

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2018139339, 24.04.2017

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
22.04.2016 GB 1607046.8

(43) Дата публикации заявки: 22.05.2020 Бюл. № 15

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 22.11.2018(86) Заявка РСТ:
EP 2017/059656 (24.04.2017)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2017/182672 (26.10.2017)Адрес для переписки:
197101, Санкт-Петербург, а/я 128, "АРС-
ПАТЕНТ", М.В. Хмара(71) Заявитель(и):
ЭЛЛИГЕЙТОР БИОСАЙЕНС АБ (SE)(72) Автор(ы):
ДАЛЕН Ева (SE),
ЭЛЛМАРК Питер (SE),
ФУРЕБРИНГ Кристина (SE),
НОРЛЕН Пер (SE),
СЕЛЛ Анна (SE),
ШАНЦ Лаура фон (SE),
ВЕЙТОНМЯКИ Ниина (SE),
ПЕТЕРСОН Джессика (SE),
ВАРАС Лаура (SE),
ФРИТЦЕЛЛЬ Сара (SE)

(54) НОВЫЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПОЛИПЕПТИДЫ ПРОТИВ CD137

(57) Формула изобретения

1. Биспецифический полипептид, содержащий первый связывающий домен, обозначенный В1, который способен специфически связываться с CD137, и второй связывающим домен, обозначенный В2, который способен специфически связываться с ассоциированным с опухолевыми клетками антигеном.

2. Полипептид по п. 1, отличающийся тем, что первый и/или второй связывающие домены выбраны/выбран из группы, состоящей из антител и их антигенсвязывающих фрагментов.

3. Полипептид по п. 2, отличающийся тем, что антигенсвязывающий фрагмент выбирают из группы, состоящей из: Fv-фрагментов (таких как одноцепочечный фрагмент Fv или дисульфидно-связанный фрагмент Fv), Fab-подобных фрагментов (таких как фрагмент Fab, фрагмент Fab' или фрагмент F(ab)₂) и доменных антител.

4. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный полипептид представляет собой биспецифическое антитело.

5. Полипептид по п. 4, отличающийся тем, что:

(а) связывающий домен В1 и/или связывающий домен В2 представляет собой интактное IgG-антитело;

(б) связывающий домен В1 и/или связывающий домен В2 представляет собой Fv-фрагмент;

(с) связывающий домен В1 и/или связывающий домен В2 представляет собой Fab-

A
9
3
3
9
3
1
8
1
2
0
1
8
U
R

R U 2 0 1 8 1 3 9 3 3 9

R U 2 0 1 8 1 3 9 3 3 9 A

фрагмент; и/или

(d) связывающий домен В1 и/или связывающий домен В2 представляет собой однодоменное антитело.

6. Полипептид по п. 4 или 5, отличающийся тем, что биспецифическое антитело содержит Fc-участок человека или вариант указанного участка, причем указанный участок представляет собой участок IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, предпочтительно Fc-участок IgG1 или IgG4.

7. Полипептид по п. 6, отличающийся тем, что Fc не имеет или имеет очень низкую афинность к FcgR.

8. Полипептид по п. 6 или 7, отличающийся тем, что Fc-участок представляет собой вариант Fc-участка IgG1 человека, содержащий мутацию в одном или нескольких из следующих положений:

L234, L235, P239, D265, N297 и/или P329.

9. Полипептид по п. 8, отличающийся тем, что аланин присутствует в мутированных позициях.

10. Полипептид по п. 9, отличающийся тем, что указанный Fc-участок представляет собой вариант Fc-участка IgG1 человека, содержащий двойные мутации L234A и L235A.

11. Полипептид по любому из пп. 4-10, отличающийся тем, что указанное биспецифическое антитело выбрано из групп, состоящих из:

(а) бивалентных биспецифических антител, таких как биспецифические антитела IgG-scFv (например, в которых В1 представляет собой интактный IgG, а В2 представляет собой scFv, присоединенный к В1 на N-конце легкой цепи и/или на C-конце легкой цепи и/или на N-конце тяжелой цепи и/или на C-конце тяжелой цепи IgG или наоборот);

(б) моновалентные биспецифические антитела, такие как DuoBody® или биспецифическое антитело «выступ-в-отверстии», например, scFv-KIH, scFv-KIH^r, BiTE-KIH или BiTE-KIH^r;

(с) биспецифические антитела scFv₂-Fc (например, биспецифические антитела ADAPTIR™);

(д) биспецифические антитела BiTE/scFv₂;

(е) биспецифические антитела DVD-Ig или другие биспецифические антитела IgG-FAb, FAb-IgG независимо от используемых бивалентности или линкеров/коннекторов;

(f) биспецифические антитела на основе DART (например, DART₂-Fc, DART₂-Fc или DART);

(g) биспецифические антитела DNL-Fab₃; а также

(h) биспецифические антитела scFv-HSA-scFv.

