



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2011138154/10, 17.02.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
18.02.2009 US 12/388,504

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2013 Бюл. № 9

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 19.09.2011(86) Заявка РСТ:  
US 2010/024407 (17.02.2010)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2010/096434 (26.08.2010)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3, ООО  
"Юридическая фирма Городиский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**ЛЮДВИГ ИНСТИТЬЮТ ФОР КЭНСЕР  
РИСЕРЧ ЛТД. (СН)**

(72) Автор(ы):

**ОЛД Ллойд Дж. (US),  
ДЖОНС Терранс Грант (AU),  
ПАНОУСИС Кон (AU),  
СКОТТ Эндрю Марк (AU),  
РЕННЕР Кристоф (DE),  
РИТТЕР Герд (US),  
ЮНГБЛУТ Ахим (US),  
ШТОККЕРТ Элизабет (AT),  
КОЛЛИНЗ Питер (GB),  
КЕЙВИНИ Уэбстер К. (US),  
ХУАН Хуэй-Дзен Су (US),  
БЕРДЖЕСС Энтони Уилкс (AU),  
НАЙС Эдуард Коллинз (AU),  
МЮРРЭЙ Энн (US),  
МАРК Джордж (US)****(54) БЕЛКИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ****(57) Формула изобретения**

1. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело не связывается с соединительным пептидом de2-7 EGFR, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, причем указанное антитело связывается с эпитопом внутри последовательности из остатков 287-302 (SEQ ID NO: 14) EGFR дикого типа человека, и причем указанное антитело не включает последовательность вариабельной области тяжелой цепи, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2, и не включает последовательность вариабельной области легкой цепи, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4.

2. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 42, а легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47.

3. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, при

этом тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 129, а легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 134.

4. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22, а легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 27.

5. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32, а легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 37.

6. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 44, 45 и 46.

7. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 49, 50 и 51.

8. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 130, 131 и 132.

9. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 135, 136 и 137.

10. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 23, 24 и 25.

11. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 28, 29 и 30.

12. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 33, 34 и 35.

13. Выделенное антитело по п.1, которое включает тяжелую цепь и легкую цепь, где переменная область легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 38, 39 и 40.

14. Выделенное антитело по п.1, которое является формой антитела F(ab')<sub>2</sub>, scFv-фрагментом, диателом, триателом или тетрателом.

15. Выделенное антитело по п.1, дополнительно включающее обнаруживаемую или

A  
4  
5  
1  
8  
1  
1  
1  
2  
0  
1  
1  
3  
8  
1  
5  
4  
A  
R  
U

R  
U  
2  
0  
1  
1  
1  
3  
8  
1  
5  
4  
A

функциональную метку.

16. Выделенное антитело по п.15, в случае которого указанной обнаруживаемой или функциональной меткой является ковалентно присоединенное лекарственное средство.

17. Выделенное антитело по п.15, в случае которого указанной меткой является радиоактивная метка.

18. Выделенное антитело по п.1, которое является ПЭГилированным.

19. Выделенная нуклеиновая кислота, которая включает последовательность, кодирующую выделенное антитело по п.1.

20. Способ получения выделенного антитела по п.1, включающий экспрессию нуклеиновой кислоты в условиях, которые приводят к экспрессии указанного антитела, и извлечение указанного антитела.

21. Способ лечения опухоли у являющегося человеком пациента, который включает введение указанному пациенту эффективного количества выделенного антитела по п.1.

22. Набор для диагностирования опухоли, в которой EGFR аберрантно экспрессирован или в которой EGFR экспрессирован в форме усеченного белка, включающий выделенное антитело по п.1.

23. Набор для диагностирования опухоли, в которой EGFR аберрантно экспрессирован или в которой EGFR экспрессирован в форме усеченного белка, по п.22, который дополнительно включает реагенты и/или инструкции в отношении использования.

24. Фармацевтическая композиция, включающая выделенное антитело по п.1.

25. Фармацевтическая композиция по п.24, которая, кроме того, включает фармацевтически приемлемый наполнитель, носитель или разбавитель.

26. Фармацевтическая композиция по п.24, которая, кроме того, включает противоопухолевое средство, выбираемое из группы, состоящей из химиотерапевтических средств, антител против EGFR, радиоиммунотерапевтических средств и их комбинаций.

27. Фармацевтическая композиция по п.26, в которой указанные химиотерапевтические средства выбирают из группы, состоящей из ингибиторов тирозинкиназы, ингибиторов каскада реакций фосфорилирования, модуляторов посттрансляционной модификации, ингибиторов роста или деления клеток (например, антимиотических средств), ингибиторов передачи сигналов и их комбинаций.

