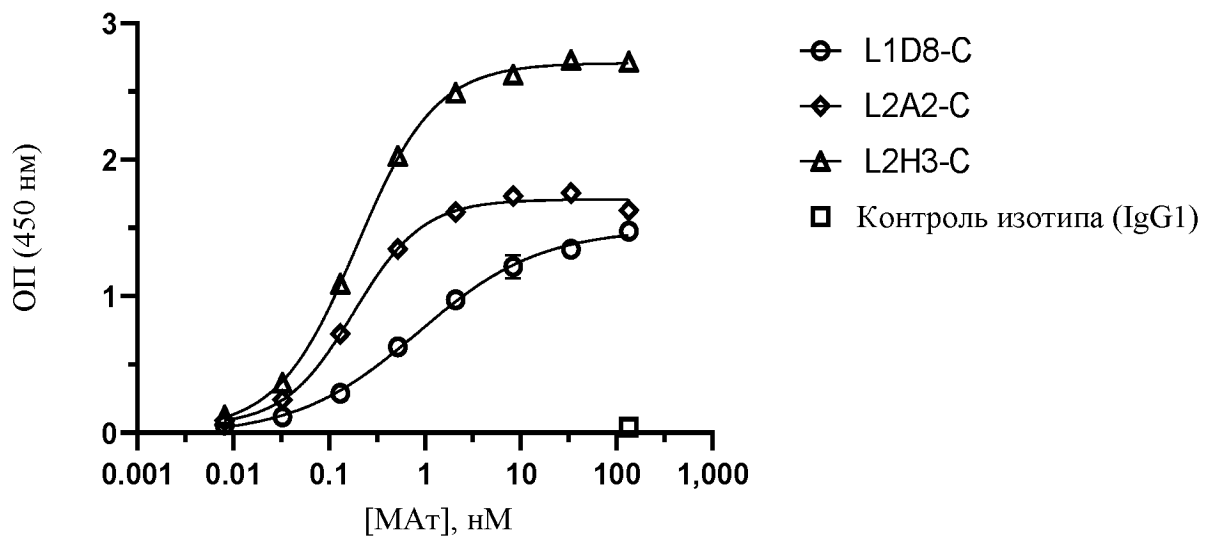
Фиг. 1А



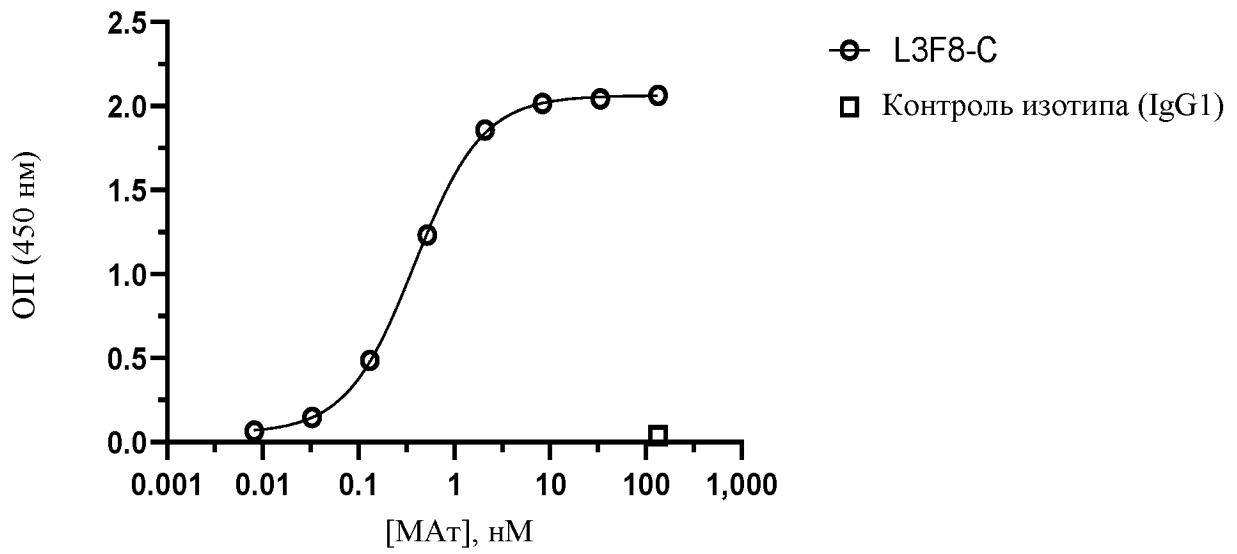
Фиг. 1Б



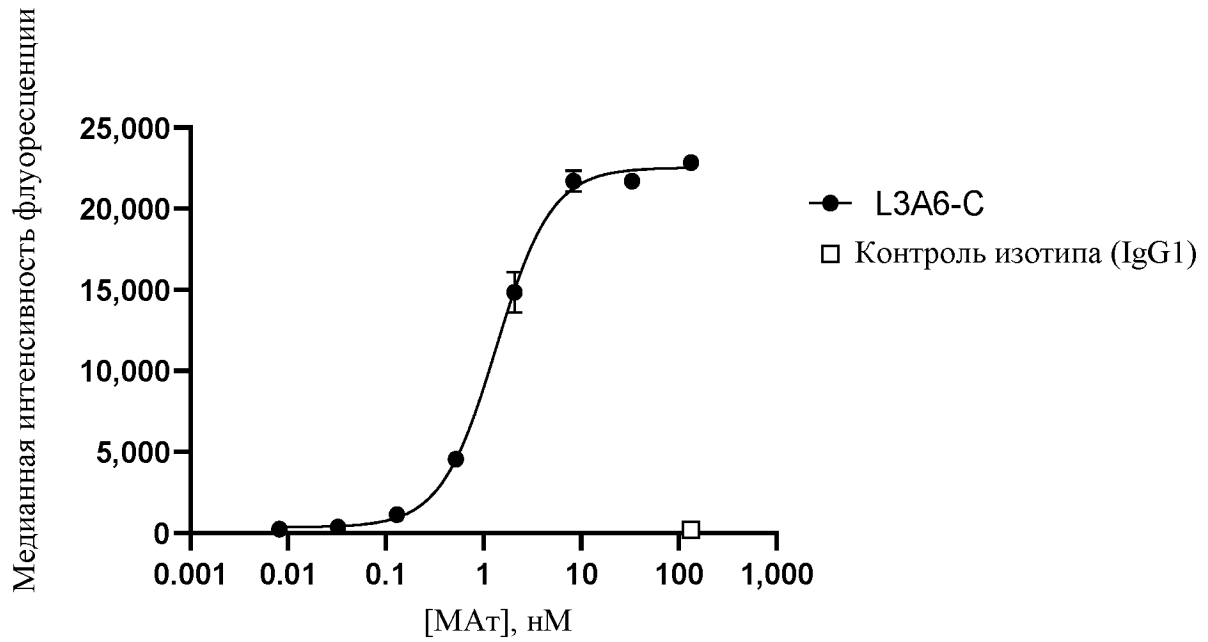
