

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043404**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.23

(21) Номер заявки
201791527

(22) Дата подачи заявки
2015.12.31

(51) Int. Cl. **A61K 39/395** (2006.01)
A61P 7/10 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)
C12N 9/64 (2006.01)

(54) **БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ПЛАЗМЕННОГО КАЛЛИКРЕИНА И
ФАКТОРА XII**

(31) **62/099,236; 62/200,363; 62/261,609**

(32) **2015.01.02; 2015.08.03; 2015.12.01**

(33) **US**

(43) **2017.12.29**

(86) **PCT/US2015/068238**

(87) **WO 2016/109774 2016.07.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)**

(72) Изобретатель:
**Комо Стивен Р., Никсон Эндрю,
Кастрепели Никса, Кеннистон
Джон А., Конли Грегори П., Мэйсон
Шона, Линдберг Эллисон П., Копач
Кристофер, Эйделман Берг (US)**

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

(56) WO-A1-2014019644
WO-A1-2013051294
WO-A1-2014207199
WO-A2-2014152232
US-A1-20140199361

(57) В изобретении описываются биспецифические антитела, связывающиеся с плазменным калликреином (pKal) и фактором XII, а также способы получения и использования таких биспецифических антител для лечения заболеваний или расстройств, связанных с системой контактной активации, таких как наследственный ангионевротический отек или тромбоз. Одним из объектов настоящего раскрытия является биспецифическое антитело, содержащее первый полипептид, который содержит легкую цепь первого антитела, при этом легкая цепь содержит переменный участок (VL) легкой цепи и константный участок (CL) легкой цепи (например, легкую капша-цепь или легкую лямбда-цепь), и второй полипептид, содержащий тяжелую цепь первого антитела, включающую в себя переменный участок тяжелой цепи (VH) и константный участок тяжелой цепи (CH).

043404
B1

043404
B1

Перекрестные ссылки на родственные заявки

Для настоящей заявки испрашивается приоритет по дате подачи по предварительной патентной заявке США № 62/099236, поданной 2 января 2015 г., по предварительной патентной заявке США № 62/200363, поданной 3 августа 2015 и по предварительной патентной заявке США № 62/261609, поданной 1 декабря 2015. Указанные заявки включены в настоящий документ во всей полноте посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Фактор XII (FXII) является первичным активатором, преобразующим прекалликреин в плазменный калликреин (pKал). Активированный плазменный калликреин расщепляет кининоген высокой молекулярной массы (КВММ) и высвобождает брадикинин (БК). pKал может также активировать латентный фактор XII в активный фактор XII (фактор XIIa). В болезненных состояниях, связанных с аномальной активацией контактной системы, таких как наследственный ангионевротический отек, неконтролируемые уровни БК могут вызывать у пациентов приступы.

Сущность изобретения

В одном из аспектов настоящее изобретение относится к биспецифическому антителу, включающему: первый полипептид, содержащий легкую цепь первого антитела, включающую вариабельный участок легкой цепи (V_L) и константный участок легкой цепи (C_L) (например, легкую каппа-цепь или легкую ламбда-цепь); и второй полипептид, содержащий тяжелую цепь первого антитела, включающую в себя вариабельный участок тяжелой цепи (V_H) и константный участок тяжелой цепи (C_H). Первый либо второй полипептид биспецифического антитела дополнительно включают второе антитело, представляющее собой одноцепочечное антитело, которое может быть присоединено к С-концу первого либо второго полипептида. Первое либо второе антитело связывает плазменный калликреин (pKал) (например, активный pKал), а другое антитело связывает фактор XII (например, активный фактор XIIa, или FXIIa), например, первое антитело связывает pKал, а второе антитело связывает FXIIa, или наоборот.

В некоторых вариантах осуществления первое антитело представляет собой IgG. В одном из примеров, IgG включает в себя модифицированную тяжелую цепь, у которой, по сравнению с аналогом дикого типа, С-концевой остаток лизина удален или заменен. Например, модифицированная тяжелая цепь первого антитела может содержать С-концевой остаток глицина, а не лизина, как в тяжелой цепи IgG дикого типа. В одном из примеров биспецифическое антитело может быть тетравалентным.

В некоторых вариантах осуществления второй полипептид биспецифического антитела включает пептидный линкер между тяжелой цепью первого антитела и вторым антителом. В одном из примеров пептидный линкер может представлять собой SGGGS (SEQ ID NO: 22).

Во составе второго антитела, которое представляет собой антитело типа scFv, V_H может быть присоединено к N-концу V_L . Альтернативно, V_H присоединен к С-концу V_L . В некоторых примерах второе антитело содержит пептидный линкер между участками V_H и V_L , например линкер $(G_4S)_4$ (SEQ ID NO: 23). В некоторых вариантах осуществления антитело scFc включает дисульфидные мостики между цепями V_H и V_L . Например, цепь V_H может содержать остаток цистеина в положении 44 (Cис₄₄), а цепь V_L может содержать остаток цистеина в положении 100, причем между Cис₄₄ в V_H и Cис₁₀₀ в V_L может быть образован дисульфидный мостик. В некоторых примерах, второе антитело не содержит KR-мотива на С-конце.