28. Фармацевтическая композиция по п.27, в которой указанные ингибиторы тирозинкиназы выбирают из группы, состоящей из AG1478, ZD1839, STI571, OSI-774, SU-6668 и их комбинаций.

29. Фармацевтическая композиция по п.26, в которой указанные антитела против EGFR выбирают из группы, состоящей из антител против EGFR 528, 225, SC-03, DR8.3, L8A4, Y10, ICR62, ABX-EGF и их комбинаций.

30. Способ предотвращения и/или лечения рака у млекопитающих, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п.24.

31. Способ лечения присущих головному мозгу раков, которые продуцируют аберрантно экспрессированный EGFR, у млекопитающих, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п.24.

32. Способ лечения присущих головному мозгу раков, которые продуцируют аберрантно экспрессированный EGFR, у млекопитающих по п.30, где указанные присущие головному мозгу раки выбирают из группы, состоящей из глиобластом, медуллобластом, менингиом, неопластических астроцитом и неопластических артериовенозных мальформаций.

33. Одноклеточный хозяин, трансформированный рекомбинантной молекулой ДНК, которая кодирует выделенное антитело по п.1.

34. Одноклеточный хозяин, трансформированный рекомбинантной молекулой ДНК, которая кодирует выделенное антитело по п.1, где одноклеточного хозяина выбирают из группы, состоящей из *E. coli*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, дрожжей, клеток CHO, YB/20, NSO, SP2/0, R1.1, B-W, L-M, COS 1, COS 7, BSC1, BSC40 и BMT10, клеток растений, клеток насекомых и клеток человека в культуре ткани.

35. Способ обнаружения присутствия увеличенного в числе в результате амплификации гена EGFR, de2-7EGFR или EGFR, гликозированного в результате присоединения большого числа остатков маннозы, в котором указанный EGFR измеряют посредством (а) приведения биологического образца от млекопитающего, в котором предполагается присутствие увеличенного в числе в результате амплификации гена EGFR, de2-7EGFR или EGFR, гликозированного в результате присоединения большого числа остатков маннозы, в контакт с выделенным антителом по п.1 в условиях, допускающих возникновение связывания указанного EGFR с указанным выделенным антителом; и (b) обнаружения, произошло ли связывание между указанным EGFR из указанного образца и указанным выделенным антителом; причем обнаружение связывания служит признаком присутствия или активности указанного EGFR в указанном образце.

36. Способ выявления рака у млекопитающих, включающий обнаружение присутствия или активности EGFR в соответствии со способом по п.35, в котором обнаружение присутствия EGFR служит признаком наличия опухоли или рака у млекопитающего.

37. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом указанная тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 42, а указанная легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 47.

38. Выделенное антитело по п.37, где указанная тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 42, а указанная легкая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 47.

39. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом вариabельная область указанной тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 44, 45 и 46, а вариabельная область указанной легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 49, 50 и 51.

40. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности клеток опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности клеток опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело

включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом указанная тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 129, а указанная легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 134.

41. Выделенное антитело по п.40, где указанная тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 129, а указанная легкая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 134.

42. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом переменная область указанной тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, а переменная область указанной легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 135, 136 и 137.

43. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом указанная тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 22, а указанная легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 27.

44. Выделенное антитело по п.43, где указанная тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 22, а указанная легкая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 27.

45. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом переменная область указанной тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 23, 24 и 25, а переменная область указанной легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 28, 29 и 30.

46. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом указанная тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной

RU 2011138154 A

RU 2011138154 A

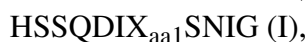
последовательности, представленной в SEQ ID NO: 32, а указанная легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, которая в значительной степени гомологична аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 37.

47. Выделенное антитело по п.46, где указанная тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 32, а указанная легкая цепь включает аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 37.

48. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, при этом переменная область указанной тяжелой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 33, 34 и 35, а переменная область указанной легкой цепи включает участки связывающего полипептид домена, имеющие аминокислотные последовательности, в высокой степени гомологичные аминокислотным последовательностям, представленным в SEQ ID NO: 38, 39 и 40.