Фиг. 1В



Фиг. 1Г

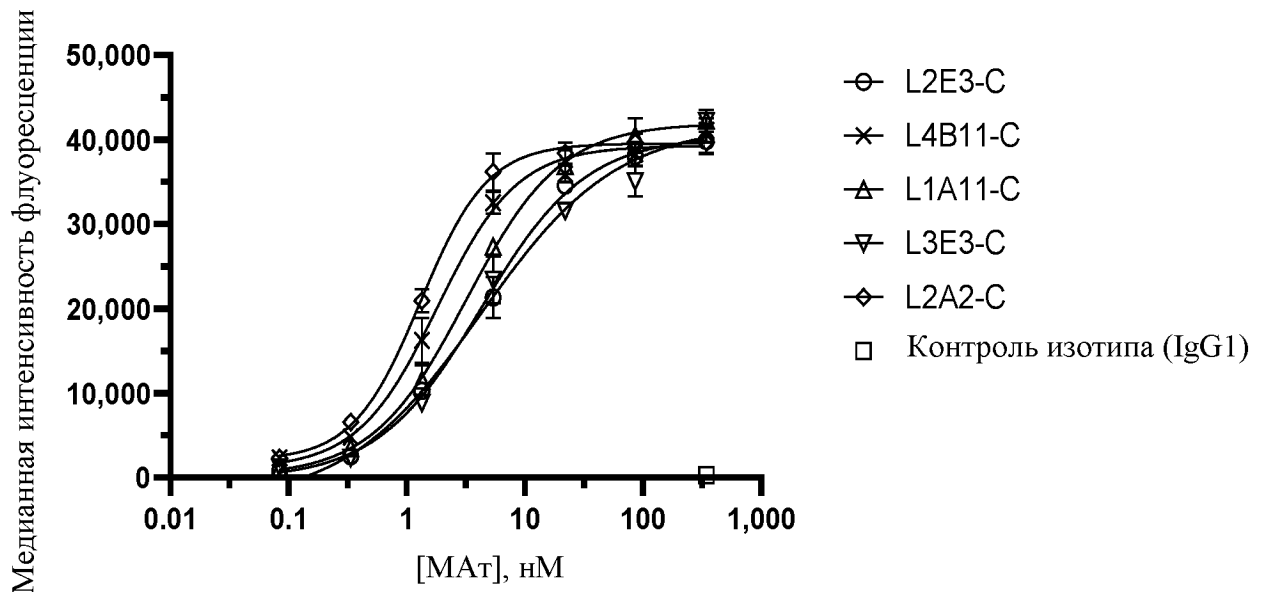


Фиг. 1Д

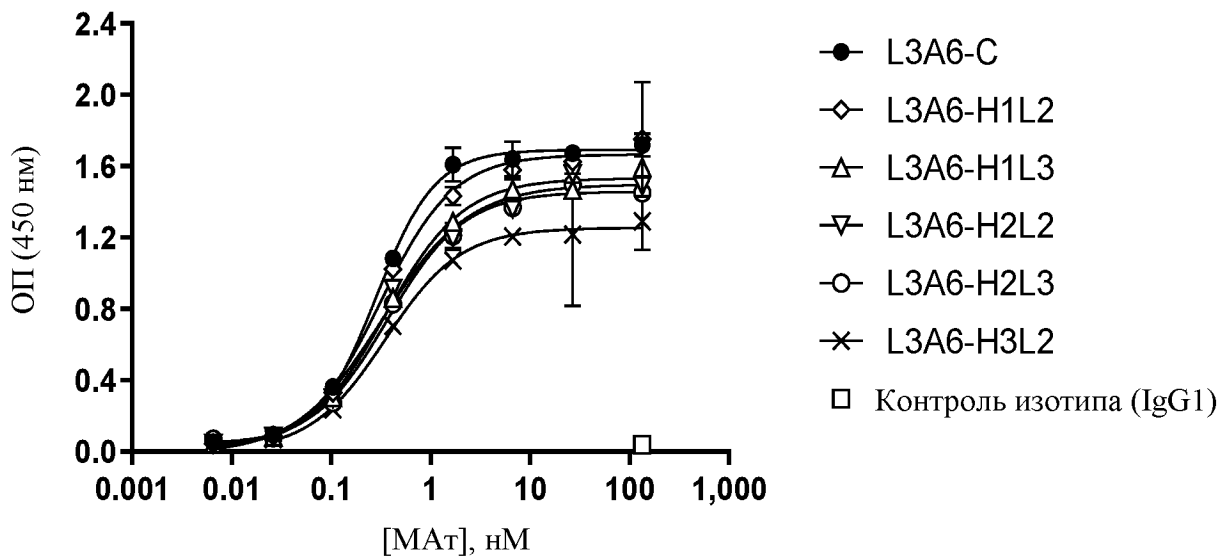


Фиг. 2А