В любом из биспецифических антител, описанных в настоящем документе, V_H первого антитела содержит те же определяющие комплементарности участки (CDR), что и последовательность с SEQ ID NO: 1. В некоторых примерах V_H первого антитела включает аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 1. В одном из примеров тяжелая цепь первого антитела включает аминокислотную последовательность из остатков 20-470 последовательности с SEQ ID NO: 9. В одном из примеров тяжелая цепь первого антитела состоит из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 9, 149 или 150. Альтернативно или дополнительно, V_L первого антитела имеет те же CDR, что и в последовательности с SEQ ID NO: 2. В некоторых примерах V_L первого антитела включает аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 2.

Дополнительно, V_H второго антитела может иметь те же CDR, что присутствуют в любой из последовательностей с SEQ ID NO: 3, 4 и 123-126. В некоторых примерах, V_H второго антитела включает в себя любые аминокислоты с SEQ ID NO: 3, 4 и 123-126. Альтернативно или дополнительно, V_L второго антитела содержит те же CDR, что присутствуют в любой из последовательностей с SEQ ID NO: 5-8 и 127-130. В некоторых примерах V_L второго антитела включает остатки 1-111 любой из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 5-8 и 127. В одном из примеров V_L второго антитела содержит одну из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 5-8 и 127-130.

В некоторых примерах биспецифическое антитело, описанное в настоящем документе, включает первый полипептид, содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 10 и второй полипептид, содержащий любую из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 11-20, 47-122, 141-148 и 151-158.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к биспецифическому антителу, включающему первое антитело, связывающее плазменный калликреин (pKал) и второе антитело, связывающее фактор

XII, например, первое антитело, связывающее активный pK_{al} и/или второе антитело, связывающее активный фактор XII (FXIIa). В некоторых вариантах осуществления первое антитело включает цепь V_H, содержащую те же определяющие комплементарные участки (CDR), что и в последовательности с SEQ ID NO: 1, и/или цепь V_L, содержащую те же CDR, что и в последовательности с SEQ ID NO: 2. Например, V_H первого антитела содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 1, и/или V_L первого антитела содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 2.

Альтернативно или дополнительно, второе антитело включает в себя цепь V_H, содержащую те же CDR, что и последовательности с SEQ ID NO: 3 или 4, и/или цепь V_L, содержащую те же CDR, что и последовательности с SEQ ID NO: 5, 6, 7 или 8. Например, цепь V_H второго антитела включает аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 3 или 4, и/или V_L второго антитела включает аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 5, 6, 7 или 8.

Альтернативно или дополнительно, второе антитело включает цепь V_H, содержащую те же CDR, что и любая из последовательностей с SEQ ID NO: 123-126, и/или цепь V_L, содержащую те же CDR, что и последовательности с SEQ ID NO: 127. Например, V_H цепочка второго антитела включает любую из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 123-126, и/или V_L второго антитела включает остатки 1-111 любой из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 5-8 и 127.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к изолированной нуклеиновой кислоте или набору нуклеиновых кислот, включающих в себя первую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид первого антитела, как описано в настоящем документе, и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид второго антитела, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления первая и вторая нуклеотидные последовательности расположены на двух отдельных молекулах нуклеиновой кислоты (например, на двух векторах, таких как экспрессирующие векторы). Альтернативно, первая и вторая нуклеотидные последовательности расположены на одной молекуле нуклеиновых кислот (например, на векторе, таком как экспрессирующий вектор).

Нуклеиновая кислота или набор нуклеиновых кислот, описанный в настоящем документе, может представлять собой набор векторов, включающий первый вектор, содержащий первую нуклеотидную последовательность и второй вектор, включающий вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых примерах первый и второй векторы представляют собой экспрессирующие векторы, в которых первая и вторая нуклеотидные последовательности функционально связаны с промотором. В других примерах нуклеиновая кислота, описанная в настоящем документе, представляет собой вектор, содержащий как первую, так и вторую нуклеотидные последовательности. Любой из описанных в настоящем документе векторов может быть экспрессирующим вектором. Например, экспрессирующий вектор может содержать первую и вторую нуклеотидную последовательность, функционально связанные с промотором. Изобретение также относится к клетке-хозяину, содержащей вектор или набор векторов, описанные в настоящем документе.