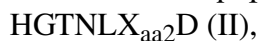
49. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело не связывается с соединительным пептидом de2-7 EGFR, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, причем указанное антитело связывается с эпитопом внутри последовательности из остатков 287-302 (SEQ ID NO: 14) EGFR человека дикого типа,

при этом указанное антитело включает тяжелую цепь и легкую цепь, причем переменная область указанной легкой цепи включает первый участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной формулой I:



где  $X_{\text{aa1}}$  является остатком аминокислоты, имеющей незаряженную полярную группу R;

второй участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной формулой II:



где  $X_{\text{aa2}}$  является остатком аминокислоты, имеющей заряженную полярную группу R;

и третий участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной формулой III:



где  $X_{\text{aa3}}$  выбирают из группы, состоящей из A, G и аминокислотного остатка, являющегося консервативной заменой A или G; а

переменная область указанной тяжелой цепи включает первый участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной формулой IV:

SDX<sub>aa4</sub>AWN (IV),

где X<sub>aa4</sub> выбирают из группы, состоящей из F, Y и аминокислотного остатка, являющегося консервативной заменой F или Y;

второй участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной формулой V, формулой VI или формулой VII:

YISYSGNTRYX<sub>aa5</sub>PSLKS (V),

где X<sub>aa5</sub> является остатком аминокислоты, имеющей незаряженную полярную группу R,

YISYSX<sub>aa6</sub>NTRYNPSLKS (VI),

где X<sub>aa6</sub> выбирают из группы, состоящей из G, A и аминокислотного остатка, являющегося консервативной заменой G или A,

YISYSGNTRYNPSLX<sub>aa7</sub>S (VII),

где X<sub>aa7</sub> является остатком основной аминокислоты; и

третий участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной формулой VIII:

X<sub>aa8</sub>TAGRGFPY (VIII),

где X<sub>aa8</sub> выбирают из группы, состоящей из V, A и аминокислотного остатка, являющегося консервативной заменой V или A,

и причем указанное антитело не включает последовательность вариабельной области тяжелой цепи, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 2, и не включает последовательность вариабельной области легкой цепи, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной в SEQ ID NO: 4.

50. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa1</sub> является N; X<sub>aa2</sub> является D; X<sub>aa3</sub> является A; X<sub>aa4</sub> является F; X<sub>aa5</sub> является остатком аминокислоты, имеющей незаряженную полярную группу R; X<sub>aa6</sub> является G; X<sub>aa7</sub> является K; и X<sub>aa8</sub> является V.

51. Выделенное антитело по п.50, в котором X<sub>aa5</sub> является N или Q.

52. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa1</sub> является N или S.

53. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa2</sub> является D или E.

54. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa3</sub> является A или G.

55. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa4</sub> является F или Y.

56. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa5</sub> является N или Q.

57. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa6</sub> является G или A, а X<sub>aa7</sub> независимо представляет собой K или R.

58. Выделенное антитело по п.49, в котором X<sub>aa8</sub> является V или A.

59. Выделенное антитело по п.49, которое является формой антитела F(ab')<sub>2</sub>, scFv-фрагментом, диателом, триателом или тетрателом.

60. Выделенное антитело по п.49, дополнительно включающее обнаруживаемую или функциональную метку.

61. Выделенное антитело по п.60, где указанной обнаруживаемой или функциональной меткой является ковалентно присоединенное лекарственное средство.

62. Выделенное антитело по п.60, где указанной меткой является радиоактивная метка.

RU 2011138154 A

RU 2011138154 A

63. Выделенное антитело по п.49, которое является ПЭГилированным.
64. Выделенная нуклеиновая кислота, которая включает последовательность, кодирующую выделенное антитело по п.49.
65. Способ получения выделенного антитела по п.49, включающий экспрессию нуклеиновой кислоты в условиях, которые приводят к экспрессии указанного антитела, и извлечение указанного антитела.
66. Способ лечения опухоли у являющегося человеком пациента, который включает введение указанному пациенту эффективного количества выделенного антитела по п.49.
67. Набор для диагностирования опухоли, в которой EGFR аберрантно экспрессирован или в которой EGFR экспрессирован в форме усеченного белка, включающий выделенное антитело по п.49.
68. Набор для диагностирования опухоли, в которой EGFR аберрантно экспрессирован или в которой EGFR экспрессирован в форме усеченного белка, по п.67, который дополнительно включает реагенты и/или инструкции в отношении использования.
69. Фармацевтическая композиция, включающая выделенное антитело по п.49.
70. Фармацевтическая композиция по п.69, которая дополнительно включает фармацевтически приемлемый наполнитель, носитель или разбавитель.
71. Фармацевтическая композиция по п.69, которая дополнительно включает противоопухолевое средство, выбираемое из группы, состоящей из химиотерапевтических средств, антител против EGFR, радиоиммунотерапевтических средств и их комбинаций.
72. Фармацевтическая композиция по п.71, в которой указанные химиотерапевтические средства выбирают из группы, состоящей из ингибиторов тирозинкиназы, ингибиторов каскада реакций фосфорилирования, модуляторов посттрансляционной модификации, ингибиторов роста или деления клеток (например, антимиотических средств), ингибиторов передачи сигналов и их комбинаций.
73. Фармацевтическая композиция по п.72, в которой указанные ингибиторы тирозинкиназы выбирают из группы, состоящей из AG1478, ZD1839, STI571, OSI-774, SU-6668 и их комбинаций.
74. Фармацевтическая композиция по п.71, в которой указанные антитела против EGFR выбирают из группы, состоящей из антител против EGFR 528, 225, SC-03, DR8.3, L8A4, Y10, ICR62, ABX-EGF и их комбинаций.
75. Способ предотвращения и/или лечения рака у млекопитающих, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п.69.
76. Способ лечения присущих головному мозгу раков, которые продуцируют аберрантно экспрессированный EGFR, у млекопитающих, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п.69.
77. Способ лечения присущих головному мозгу раков, которые продуцируют аберрантно экспрессированный EGFR, у млекопитающих по п.76, где присущие головному мозгу раки выбирают из группы, состоящей из глиобластом, медуллобластом, менингиом, неопластических астроцитов и неопластических артериовенозных мальформаций.
78. Одноклеточный хозяин, трансформированный рекомбинантной молекулой ДНК, которая кодирует выделенное антитело по п.49.
79. Одноклеточный хозяин, трансформированный рекомбинантной молекулой ДНК, которая кодирует выделенное антитело по п.49, причем одноклеточного хозяина