12. Полипептид по п. 11, отличающийся тем, что указанное биспецифическое антитело представляет собой биспецифическое антитело IgG-scFv.

13. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В1 и связывающий домен В2 слиты непосредственно друг с другом.

14. Полипептид по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что связывающий домен В1 и связывающий домен В2 соединены через полипептидный линкер.

15. Полипептид по п. 14, отличающийся тем, что линкер выбран из группы, состоящей из аминокислотной последовательности SGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 87), SGGGGSGGGGSAP (SEQ ID NO: 88), NFSQP (SEQ ID NO: 89), KRTVA (SEQ ID NO: 90), GGGSGGGG (SEQ ID NO: 91), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 92), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 93), THTCPPCPEPKSSDK (SEQ ID NO: 140), GGGS (SEQ ID NO: 141), EAAKEAAKGGGGS (SEQ ID NO: 142), EAAKEAAK (SEQ ID NO: 143), или (SG)_m, причем m=1-7.

A
3
9
3
3
9
3
1
8
1
2
0
R
U

R
U
2
0
1
8
1
3
9
3
3
9
A

16. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный полипептид не способен индуцировать антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточный фагоцитоз (ADCP) и/или комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC).

17. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный полипептид способен индуцировать опухолевый иммунитет.

18. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный полипептид способен индуцировать:

- (а) активацию цитотоксических Т-клеток, т.е. CD8 + Т-клеток;
- (б) активацию хелперных Т-клеток, т.е. CD4⁺ Т-клеток;
- (с) активацию дендритных клеток; и/или
- (д) активацию естественных клеток-киллеров; и/или
- (е) перепрограммирование Treg в эффекторные Т-клетки.

19. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В1 связывается с CD137 человека с K_D менее 10×10⁻⁹ М, например, менее, чем 4×10⁻⁹ М или менее, чем 1,2×10⁻⁹ М.

20. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В1 содержит:

- (а) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 54, 55 и 79 и/или SEQ ID NO: 46, 65 и 72);
- (б) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1202/1203 (SEQ ID NO: 54, 55 и 80 и/или SEQ ID NO: 60, 66 и 73);
- (с) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1204/1205 (SEQ ID NO: 54, 55 и 81 и/или SEQ ID NO: 61, 67, 74);
- (д) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1214/1215 (SEQ ID NO: 54, 55 и 82 и/или SEQ ID NO: 46, 68 и 75);
- (е) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 54, 55 и 83 и/или SEQ ID NO: 62, 69 и 76);
- (ф) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1620/1621 (SEQ ID NO: 54, 55 и 84 и/или SEQ ID NO: 63, 70 и 77);
- (г) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1626/1627 (SEQ ID NO: 54, 55 и 85 и/или SEQ ID NO: 64, 71 и 78);
- (х) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3012/3013 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 158, 155 и 83);
- (и) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3014/3015 (SEQ ID NO: 62, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 159, 160 и 83);
- (ж) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3016/3017 (SEQ ID NO: 62, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 159, 155 и 83);
- (к) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3018/3019 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 158, 161 и 83);
- (л) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3020/3021 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 162, 163 и 83);
- (м) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3022/3023 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 159, 155 и 83);
- (н) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3024/3025 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 54, 55 и 83);
- (о) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3026/3027 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 162, 165 и 83);
- (п) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3028/3029 (SEQ ID

NO: 157, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 159, 166 и 83);

(q) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3030/3031 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 54, 166 и 83);

(r) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3032/3033 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 54, 55 и 83);

(s) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3034/3035 (SEQ ID NO: 62, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 54, 155 и 83); или

(t) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3036/3037 (SEQ ID NO: 156, 69 и 76 и/или SEQ ID NO: 162, 155 и 83).

21. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен B1 содержит:

(a) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 17);

(b) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1202/1203 (SEQ ID NO: 23 и/или SEQ ID NO: 21);

(c) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1204/1205 (SEQ ID NO: 25 и/или SEQ ID NO: 27);

(d) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1214/1215 (SEQ ID NO: 31 и/или SEQ ID NO: 29);

(e) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 35 и/или SEQ ID NO: 33);

(f) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1620/1621 (SEQ ID NO: 39 и/или SEQ ID NO: 37);

(g) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1626/1627 (SEQ ID NO: 43 и/или SEQ ID NO: 41);

(h) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3012/3013 (SEQ ID NO: 114 и/или SEQ ID NO: 115);

(i) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3014/3015 (SEQ ID NO: 116 и/или SEQ ID NO: 117);

(j) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3016/3017 (SEQ ID NO: 118 и/или SEQ ID NO: 119);

(k) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3018/3019 (SEQ ID NO: 120 и/или SEQ ID NO: 121);

(l) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3020/3021 (SEQ ID NO: 122 и/или SEQ ID NO: 123);

(m) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3022/3023 (SEQ ID NO: 124 и/или SEQ ID NO: 125);

(n) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3024/3025 (SEQ ID NO: 126 и/или SEQ ID NO: 127);

(o) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3026/3027 (SEQ ID NO: 128 и/или SEQ ID NO: 129);

(p) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3028/3029 (SEQ ID NO: 130 и/или SEQ ID NO: 131);

(q) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3030/3031 (SEQ ID NO: 132 и/или SEQ ID NO: 133);

(r) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3032/3033 (SEQ ID NO: 134 и/или SEQ ID NO: 135);

(s) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3034/3035 (SEQ ID NO: 136 и/или SEQ ID NO: 137); или

(t) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи

R U 2 0 1 8 1 3 9 3 3 9 A

антитела 3036/3037 (SEQ ID NO: 138 и/или SEQ ID NO: 139).

22. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В1 содержит:

- (а) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1200/1201;
- (б) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1202/1203;
- (с) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1204/1205;
- (д) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1214/1215;
- (е) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1618/1619;
- (ф) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1620/1621;
- (г) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1626/1627;
- (х) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3012/3013;
- (и) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3014/3015;
- (ж) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3016/3017;
- (к) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3018/3019;
- (л) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3020/3021;
- (м) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3022/3023;
- (н) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3024/3025;
- (о) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3026/3027;
- (р) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3028/3029;
- (q) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3030/3031;
- (r) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3032/3033;
- (s) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3034/3035; или
- (t) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3036/3037.

23. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В1 содержит вариабельный участок легкой цепи и вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 17) или вариант, который имеет более чем 60% или более чем 70%, например,. 75 или 80%, предпочтительно более чем 85%, например, более чем 90 или 95% аминокислотной идентичности к SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 17).

24. Полипептид по любому из пп. 1-22, отличающийся тем, что связывающий домен В1 содержит вариабельный участок легкой цепи и вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 35 и/или SEQ ID NO: 33) или вариант, который имеет более чем 60% или более, чем 70%, например,. 75 или 80%, предпочтительно более чем 85%, например, более чем 90 или 95% аминокислотной идентичности к SEQ ID NO: 35 и/или SEQ ID NO: 33).

25. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В2 связывается с ассоциированным с опухолевой клеткой антигеном, выбранным из группы, состоящей из:

- (а) продуктов мутированных онкогенов и генов-супрессоров опухолей;
- (б) сверхэкспрессированных или аберрантно экспрессированных клеточных белков;
- (с) опухолевых антигенов, продуцируемых онкогенными вирусами;
- (д) онкофетальных антигенов;
- (е) измененных гликолипидов и гликопротеинов поверхности клеток;
- (f) специфических для типов клеток дифференциационных антигенов;
- (g) антигенов, индуцируемых гипоксией;
- (h) опухолевых пептидов, презентированных МНС класса I;
- (i) эпителиальных опухолевых антигенов;
- (j) ассоциированных с гематологическими опухолями антигенов;
- (k) онкоантигенов яичек; а также
- (l) антигенов меланомы.