Дополнительно, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, включающим любые биспецифические антитела или нуклеиновые кислоты/наборы нуклеиновых кислот, описанные в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель. Такая композиция может использоваться для лечения болезней, связанных с системой контактной активации (например, наследственный ангионевротический отек (НАО) или тромбоз). Способ лечения, описанный в настоящем документе, включает введение нуждающемуся в лечении субъекту эффективного количества фармацевтической композиции, описанной в настоящем документе. Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции для использования при лечении болезни, как это описано в настоящем документе, причем фармацевтическая композиция содержит любое из описанных в настоящем документе биспецифических антител или нуклеиновых кислот/набор нуклеиновых кислот, кодирующих биспецифические антитела, и фармацевтически приемлемый носитель, а также к применению такой фармацевтической композиции в производстве лекарственных средств для применения при лечении такой болезни, например, НАО или тромбоз. В некоторых вариантах осуществления тромбоз ассоциируется с фибрилляцией предсердий, тромбозом глубоких вен (ТГВ), легочной эмболией, инсультом или формированием артериального или венозного тромба.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу подготовки биспецифических антител, который включает: а) культивирование клеток-хозяев или набора клеток-хозяев, как это описано в настоящем документе, в условиях, допускающих экспрессию первого полипептида и второго полипептида; и б) выделение биспецифического антитела, включающего первый полипептид и второй полипептид. В некоторых примерах клетка-хозяин содержит экспрессирующий вектор, включающий первую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид.

Как минимум один вариант осуществления настоящего изобретения подробно описан в приведенном ниже описании. Другие характеристики или преимущества настоящего изобретения будут очевидны из последующих чертежей и подробного описания нескольких вариантов осуществления, а также из прилагаемой формулы изобретения.

Краткое описание фигур

Следующие чертежи являются частью настоящего описания и включены для дополнительной демонстрации некоторых аспектов настоящего изобретения, которые можно лучше понять путем отсылки к одному или нескольким из этих чертежей в сочетании с подробным описанием конкретных вариантов осуществления, приведенных в настоящем документе.

Фиг. 1 показывает активность различных клонов биспецифических антител для ингибирования pK_{al}, в том числе клонов X120-A01 (scFv= 559C-M184-B04 H4L), X121-E01 (scFv= 559C-M184-G03 H4L), X122-A01 (scFv= 559C-M71-F06 H4L), и X122-C01 (scFv= 559C-M71-F06 L4H).

Фиг. 2 содержит диаграммы, показывающие ингибирующую анти-FXIIa активность клонов X120-A01 (A and B), X122-A01 (C), X121-E01 (D), X122-C01 (E), и контрольного клона M71-F06 IgG (F).

Фиг. 3 содержит графики, показывающие примеры данных аналитической гель-фильтрационной хроматографии (ГФХ) пяти биспецифических молекул. Первый пик показывает, что эти клоны образуют агрегат с высокой молекулярной массой (ВМК) с процентной площадью пика (%ВМК) в диапазоне от 16,5 до 33,8%. A: 620I-X136-C11. B: 620I-X136-C05. C: 620I-X136-G05. D: 620I-X136-D12. E: 620I-X136-A01.

Фиг. 4 включает графики, показывающие сокращение агрегатов с высокой молекулярной массой для 620I-X0173-A11 (620I-X0136-D12 со вставленным дисульфидным мостиком между H44 и L100) для различных концентраций. A: 620I-X0173-A11 при 1 мг/мл. B: 620I-X0173-A11 при 10 мг/мл. C: 620I-X0173-A11 при 20 мг/мл. D: 620I-X0173-A11 при 45 мг/мл.

Фиг. 5 содержит графики, демонстрирующие ингибирующую активность антител против pK_{al}, антител против FXIIa, комбинации антител против pK_{al} и антител против FXIIa, а также биспецифических антител D12, определенную с применением реконструированной плазмы. A: DX-2930 в присутствии одноцепочечного высокомолекулярного кининогена (ВМКГ). B: антитела против FXIIa в присутствии одноцепочечного ВМКГ. C: DX-2930+антитела против FXIIa в присутствии одноцепочечного ВМКГ. D: биспецифический клон 620I-X0136-D12 в присутствии одноцепочечного ВМКГ.

Фиг. 6 содержит графики, демонстрирующие ингибирующую активность антител против pK_{al}, антител против FXIIa, комбинации антител против pK_{al} и антител против FXIIa, а также биспецифических антител D12, определенную с применением реконструированной плазмы. A: DX-2930 в отсутствие ВМКГ. B: антитела против FXIIa в отсутствие ВМКГ. C: DX-2930+антитела против FXIIa в отсутствие ВМКГ. D: биспецифический клон 620I-X0136-D12 в отсутствие ВМКГ.

Фиг. 7 содержит графики, демонстрирующие ингибирующую активность антител против pK_{al}, антител против FXIIa, комбинации антител против pK_{al} и антител против FXIIa, а также биспецифических антител D12, определенную с применением реконструированной плазмы. A: DX-2930 в отсутствие ВМКГ. B: антитела против FXIIa в отсутствие ВМКГ. C: DX-2930+антитела против FXIIa в отсутствие ВМКГ. D: биспецифический клон D12 в отсутствие ВМКГ.