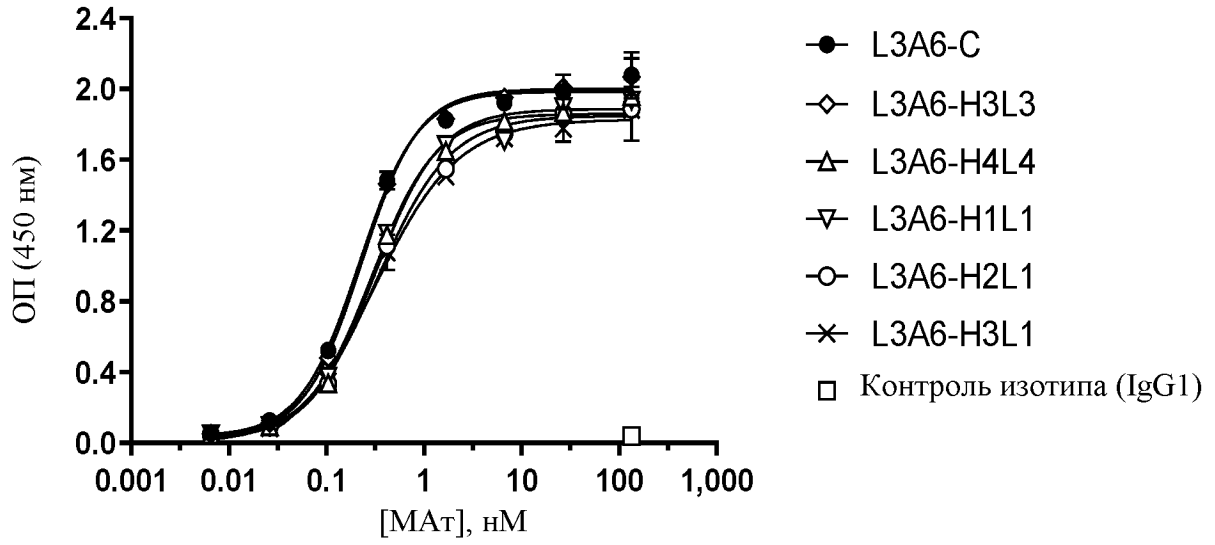




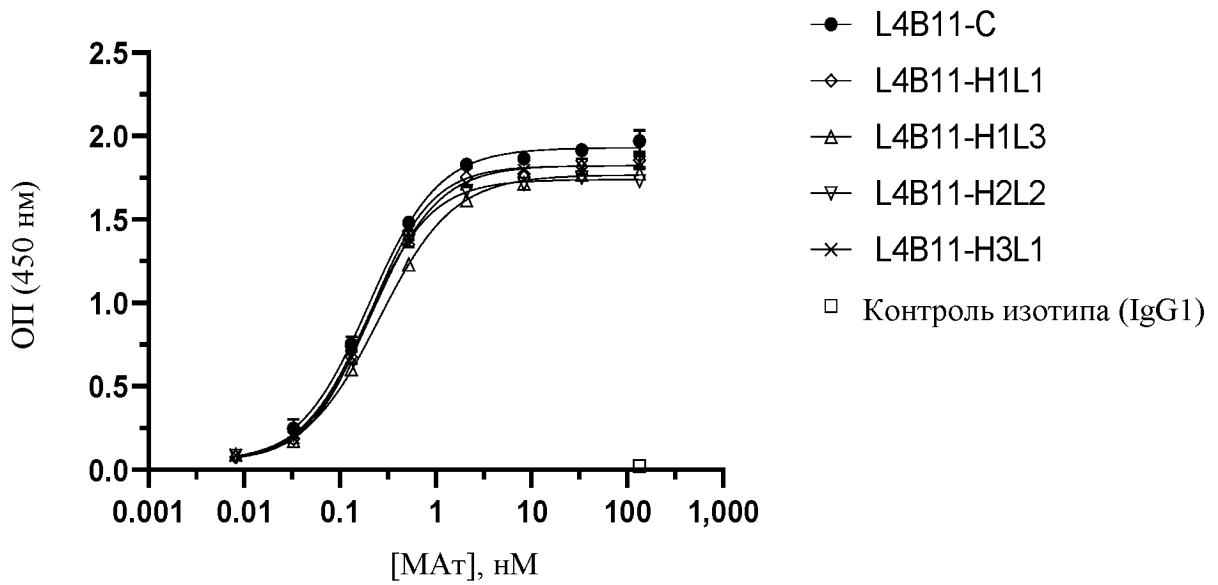
Фиг. 2Б



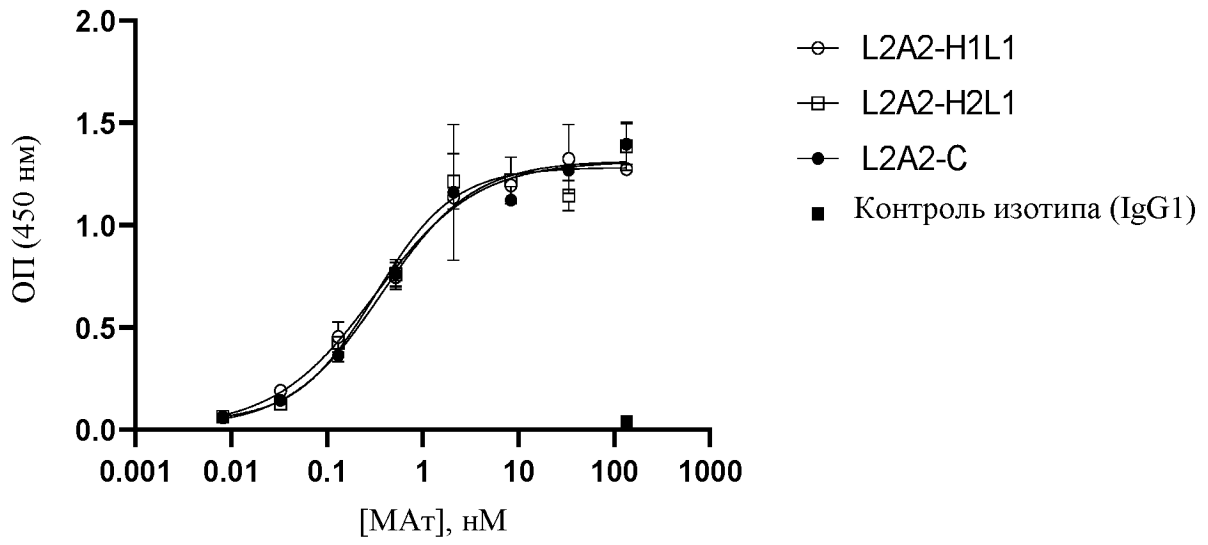