R
U
20181393339
A

26. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что ассоциированный с опухолевой клеткой антиген выбран из группы, состоящей из 5T4, CD20, CD19, MUC-1, карциноэмбрионального (раково-эмбрионального) антигена (CEA), CA-125, CO17-1A, EpCAM, HER2, EGFR, HER3, GD2, подокаликсина, TROP-2, DLK-1, Ox1R, нектина-4, FAP, EphA2, EphA3, мезотелина, Е-кадгерина, CD24 и VEGFR.

27. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что ассоциированный с опухолевой клеткой антиген представляет собой онкофетальный антиген.

28. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что ассоциированный с опухолевой клеткой антиген представляет собой 5T4.

29. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что опухолевая клетка представляет собой клетку твердой опухоли.

30. Полипептид по п. 29, отличающийся тем, что твердая опухоль выбрана из групп, состоящих из карциномы почек, колоректального рака, рака легкого, рака предстательной железы, рака молочной железы, меланом, рака мочевого пузыря, рака мозга/ЦНС, рака шейки матки, рака пищевода, рака желудка, рака головы/шеи, рака почки, рака печени, лимфом, рака яичников, рака поджелудочной железы и сарком.

31. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В2 связывается с ассоциированным с опухолевыми клетками антигеном с K_D менее, чем 10×10^{-9} М, например менее, чем 4×10^{-9} М или менее $1,2 \times 10^{-9}$ М.

32. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В2 содержит:

(а) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1206/1207 (SEQ ID NO: 54, 55 и 56 и/или SEQ ID NO: 45, 47 и 50);

(б) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1208/1135 (SEQ ID NO: 54, 55 и 57 и/или SEQ ID NO: 46, 48 и 51);

(с) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 54, 55 и 58 и/или SEQ ID NO: 46, 48 и 52);

(д) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 1212/1213 (SEQ ID NO: 54, 55 и 59 и/или SEQ ID NO: 46, 49 и 53);

(е) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 2992/2993 (SEQ ID NO: 144, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 145, 55 и 58);

(ф) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 2994/2995 (SEQ ID NO: 146, 147 и 52 и/или SEQ ID NO: 145, 55 и 58);

(г) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 2996/2997 (SEQ ID NO: 146, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 148, 55 и 58);

(х) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 2998/2999 (SEQ ID NO: 146, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 149, 55 и 58);

(и) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3000/3001 (SEQ ID NO: 150, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 148, 151 и 58);

(ж) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3002/3003 (SEQ ID NO: 152, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 145, 55 и 58);

(к) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3004/3005 (SEQ ID NO: 146, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 153, 55 и 58);

(л) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3006/3007 (SEQ ID NO: 144, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 154, 155 и 58); или

(м) три CDR тяжелой цепи и/или три CDR легкой цепи антитела 3008/3009 (SEQ ID NO: 146, 48 и 52 и/или SEQ ID NO: 154, 55 и 58).

33. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что

связывающий домен В2 содержит:

- (а) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1206/1207 (SEQ ID NO: 3 и/или SEQ ID NO: 1);
- (б) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1208/1135 (SEQ ID NO: 7 и/или SEQ ID NO: 5);
- (с) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 9);
- (д) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 1212/1213 (SEQ ID NO: 15 и/или SEQ ID NO: 13);
- (е) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 2992/2993 (SEQ ID NO: 96 и/или SEQ ID NO: 97);
- (ф) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 2994/2995 (SEQ ID NO: 98 и/или SEQ ID NO: 99);
- (г) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 2996/2997 (SEQ ID NO: 100 и/или SEQ ID NO: 101);
- (х) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 2998/2999 (SEQ ID NO: 102 и/или SEQ ID NO: 103);
- (и) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3000/3001 (SEQ ID NO: 104 и/или SEQ ID NO: 105);
- (ж) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3002/3003 (SEQ ID NO: 106 и/или SEQ ID NO: 107);
- (к) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3004/3005 (SEQ ID NO: 108 и/или SEQ ID NO: 109);
- (л) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3006/3007 (SEQ ID NO: 110 и/или SEQ ID NO: 111); или
- (м) вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи антитела 3008/3009 (SEQ ID NO: 112 и/или SEQ ID NO: 113).

34. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В2 содержит:

- (а) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1206/1207;
- (б) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1208/1135;
- (с) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1210/1211;
- (д) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 1212/1213;
- (е) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 2992/2993;
- (ф) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 2994/2995;
- (г) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 2996/2993;
- (х) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 2998/2999;
- (и) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3000/3001;
- (ж) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3002/3003;
- (к) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3004/3005;
- (л) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3006/3007; или
- (м) тяжелую цепь и/или легкую цепь антитела 3008/3009.

35. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен В2 содержит вариабельный участок легкой цепи и вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1208/1135 (SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 5) или вариант, который имеет более чем 60% или более чем 70%, например,. 75 или 80%, предпочтительно более чем 85%, например, более, чем 90 или 95% аминокислотной идентичности к SEQ ID NO: 7 и/или SEQ ID NO: 5).

36. Полипептид по любому из пп. 1-34, отличающийся тем, что связывающий домен В2 содержит вариабельный участок легкой цепи и вариабельный участок тяжелой цепи

A
9
3
3
3
3
3
1
8
1
2
0
R
U

R
U
2
0
1
8
1
3
9
3
3
3
9
A

антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 9) или вариант, который имеет более чем 60% или более чем 70%, например, 75 или 80%, предпочтительно более чем 85%, например, более чем 90 или 95% аминокислотной идентичности к SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 9).

37. Полипептид по любому из пп. 1-34, отличающийся тем, что связывающий домен B2 содержит вариабельный участок легкой цепи и вариабельный участок тяжелой цепи антитела 2992/2993 (SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 97) или вариант, который имеет более чем 60% или более чем 70%, например, 75 или 80%, предпочтительно более чем 85%, например, более чем 90 или 95% аминокислотной идентичности к SEQ ID NO: 96 и/или SEQ ID NO: 97).

38. Полипептид по любому из пп. 1-34, отличающийся тем, что связывающий домен B2 содержит вариабельный участок легкой цепи и вариабельный участок тяжелой цепи антитела 2994/2995 (SEQ ID NO: 98 и SEQ ID NO: 99) или вариант, который имеет более чем 60% или более чем 70%, например, 75 или 80%, предпочтительно более чем 85%, например, более чем 90 или 95% аминокислотной идентичности к SEQ ID NO: 98 и/или SEQ ID NO: 99).

39. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что связывающий домен B1 представляет собой IgG, а связывающий домен B2 представляет собой scFv.

40. Полипептид по любому из пп. 1-38, отличающийся тем, что связывающий домен B1 представляет собой scFv, а связывающий домен B2 представляет собой IgG.

41. Полипептид по любому из пп. 1-38, отличающийся тем, что связывающий домен B1 представляет собой scFv и связывающий домен B2 представляет собой scFv (например, в формате scFv₂₋ Fc).

42. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что:

(а) B1 содержит три CDR легкой цепи и/или три CDR тяжелой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 54, 55 и 79 и/или SEQ ID NO: 46, 65 и 72), а B2 содержит три CDR легкой цепи и/или три CDR тяжелой цепи антитела 1208/1135 (SEQ ID NO: 54, 55 и 57 и/или SEQ ID NO: 46, 48 и 51);

(б) B1 содержит три CDR легкой цепи и/или три CDR тяжелой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 54, 55 и 79 и/или SEQ ID NO: 46, 65 и 72), а B2 содержит три CDR легкой цепи и/или трех CDR тяжелой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 54, 55 и 58 и/или SEQ ID NO: 46, 48 и 52);

(с) B1 содержит три CDR легкой цепи и/или три CDR тяжелой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 54, 55 и 83 и/или SEQ ID NO: 62, 69 и 76), а B2 содержит три CDR легкой цепи и/или три CDR тяжелой цепи антитела 1208/1135 (SEQ ID NO: 54, 55 и 57 и/или SEQ ID NO: 46, 48 и 51); или

(д) B1 содержит три CDR легкой цепи и/или три CDR тяжелой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 54, 55 и 83 и/или SEQ ID NO: 62, 69 и 76), а B2 содержит три CDR легкой цепи и/или три CDR тяжелой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 54, 55 и 58 и/или SEQ ID NO: 46, 48 и 52).

43. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что:

(а) B1 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 17), а B2 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1208/1135 (SEQ ID NO: 7 и/или SEQ ID NO: 5);

(б) B1 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 17), а B2 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 9);

(с) В1 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 35 и/или SEQ ID NO: 33), а В2 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1208/1135 (SEQ ID NO: 7 и/или SEQ ID NO: 5); или

(д) В1 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 35 и/или SEQ ID NO: 33), а В2 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 9); или

(е) В1 и/или В2 содержат варианты указанных вариабельных участков легкой цепи и/или указанных вариабельных участков тяжелой цепи, имеющие по меньшей мере 90% идентичности последовательности кроме того.

44. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что В1 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1200/1201 (SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 17), а В2 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 9) или варианты указанных вариабельных участков легкой цепи и/или указанных вариабельных участков тяжелой цепи (например, имеющие по меньшей мере 90% идентичности последовательности, кроме того) или наоборот.

45. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что В1 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1618/1619 (SEQ ID NO: 35 и/или SEQ ID NO: 33), а В2 содержит вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи антитела 1210/1211 (SEQ ID NO: 11 и/или SEQ ID NO: 9) или варианты указанных вариабельных участков легкой цепи и/или указанных вариабельных участков тяжелой цепи (например, имеющих по меньшей мере 90% идентичности последовательности, кроме того) или наоборот.

46. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий константный участок тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 94 или 96 и/или константный участок легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 95.

47. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что указанный полипептид содержит по меньшей мере одно из следующего:

(а) Fc-участок, содержащий мутации "LALA";

(б) scFv, содержащий мутации в вариабельных участках тяжелой и легкой цепей на остатки цистеина, способные образовывать дисульфидный мостик; и/или

(с) scFv, содержащий мутацию в вариабельном участке тяжелой цепи для создания одного или нескольких сайтов N-гликозилирования.

48. Полипептид по любому из предшествующих пунктов, содержащий

(а) связывающий домен (В1), содержащий вариабельный участок тяжелой цепи по любой из SEQ ID NO: 17, 21, 27, 29, 33, 37, 41, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136 или 138, и вариабельный участок легкой цепи по любой из SEQ ID NO: 19, 23, 25, 31, 35, 39, 43, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135 или 139;

(б) константный участок тяжелой цепи, содержащий Fc-участок (например, SEQ ID NO: 94 или 96);

(с) связывающий домен (В2), содержащий вариабельный участок тяжелой цепи по любой из SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110 или 112, и вариабельный участок легкой цепи по любой из SEQ ID NO: 3, 7, 11, 15, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111 или 113; а также

(д) необязательно, константный участок легкой цепи (например, SEQ ID NO: 95).

A
3 3 9 3 3 9
2 0 1 8 1 3 9 3 3 9
R U

R U
2 0 1 8 1 3 9 3 3 9
A

49. Изолированная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая биспецифический полипептид по любому из предшествующих пунктов, или его составную/компонентную полипептидную цепь.

50. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 49, отличающаяся тем, что указанная молекула представляет собой молекулу кДНК.

51. Молекула нуклеиновой кислоты по п. 49 или п. 50, кодирующая тяжелую цепь антитела или ее вариабельный участок.

52. Молекула нуклеиновой кислоты по любому из пп. 49-51, кодирующая легкую цепь антитела или ее вариабельный участок.

53. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 49-52.

п. 53, отличающийся тем, что указанный вектор представляет собой экспрессионный вектор.

54. Вектор по п. 53, отличающийся тем, что указанный вектор представляет собой экспрессионный вектор.

55. Рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп. 49-52 или вектор по п. 53 или п. 54.

56. Клетка-хозяин по п. 55, отличающаяся тем, что указанная клетка-хозяин представляет собой бактериальную клетку.

57. Клетка-хозяин по п. 55, отличающаяся тем, что указанная клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего.

58. Клетка-хозяин по п. 55, отличающаяся тем, что указанная клетка-хозяин представляет собой клетку человека.

59. Способ получения биспецифического полипептида по любому из пп. 1-48, включающий культивирование клетки-хозяина, как определено в любом из пп. 55-58, в условиях, которые позволяют экспрессию биспецифического полипептида или его составной/компонентной полипептидной цепи.

60. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество биспецифического полипептида, по любому из пп. 1-48 и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или эксципиент.

61. Фармацевтическая композиция по п. 60, адаптированная для парентеральной доставки.

62. Фармацевтическая композиция по п. 60, адаптированная для внутривенной доставки.