Фиг. 8 показывает действие биспецифического антитела (D12) в трех концентрациях по сравнению с антителом против FXIIa (D06) и антителами против pK_{al} (H03) в тесте на активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ).

Фиг. 9 включает графики, демонстрирующие результаты теста Биакор на связывание клона 620I-X0173-A11 (620I-X0136-D12 с дисульфидным мостиком) против pK_{al} (верхняя сенсорграмма) и FXIIa (нижняя сенсорграмма). A: связывание pK_{al} (верхняя кривая) выше, чем пустой поверхности (средняя кривая) и пре-калликреина (внизу). Оригинальные изоляты FXIIa показали неспецифическое связывание с чипом Биакор, что объясняет сигналы связывания, наблюдаемые в случае пре-Кал и пустого образца. B: Связывание FXIIa (верхняя кривая) значительно выше, чем FXII (нижняя кривая) и пустой образец (средняя кривая).

Фиг. 10 содержит графики, показывающие расчет IC₅₀ и кажущейся K_i биспецифических антител с тремя дисульфидными мостиками в тесте на ингибирующую активность плазмы. A и B: клон 620I-X0173-A11. C и D: клон 620I-X0173-C07. E и F: клон 620I-X0173-G11.

Фиг. 11 демонстрирует ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0177-A01 (a.k.a. 620I-X0173-A11), определенные в тесте на ингибирование плазмы.

Фиг. 12 включает графики, демонстрирующие снижение аффинности биспецифических антител по сравнению с IgG-предшественниками. A: свойства связывания родительского клона 559C-X0211-A01 (левая панель) и биспецифического антитела 620I-X0177-A01 (правая панель). B: свойства связывания родительского клона DX-2930 (левая панель) и биспецифического антитела A01 (правая панель).

Фиг. 13 показывает зависящую от дозы задержку в АЧТВ, вызванную различными указанными антителами. Клоны D06, 1A01 и F12 представляют собой антитела против FXIIa. Клон H03 представляет собой антитело против pK_{al}. Клоны D12 и 7A01 являются биспецифическими антителами без дисульфидных мостиков и с таковыми соответственно.

Фиг. 14 показывает зависящую от дозы задержку отложения фибрина клонами 1A01 (559C-X211-A01) и 7A01 (620I-X0177-A01).

Фиг. 15 представляет собой результат белкового гель-электрофореза в ПААГ с ДСН, показывающий образцы биспецифического антитела 620I-X0177-A01 в восстанавливающих (дорожки 2-4) и невос-

становливающих условиях (дорожки 6-8).

Фиг. 16 включает графики, показывающие результаты аналитической гель-фильтрационной хроматографии (ГФХ) биспецифического антитела 620I-X0177-A01, демонстрирующие рН-зависимое расщепление. Пики в диапазоне 15,7-16,1 мин соответствуют правильно сформированному биспецифическому антителу. Пики на 17-й минуте соответствуют DX-2930 IgG1. Пики на 22-й минуте соответствуют расщепленному одноцепочечному антителу. А: рН 6,0. В: рН 7,0. С: рН 8,0.

Фиг. 17 показывает результаты белкового гель-электрофореза в ПААГ с ДСН указанных биспецифических антител, у которых заменен либо удален С-концевой лизин IgG при t=0. А: невозстанавливающие условия. В: восстанавливающие условия.

Фиг. 18 показывает результаты белкового гель-электрофореза в ДСН указанных биспецифических антител, у которых заменен либо удален С-концевой лизин IgG при t=48 ч в восстанавливающих условиях. Положительным контролем служит биспецифическое антитело 620I-X0177-A01.

Фиг. 19 включает графики, показывающие результаты аналитической гель-фильтрационной хроматографии (ГФХ) контрольного биспецифического антитела 620I-X0177-A01. Пики в диапазоне 15,7-16,1 минут соответствуют правильно сформированному биспецифическому антителу. Пики на 17-й минуте соответствуют DX-2930 IgG1. Пики на 22-й минуте соответствуют расщепленному одноцепочечному антителу. А: t=0. В: t=48 ч.

Фиг. 20 включает графики, показывающие результаты гель-фильтрационной хроматографии (ГФХ) модифицированных антител по прошествии 48 ч при комнатной температуре и рН=7,5. А: 620I-X180-E07. В: 620I-X180-G03. С: 620I-X180-A05. D: 620I-X180-E06. E: 620I-X180-C11. F: 620I-X179-C01. G: 620I-X179-G05. H: 620I-X179-A09.