Фиг. 3А



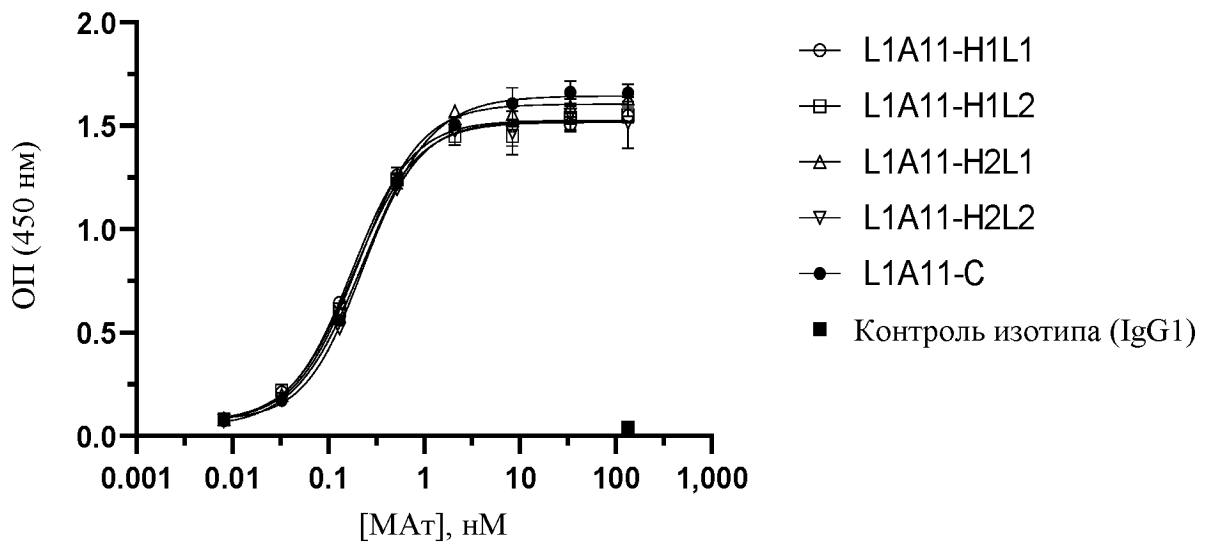
Фиг. 3Б



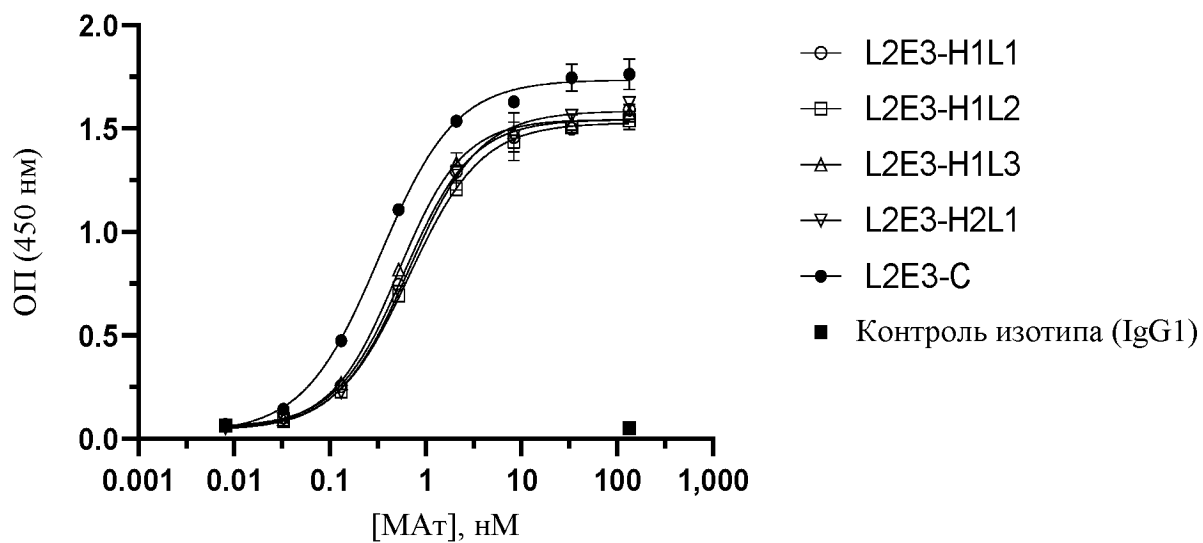
Фиг. 3В