выбирают из группы, состоящей из *E. coli*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, дрожжей, клеток CHO, YB/20, NSO, SP2/0, R1.1, B-W, L-M, COS 1, COS 7, BSC1, BSC40 и BMT10, клеток растений, клеток насекомых и клеток человека в культуре ткани.

80. Способ обнаружения присутствия увеличенного в числе в результате амплификации гена EGFR, de2-7EGFR или EGFR, гликозирванного в результате присоединения большого числа остатков маннозы, в котором указанный EGFR измеряют посредством (а) приведения биологического образца от млекопитающего, в котором предполагается присутствие увеличенного в числе в результате амплификации гена EGFR, de2-7EGFR или EGFR, гликозирванного в результате присоединения большого числа остатков маннозы, в контакт с выделенным антителом по п.49 в условиях, допускающих возникновение связывания указанного EGFR с указанным выделенным антителом; и (б) обнаружения, произошло ли связывание между указанным EGFR из указанного образца и указанным выделенным антителом; причем обнаружение связывания служит признаком присутствия или активности указанного EGFR в указанном образце.

81. Способ выявления рака у млекопитающих, включающий обнаружение присутствия или активности EGFR в соответствии со способом по п.80, в котором обнаружение присутствия EGFR служит признаком наличия опухоли или рака у млекопитающего.

82. Выделенное антитело, способное к связыванию с EGFR на поверхности опухолей, имеющих амплификации гена EGFR, при этом клетки указанных опухолей имеют множество копий гена EGFR, и на поверхности опухолей, экспрессирующих усеченный вариант рецептора de2-7 EGFR, причем указанное антитело не связывается с соединительным пептидом de2-7 EGFR, состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13, причем указанное антитело связывается с эпитопом внутри последовательности из остатков 273-501 EGFR человека дикого типа,

при этом указанное антитело включает легкую цепь и тяжелую цепь, причем переменная область указанной легкой цепи включает первый участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность HSSQDINSNIG (SEQ ID NO: 18); второй участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность HGTLNDD (SEQ ID NO: 19); и третий участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность VQYAQFPWT (SEQ ID NO: 20), а

переменная область указанной тяжелой цепи включает первый участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность SDFAWN (SEQ ID NO: 15); второй участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотной последовательности, представленной формулой IX:

YISYSGNTRYX<sub>aa9</sub>PSLKS (IX),

где X<sub>aa9</sub> является остатком аминокислоты, имеющей незаряженную полярную группу R; и

третий участок связывающего полипептид домена, имеющий аминокислотную последовательность VTAGRGFY (SEQ ID NO: 17).

83. Выделенное антитело по п.82, которое связывается с эпитопом внутри последовательности из остатков 287-302 (SEQ ID NO: 14) EGFR человека дикого типа.

84. Выделенное антитело по п.82, в котором X<sub>aa9</sub> является N или Q.

85. Выделенное антитело по п.82, в котором указанные участки связывающего домена поддерживаются каркасом антитела человека.

86. Выделенное антитело по п.85, в котором указанным каркасом антитела человека является каркас антитела человека изотипа IgG1.