Фиг. 21 показывает результаты белкового гель-электрофореза в ДСН указанных биспецифических антител, в которых заменен либо удален С-концевой лизин тяжелой цепи IgG в невозстанавливающих условиях. Положительным контролем служит биспецифическое антитело 620I-X0177-A01. Образцы инкубировали с эндопротеиназой LysC при 37°C в течение 1 ч.

Фиг. 22 содержит графики, показывающие пример ингибирования рКал биспецифическими антителами. На панели 1 показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0179-A09 (незакрашенные круги), 620I-X0179-C01 (закрашенные треугольники), и 620I-X0179-E05 (незакрашенные треугольники). На панели 2 показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0179-G05 (незакрашенные круги), 620I-X0180-E07 (закрашенные треугольники), и 620I-X0180-G03 (незакрашенные треугольники). На панели 3 показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0180-A05 (незакрашенные круги) и 620I-X0180-C11 (закрашенные круги). Антитела DX-2930 служили контролем на каждой из панелей.

Фиг. 23 включает графики, демонстрирующие пример ингибирования FXIIa биспецифическими антителами. На панели 1 показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0179-A09 (незакрашенные круги), 620I-X0179-C01 (закрашенные треугольники), и 620I-X0179-E05 (незакрашенные треугольники). На панели 2 показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0179-G05 (незакрашенные круги), 620I-X0180-E07 (закрашенные треугольники), и 620I-X0180-G03 (незакрашенные треугольники). На панели 3 показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0180-A05 (незакрашенные круги) и 620I-X0180-C11 (закрашенные круги). Антитела DX-4012 (559C-M0192-N11) служили контролем на каждой из панелей.

Фиг. 24 включает графики, демонстрирующие пример ингибирования активированной плазмы биспецифическими антителами. На верхней левой панели показаны ингибирующие свойства DX-2930 с контрольных панелей 1, 2 и 3, а также DX-4012. На верхней правой панели показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0179-A09 (закрашенные круги) и 620I-X0179-C01 (незакрашенные круги). На нижней левой панели показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0179-E05 (закрашенные круги), 620I-X0179-G05 (незакрашенные круги), и 620I-X0180-E07 (закрашенные треугольники). На правой нижней панели показаны ингибирующие свойства биспецифических антител 620I-X0180-G03 (закрашенные круги), 620I-X0180-A05 (незакрашенные круги), и 620I-X0180-C11 (закрашенные треугольники).

Описание вариантов осуществления

Система контактной активации инициирует внутренний путь свертывания крови посредством высвобождения провоспалительного пептида брадикинина (БК). БК высвобождается в результате каскада активаций ферментов в системе контактной активации. Фактор XIIa (FXIIa) преобразует прекалликреин в плазменный калликреин (рКал). Активированный рКал затем расщепляет высокомолекулярный кининоген (ВМКГ), что приводит к высвобождению брадикинина (БК). Важно, что рКал может также активировать латентный фактор XII, производя дополнительный активный фактор XIIa. Считается, что формируется петля цикл положительной обратной связи, причем рКал активирует FXII до FXIIa, а FXIIa активирует прекалликреин до рКал.

В заболеваниях, связанных с контактной системой активации, таких как наследственный ангионевротический отек (НАО) или тромбоз, неконтролируемые уровни БК могут вызывать воспалительные реакции, такие как приступы НАО у пациентов. Соответственно, агенты, контролирующие уровни БК, на-

пример, ингибиторы pK_{al} и FXII, могут иметь важное терапевтическое значение.

В настоящем документе описываются биспецифические антитела, связывающиеся как с pK_{al}, так и с FXIIa, например, с активным pK_{al} и/или FXIIa, а также способы их использования для ингибирования как pK_{al}, так и FXII, и лечения болезней, связанных с контактной системой активации, таких как наследственный ангионевротический отек (НАО) и тромбоз. Как показано ниже в примерах, ряд биспецифических антител, описанных в настоящем документе, ингибируют активность как pK_{al}, так и FXIIa. Помимо теоретического аспекта, ожидается, что биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, будут демонстрировать превосходные терапевтические эффекты при лечении болезней, связанных с контактной системой активации, по сравнению с агентами, которые могут ингибировать либо pK_{al}, либо FXII, ввиду того, что биспецифические антитела могут ингибировать активность как pK_{al}, так и FXII, уменьшая тем самым уровень БК синергидно, например, блокируя петлю положительной обратной связи между pK_{al} и FXII.

Связывание биспецифических антител с pK_{al} и FXII

В настоящем документе под термином "антитело" (взаимозаменяемо используемом во множественном числе) подразумевается молекула иммуноглобулина, или его функциональный фрагмент, способный связываться с целевым антигеном, таким как углевод, полинуклеотид, липид или полипептид, через хотя бы один сайт распознавания антигена, расположенного в вариабельном участке молекулы иммуноглобулина. Мультиспецифические антитела, например, биспецифические антитела, представляют собой молекулу иммуноглобулина или ее функциональный фрагмент/вариант, способный связываться с несколькими целевыми антигенами, например, двумя антигенами или двумя эпитопами одного антигена. Биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, могут связываться с плазменным калликреином (pK_{al}) и фактором XII. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела могут связываться и ингибировать как активный pK_{al}, так и FXIIa.