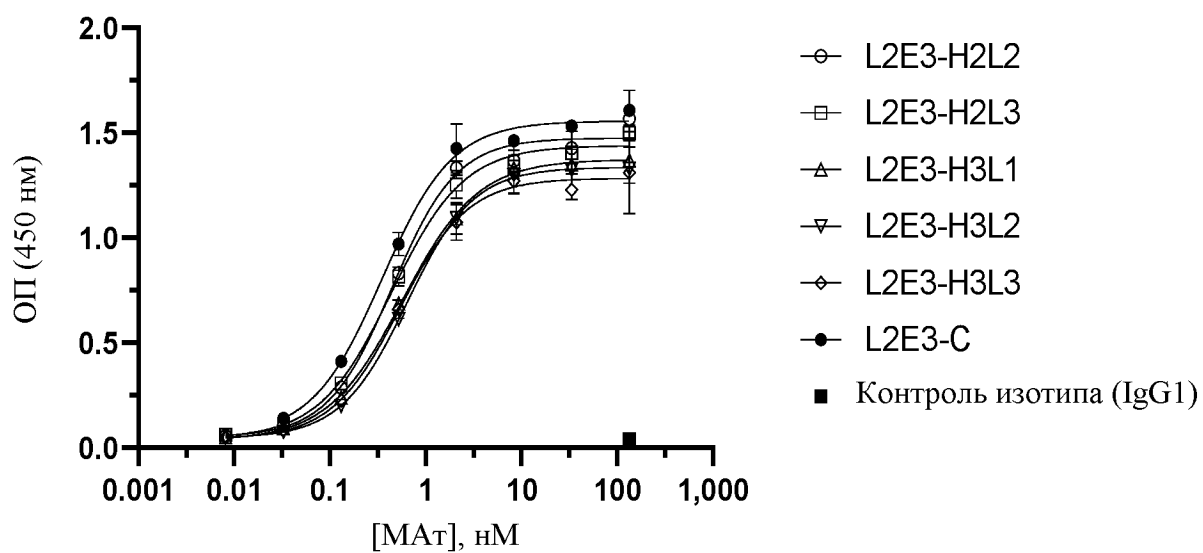
Фиг. 3Г



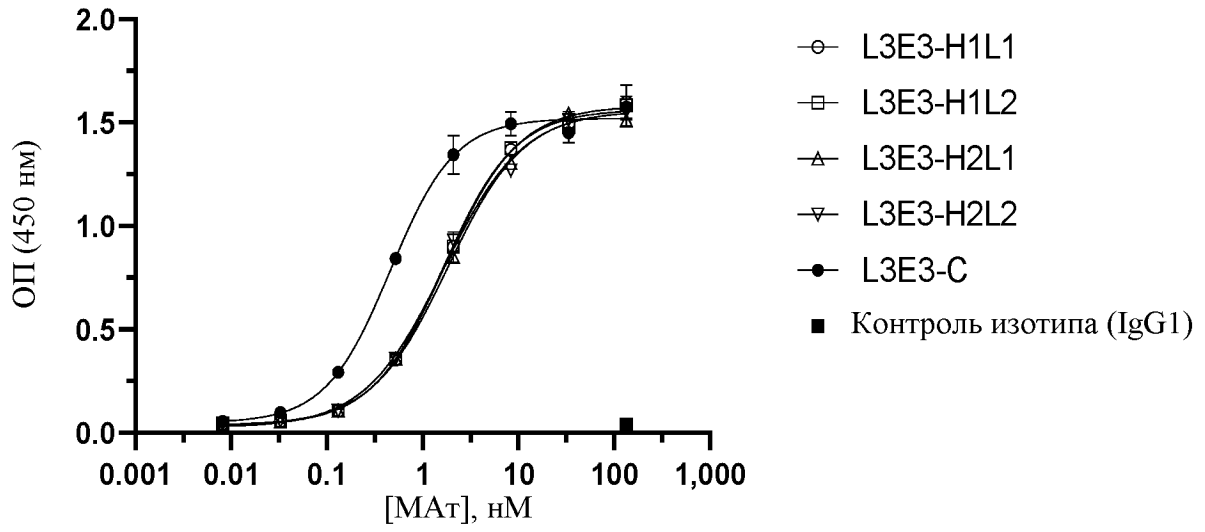
Фиг. 3Д



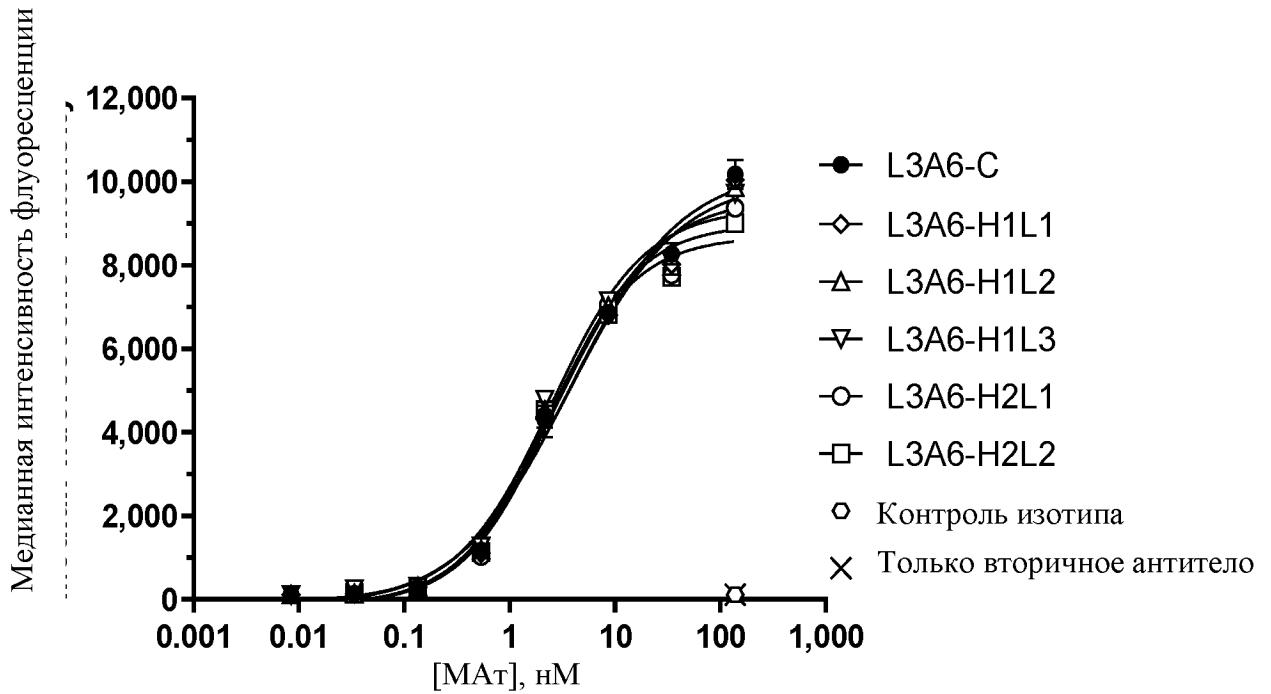