63. Биспецифический полипептид по любому из пп. 1-48 для использования в медицине.

64. Биспецифический полипептид по любому из пп. 1-48 для использования при лечении или предотвращении неопластического расстройства у субъекта.

65. Полипептид по п. 64, отличающийся тем, что неопластическое расстройство связано с образованием твердых опухолей в теле субъекта.

66. Полипептид по п. 65, отличающийся тем, что твердая опухоль выбрана из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака молочной железы, рака легкого, колоректального рака, меланомы, рака мочевого пузыря, рака мозга/ЦНС, рака шейки матки, рака пищевода, рака желудка, рака головы/шеи, рака почки, рака печени, лимфомы, рака яичников, рака поджелудочной железы и сарком.

67. Полипептид по п. 66, отличающийся тем, что твердая опухоль выбрана из групп, состоящих из карциномы почек, колоректального рака, рака легких, рака предстательной железы и рака молочной железы.

68. Полипептид для применения по любому из пп. 64-67, отличающийся тем, что указанный полипептид предназначен для использования в комбинации с одним или большим количеством дополнительных терапевтических агентов.

69. Полипептид для применения по п. 68, отличающегося тем, что один или несколько

дополнительных терапевтических агентов представляет/представляют собой иммунотерапевтический агент, который связывает мишень, выбранную из группы, состоящей из PD-1/PD-1L, CTLA-4, OX40, CD40, GITR, LAG3, TIM3, CD27 и KIR.

70. Применение биспецифического полипептида по любому из пп. 1-46 при приготовлении лекарственного средства для лечения или профилактики неопластического расстройства у субъекта.

71. Применение по п. 70, отличающееся тем, что неопластическое расстройство связано с образованием твердых опухолей в теле субъекта.

72. Применение по п. 71, отличающееся тем, что твердая опухоль выбрана из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака молочной железы, рака легкого, колоректального рака, меланом, рака мочевого пузыря, рака головного мозга/ЦНС, рака шейки матки, рака пищевода, рака желудка, рака головы/шеи, рака почки, рака печени, лимфом, рака яичников, рака поджелудочной железы и сарком.

73. Применение по п. 72, отличающийся тем, что твердую опухоль выбирают из групп, состоящих из карциномы почек, колоректального рака, рака легких, рака предстательной железы и рака молочной железы.

74. Применение по любому из пп. 70-73, отличающееся тем, что полипептид предназначен для использования в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами.

75. Применение по п. 74, отличающееся тем, что один или несколько дополнительных терапевтических агентов представляет/представляют собой иммунотерапевтический агент, который связывает мишень, выбранную из группы, состоящей из PD-1/PD-1L, CTLA-4, OX40, CD40, GITR, LAG3, TIM3, CD27 и KIR.

76. Способ лечения или диагностики неопластического расстройства у субъекта, включающий стадию введения субъекту эффективного количества биспецифического полипептида по любому из пп. 1-48.

77. Способ по п. 76, отличающийся тем, что неопластическое расстройство связано с образованием твердых опухолей в теле субъекта.

78. Способ по п. 77, отличающийся тем, что указанную твердую опухоль выбирают из группы, состоящей из рака предстательной железы, рака молочной железы, рака легких, колоректального рака, меланом, рака мочевого пузыря, рака головного мозга/ЦНС, рака шейки матки, рака пищевода, рака желудка, рака головы/шеи, рака почки, рака печени, лимфом, рака яичников, рака поджелудочной железы и сарком.

79. Способ по п. 78, в котором твердую опухоль выбирают из групп, состоящих из карциномы почек, колоректального рака, рака легких, рака предстательной железы и рака молочной железы.

80. Способ по любому из пп. 76-79, в котором субъект является человеком.

81. Способ по любому из пп. 76-80, в котором указанный способ включает введение указанного биспецифического антитела системно.

82. Способ по любому из пп. 76-81, дополнительно включающий введение субъекту одного или нескольких дополнительных терапевтических агентов.

83. Способ по любому из пп. 76-82, в котором один или несколько дополнительных терапевтических агентов представляет/представляют собой иммунотерапевтическое средство, которое связывает мишень, выбранную из группы, состоящей из PD-1/PD-1L, CTLA4 OX40, CD40, GITR, LAG3, TIM3, CD27 и KIR.