Термин "антиген", используемый в настоящем документе, относится к любой молекуле (например, белка, нуклеиновой кислоты, полисахарида или липида), способной генерировать антитело. Эпитоп представляет собой часть антигена (например, часть pK_{al} или FXII), с которой связывается антитело. Эпитопы обычно содержат химически активные (например, полярные, неполярные или гидрофобные) поверхностные группы таких фрагментов, как аминокислоты или полисахаридные боковые цепи, и могут иметь специфические трехмерные структурные характеристики, а также особые зарядовые свойства. Эпитоп может быть линейным по своему характеру или не являться непрерывным, например, представлять собой конформационный эпитоп, который формируется пространственным соотношением между несмежными аминокислотами антигена, а не линейной серией аминокислот. Понятие конформационного эпитопа включает в себя эпитопы, возникшие в результате фолдинга антигена, при котором аминокислоты из различных участков линейной последовательности антигена приводятся в непосредственную близость в трехмерном пространстве.

Биспецифическое антитело, описываемое в настоящем документе, состоит из двух антительных фрагментов, причем первое антитело связывается с pK_{al} (например, активным pK_{al}), а второй антительный фрагмент связывается с FXII (например, FXIIa). Первые и вторые антительные фрагменты могут быть получены из двух антител-предшественников, способных связываться с желаемыми антигенами, например, pK_{al} (например, активным pK_{al}) и FXII (например, FXIIa). Одно или оба антитела-предшественника для получения биспецифических антител, описанных в настоящем документе, могут встречаться естественным образом (например, антитело, полученное от подходящего донора, такого как человек, мышь, крыса, кролик, лошадь или овца), быть генетически модифицированными (например, человеческие антитела, химерные антитела) или быть антителами, полученными из естественной или синтетической библиотеки антител. В некоторых вариантах осуществления одно из антител-предшественников представляет собой антитело IgG, например, антитело IgG, связывающееся с pK_{al}, таким как DX-2930, или антитело IgG, связывающееся с FXIIa, а другое антитело-предшественник является антителом scFv, например, антителом scFv, связывающимся с FXIIa, таким как клоны анти-FXIIa, описанные в настоящем документе, или антитела scFv, связывающиеся с pK_{al}.

Тяжелая цепь встречающейся естественным образом молекулы IgG, как правило, содержит остатки лизина на С-конце. В некоторых вариантах осуществления этот С-концевой остаток лизина может быть либо удален, либо заменен, например, на остаток глицина, в биспецифическом антителе, описанном в настоящем документе. Альтернативно или дополнительно, KR-мотив, обычно присутствующий на стыке вариабельного и константного участков легкой цепи, может быть удален из легкой цепи первого антитела, второго антитела или обоих, в биспецифических антителах, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах KR-мотив удален из scFv-фрагмента (например, на С-конце scFv) любого из описанных здесь биспецифических антител. Эти мутации могут снизить протеолитическое расщепление и/или улучшить экспрессию, производство и/или изготовление биспецифических антител.

В некоторых примерах по крайней мере одно из антител-предшественников может быть антителом с созревшей аффинностью, то есть антителом, имеющим одну или несколько модификаций в одном или нескольких CDR или каркасных участках (КУ), по сравнению с немодифицированным антителом-предшественником, что приводит к улучшению аффинности антитела к целевому антигену. Предпочти-

тельные антитела с созревшей аффинностью могут иметь наномолярную или даже пикомолярную аффинность к целевому антигену. Созревание аффинности антител может осуществляться различными способами, известными в пределах уровня техники, в том числе путем шаффлинга вариабельного домена (см., например, Marks et al. 1992, *Bio/Technology* 10:779-783), случайного мутагенеза остатков в CDR и/или KY (см., например, Barbas et al., 1994, *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813; Schier et al., 1995, *Gene* 169:147-155; Yelton et al., 1995, *J. Immunol.* 155:1994-2004; Jackson et al., 1995, *J. Immunol.* 154(7):3310-9; and Hawkins et al, 1992, *J. Mol. Biol.* 226:889-896). Антитела-предшественники могут принадлежать к любому классу, например, IgD, IgE, IgG, IgA, или IgM, или их подклассам, или являться одноцепочечным антителом, например, scFv.