Фиг. 3Е



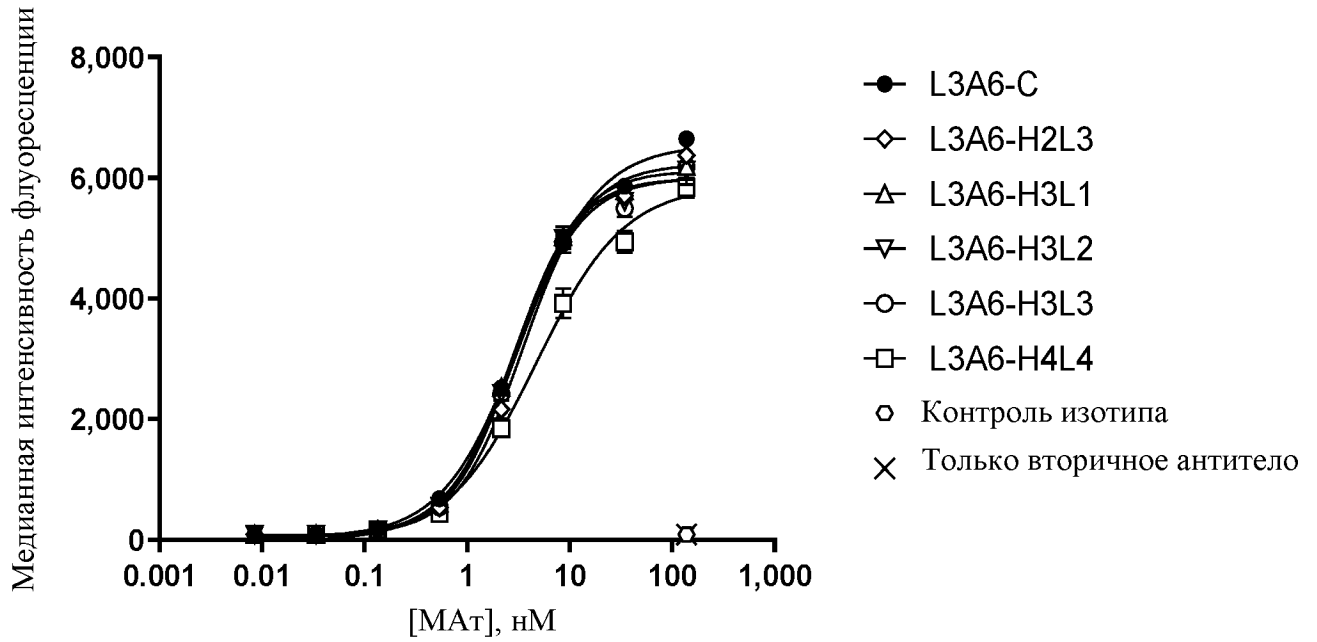
Фиг. 3Ж



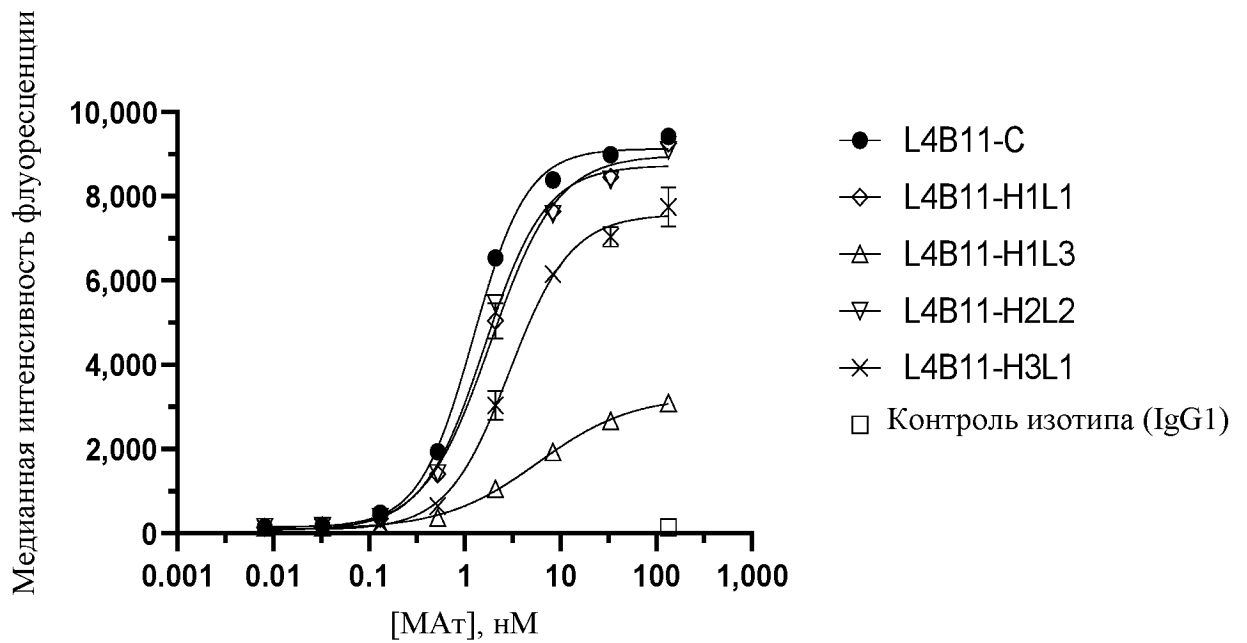
Фиг. 33



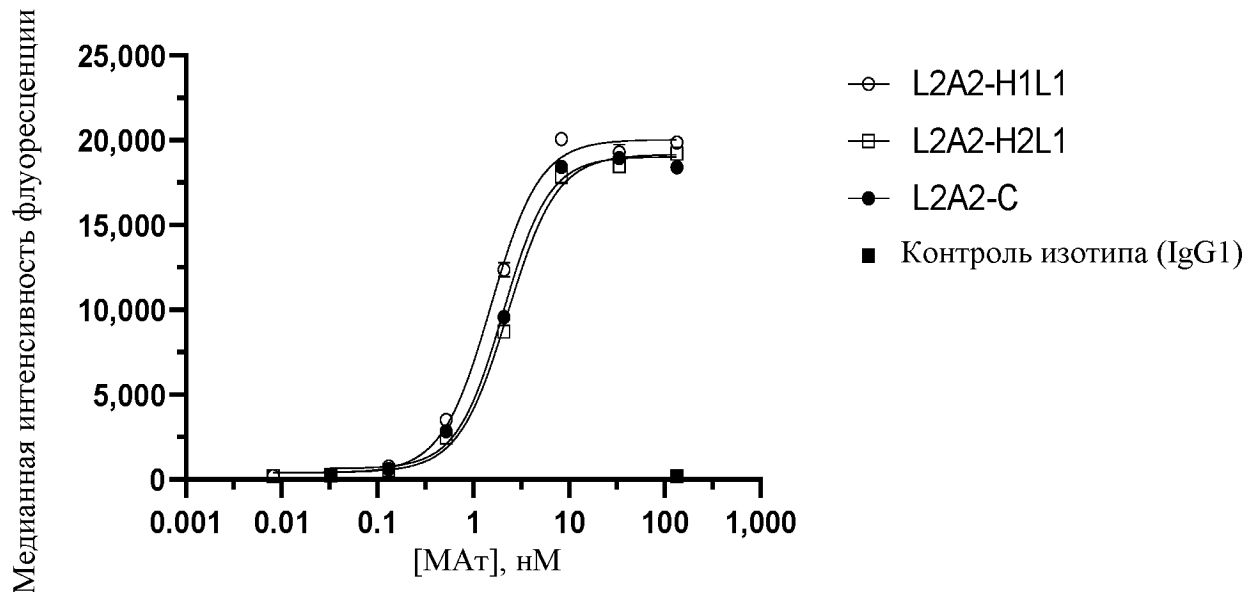
