

## Abstract

More effective therapy options for T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) and acute myeloid leukemia (AML) with enhanced tumor selectivity are urgently required, especially to tackle chemo-resistant, disease propagating leukemia cells responsible for relapse.

The overall goal of this thesis was to evaluate CD7-targeted monoclonal antibodies as a therapeutic approach for leukemia therapy, and to assess the developability of anti-CD7 fragment- and antibody-drug conjugates. With respect to safe application of a CD7-targeted antibody or drug conjugate, healthy T and NK cells were analyzed for expression levels and specific CD7- subsets.

In order to generate fragment-drug conjugates with improved pharmacokinetics and therapeutic properties, three antibody fragment formats were chosen and engineered with a conjugation site to develop a novel site-specific conjugation technique for these formats. The antibody fragments were first analyzed for expression and the suitability for drug conjugation. For the development of antibody- and fragment-drug conjugates, conditions for modification and conjugation reactions as well as analytical methods were set up.

Moreover, the tackling of leukemic cells was approached from the payload side: ADCs were generated with four payloads of three different payload classes in order to determine if payloads with a novel mode-of-action i) are suitable for ADC generation and ii) show differences in potency towards leukemic cells.

## Zusammenfassung

Für die Behandlung der T-Zell basierten akuten lymphatischen Leukämie (T-ALL) und akuten myeloischen Leukämie (AML) besteht ein dringender medizinischer Bedarf an effektiveren Therapieoptionen, insbesondere um chemo-resistente Leukämiezellen anzugreifen, die Rezidive induzieren.

Ziel dieser Arbeit war es gegen CD7 gerichtete monoklonale Antikörper als therapeutischen Ansatz für T-ALL und CD7+ AML Patienten zu evaluieren. Hinsichtlich einer sicheren Anwendung von anti-CD7 Antikörpern oder Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten (Antibody-drug conjugate, ADC), wurden gesunde T- und NK-Zellen auf CD7 Expressionslevel und spezifische CD7<sup>+</sup> Subpopulationen untersucht.

Um Antikörperfragment-Wirkstoff-Konjugate mit verbesserter Pharmakokinetik und therapeutischen Eigenschaften zu generieren, wurden drei Antikörperfragment-Formate mit einer Konjugationsstelle ausgestattet um so eine neuartige, ortsspezifische Konjugationstechnologie für die Formate zu entwickeln. Die Antikörperfragmente wurden zuerst auf ihre Expression und Eignung für die Wirkstoff-Konjugation untersucht. Für die Entwicklung von Antikörper- und Antikörperfragment-Wirkstoffkonjugaten wurden Bedingungen für die Modifikation und Konjugationsreaktionen sowie analytische Methoden etabliert.

Des Weiteren wurde der Angriff auf Leukämiezellen von der Wirkstoff-Seite angegangen: ADCs wurden mit vier Wirkstoffen aus drei verschiedenen Wirkstoffklassen hergestellt um zu bestimmen ob die Wirkstoffe mit neuartigen Wirkmechanismen i) geeignet sind um ADCs zu generieren, und ii) Unterschiede in der Wirksamkeit gegen Leukämiezellen zeigen.