Каждый антительный фрагмент биспецифического антитела, описанных в настоящем документе, может представлять собой антитело в любой форме, включая, не ограничиваясь нижеперечисленным, интактные (т.е. полные) антитела, их антиген-связывающие фрагменты (например, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), одноцепочечные антитела (scFv антитела) и тетравалентные антитела. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела являются тетравалентными и включают два сайта связывания pK_{al} и два сайта связывания FXII.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты анти-pK_{al}, анти-FXII, или оба в биспецифических антителах, описанных в настоящем документе, специфически связываются с соответствующим целевым антигеном или его эпитопом. Антитело, которое "специфически связывается" с антигеном или эпитопом, является термином, широко известным в данной области техники, и способы определения такого специфического связывания также хорошо известны в данной области техники. Утверждается, что молекула демонстрирует "специфическое связывание", если она реагирует или ассоциирует более часто, быстрее, с более высокой продолжительностью и/или с большей аффинностью с конкретным целевым антигеном, чем с альтернативными мишенями. Антитело "специфически связывается" с целевым антигеном или эпитопом, если оно связывается с большей аффинностью, авидностью, легче и/или с более высокой продолжительностью, чем оно связывается с другими веществами. Например, антитело, которое специфически (или предпочтительно) связывается с антигеном (например, человеческим pK_{al} или FXII) или его антигенным эпитопом, представляет собой антитело, которое связывает этот целевой антиген с большей аффинностью, авидностью, легче и/или с более высокой продолжительностью, чем оно связывается с другими эпитопами того же антигена. Кроме того, при чтении данного определения следует понимать, что, например, антитело, которое специфически связывается с первым целевым антигеном, может связываться или не связываться специфически или предпочтительно со вторым целевым антигеном. Как таковое, "специфическое связывание" или "предпочтительное связывание" не обязательно требует (хотя может в себя включать) эксклюзивное связывание. Как правило, но не обязательно, ссылка на связывание подразумевает предпочтительное связывание. В некоторых примерах антитело, которое "специфически связывается" с целевым антигеном или его эпитопом, может не связываться с другими антигенами или другими эпитопами того же антигена. В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, специфически связываются как с активным pK_{al}, так и с FXIIa.

В некоторых вариантах осуществления биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, обладают подходящей аффинностью связывания с одним или обоими целевыми антигенами (например, pK_{al} или FXIIa) или с их антигенными эпитопами. В настоящем документе термин "аффинность связывания" относится к кажущейся константе ассоциации или K_A. K_A является величиной, обратной константе диссоциации (K_D). Биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, могут обладать аффинностью связывания (K_D) по меньшей мере 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹, 10⁻¹⁰ М или ниже для одного или обоих целевых антигенов или антигенных эпитопов. Увеличение аффинности связывания соответствует уменьшению K_D. Более высокая аффинность связывания с первым антигеном и вторым антигеном по отношению к третьему антигену может быть обозначена более высоким K_A (или меньшим численным значением K_D) для связывания первого антигена и второго антигена, чем K_A (или численное значение K_D) для связывания третьего антигена. В таких случаях антитело имеет специфичность для первого антигена и второго антигена (например, первый белок в первой конформации или его имитатор, а также второй белок в первой конформации или его имитатор) по отношению к третьему антигену (например, те же самые первый или второй белок во второй конформации или их имитаторы; или третий белок). Различия в аффинности связывания (например, для оценки специфичности или других сравнений) могут быть по меньшей мере 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 37,5, 50, 70, 80, 91, 100, 500, 1000, 10000 или 10⁵.

Аффинность связывания (или специфичность связывания) может определяться различными способами, включая равновесный диализ, равновесное связывание, гель-фильтрацию, ИФА, поверхностный плазмонный резонанс или спектроскопию (например, с применением флуоресцентного анализа). Оценка аффинности связывания может производиться, например, в буфере HBS-P (10 mM HEPES pH 7,4, 150 mM NaCl, 0,005% (об./об.) сурфактант P20). Эти методы могут использоваться для измерения концентрации связывающего белка в комплексе в зависимости от концентрации белка-мишени. Концентрация связывающего белка в комплексе ([Комплекс]) связана с концентрацией свободного белка-мишени ([Свобод-

ный]) и концентрацией сайтов связывания для связывающего белка на мишени, где (N) является количеством сайтов связывания на одну молекулу мишени, согласно следующему уравнению:

$$[\text{Комплекс}] = \frac{[N][\text{Свободный}]}{K_d + [\text{Свободный}]}$$

Однако не всегда точная оценка K_d необходима, поскольку иногда достаточно получить количественное измерение аффинности, например, с применением такого способа, как ИФА или FACS, пропорциональное K_d , которое, таким образом, может использоваться для сравнения, например для определения того, является ли более высокая аффинность, например, в 2 раза выше, или получить качественное измерение аффинности, или получить косвенный показатель аффинности, например, активность в функциональных тестах, например, *in vitro* или *in vivo*.