Фиг. 4А



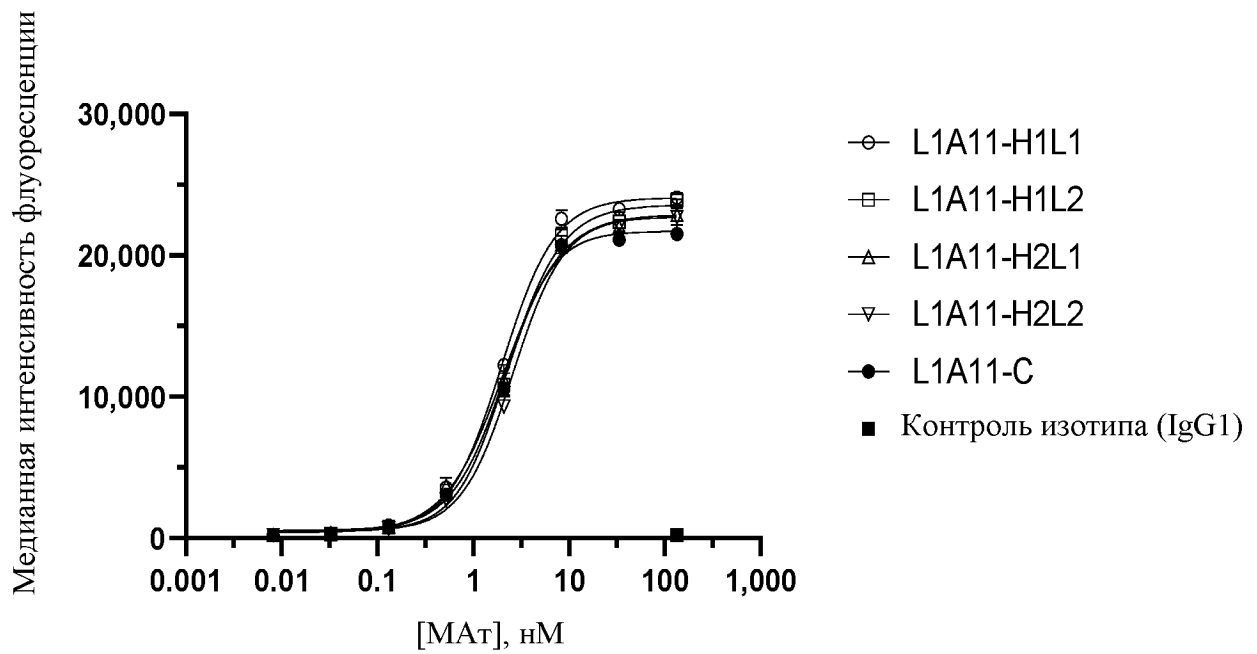
Фиг. 4Б



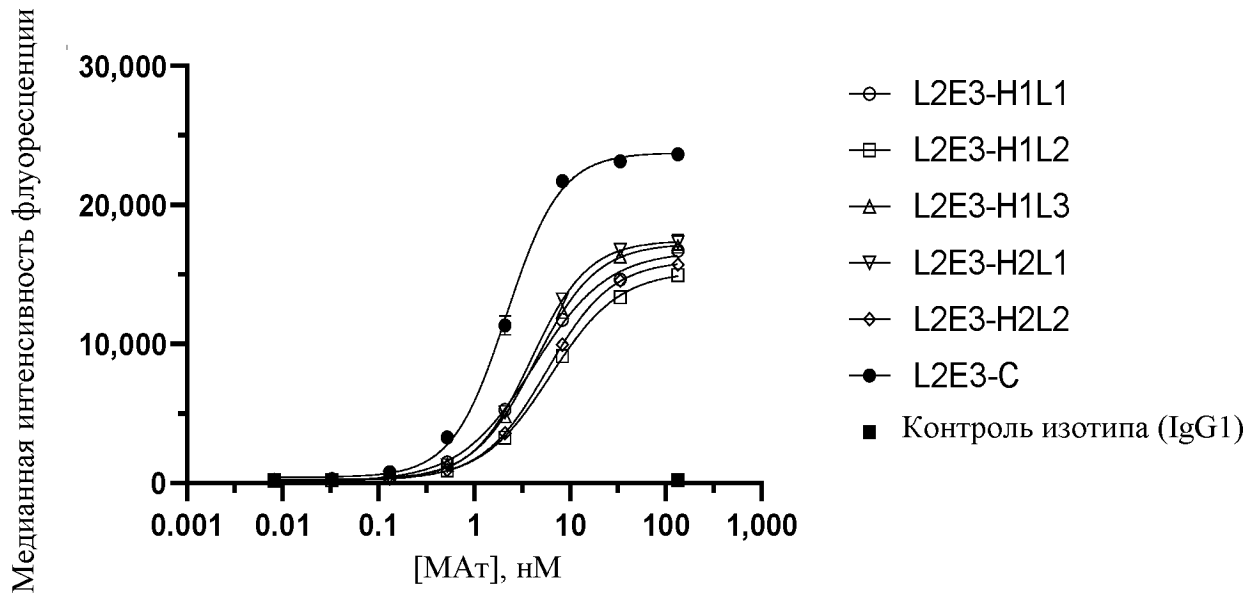
Фиг. 4В



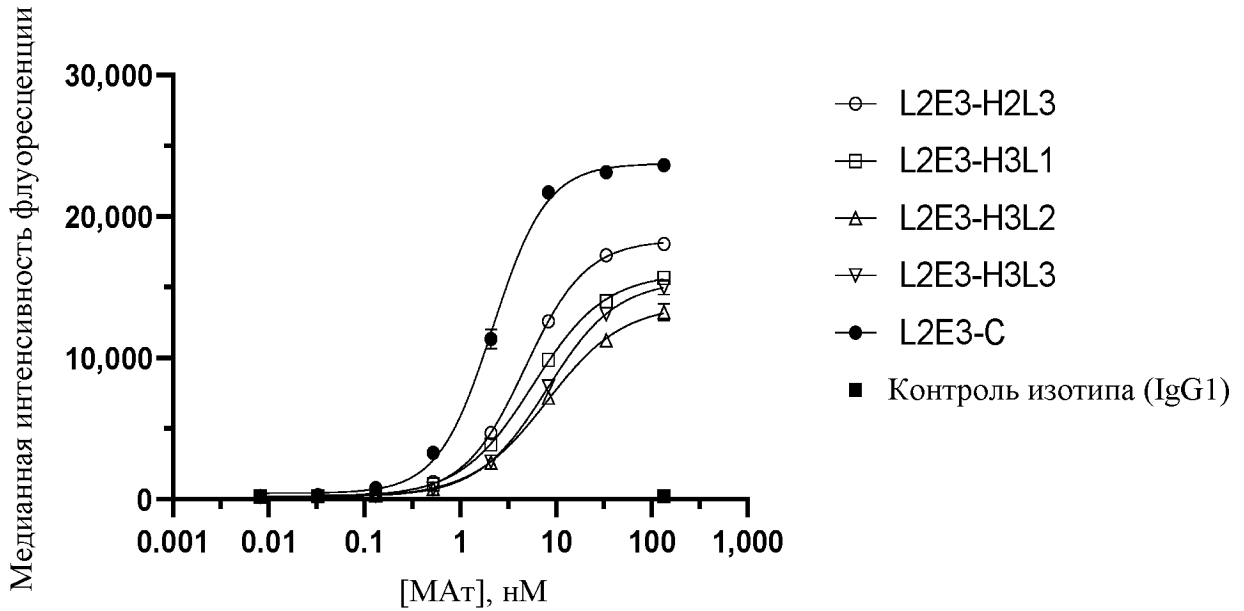
Фиг. 4Г



Фиг. 4Д

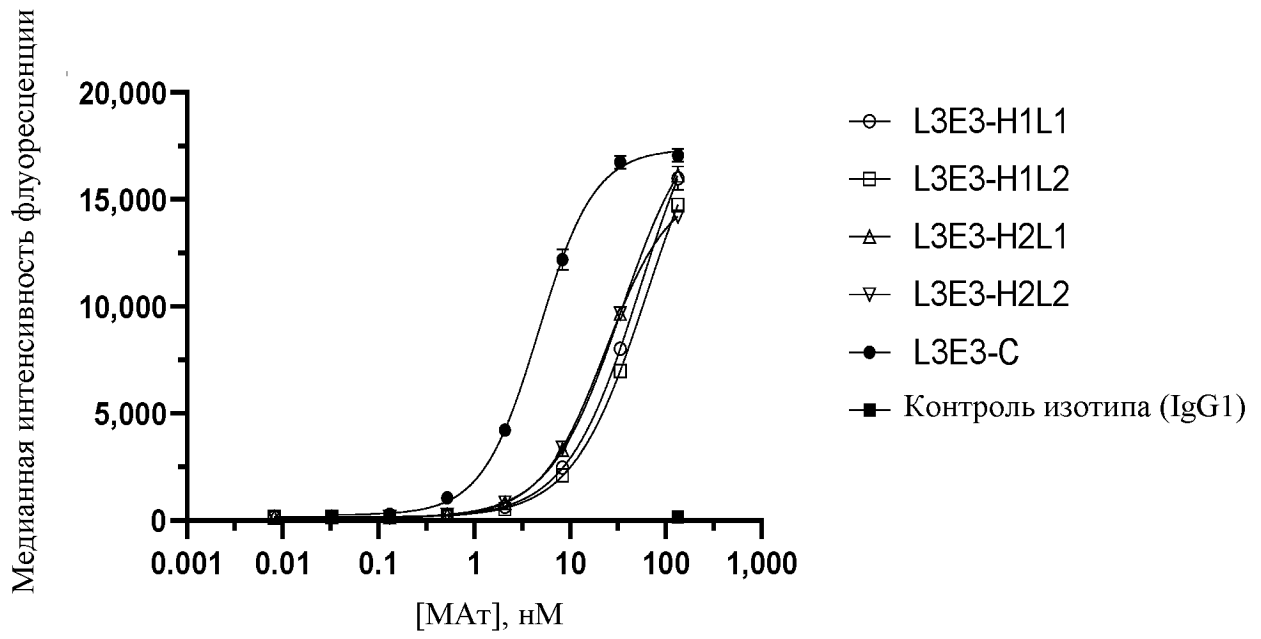


Фиг. 4Е



Фиг. 4Ж





Фиг. 43