(i) Фрагмент анти-pKal

Любое антитело, способное связывать pKal, например, активный pKal, может использоваться для получения биспецифических антител, описанных в настоящем документе. В некоторых примерах анти-pKal антительный фрагмент биспецифического антитела может связываться с человеческим pKal и ингибировать его активность по крайней мере на 50% (например, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более). Константа ингибирования (K_i) является мерой мощности ингибитора; она равна концентрации ингибитора, необходимой для уменьшения активности фермента в два раза и не зависит от концентрации фермента или субстрата. Ингибирующая активность анти-pKal антительного фрагмента биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, может быть определена рутинными способами. В некоторых примерах биспецифическое антитело, описанное в настоящем документе, имеет значение кажущейся анти-pKal $K_{i, \text{ каж}}$ менее 1 нМ, например 0,5 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ, 0,09 нМ, 0,08 нМ, 0,07 нМ, 0,06 нМ, 0,05 нМ, 0,04 нМ, 0,03 нМ, 0,02 нМ, 0,01 нМ или ниже. Значение $K_{i, \text{ каж}}$ для антитела может быть оценено способами, известными на существующем уровне техники.

В некоторых вариантах осуществления анти-pKal фрагмент биспецифического антитела может взаимодействовать с одним или несколькими из следующих остатков: V410, L412, T413, A414, Q415, R416, L418, C419, H434, C435, F436, D437, G438, L439, W445, Y475, K476, V477, S478, E479, G480, D483, F524, E527, K528, Y552, D554, Y555, A564, D572, A573, C574, K575, G576, S578, T596, S597, W598, G599, E600, G601, C602, A603, R604, Q607, P608, G609, V610, и Y611 в человеческом pKal. Последовательность аминокислот С-концевого фрагмента pKal человека, включающего в себя аминокислотные остатки, участвующие в связывании (выделены жирным шрифтом и подчеркнуты), показана ниже (SEQ ID NO: 21):

```
391-IVGGTNSSWG EWPWQVSLQV KLTAQRHLCG GSLIGHQWVL TAAHCFDGLP
LQDVWRIYSY ILNLSDITKD TPFSQIKEII IHQNYKVSEG NHDIALIKLQ
APLNYTEFQK PISLPSKGDY STIYTNCWVT GWGFSKEKGE IQNILQKVNI
PLVTNEECQK RYQDYKITQR MVCAGYKEGG KDACKGDSGG PLVCKHNGMW
RLVGITSWGE GCARREQPGV YTKVAEYMDW ILEKTQSSDG KAQMQSPA -638
```

В некоторых примерах анти-pKal антительный фрагмент может связывать эпитоп pKal, состоящий из следующих сегментов в последовательности с SEQ ID NO: 21, приведенной выше: V410-C419, H434-L439, Y475-G480, F524-K528, Y552-Y555, D572-S578, T596-R604, or Q607-Y611.

В одном из примеров анти-pKal фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, является производной от антитела DX-2930, которая описана в заявке US 20120201756 (включенной по ссылке в настоящем документе). Ниже приводится вариабельный участок тяжелой цепи и вариабельный участок легкой цепи DX-2930, а также полная последовательность тяжелой цепи и легкой цепи этого антитела (CDR: выделены жирным шрифтом и подчеркнуты; сигнальные последовательности: выделены курсивом):

Вариабельный участок тяжелой цепи DX-2930 (SEQ ID NO: 1):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSS

Вариабельный участок легкой цепи DX-2930 (SEQ ID NO: 2):

DIQMTQSPSTLSASVGRVITITCRASQSISSWLAWYQQKPKAPKLLIYKASTLESGVPS
 SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIK

Тяжелая цепь DX-2930 (идентификационный номер 9)

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVPR
 RDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKTHTCTP
 PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEYQNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Легкая цепь DX-2930 (SEQ ID NO: 10)

MGWSCIIILFLVATATGVHSDIQMTQSPSTLSASVGRVITITCRASQSISSWLAWYQQKPK
 GKAPKLLIYKASTLESVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIK
 IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
 DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

В некоторых примерах, анти-pKal фрагмент биспецифического антитела включает в себя вариабельный участок тяжелой цепи, состоящий из аминокислотной последовательности, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичной последовательности с SEQ ID NO: 1, и/или вариабельный участок легкой цепи, включающей аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичной последовательности с SEQ ID NO: 2. "Процентная идентичность" двух аминокислотных последовательностей определяется с помощью алгоритма Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990, модифицированного как описано в Karlin and Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993. Такой алгоритм встроен в программы NBLAST и XBLAST (версия 2,0), описанных в Altschul, et al. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990. BLAST-запросы о белках могут быть выполнены с помощью программы XBLAST с параметрами score=50, wordlength=3 для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных к интересующим молекулам белка. В тех случаях, когда между двумя последовательностями существуют разрывы, можно использовать программу Gapped BLAST, описанной в Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST).

В других примерах анти-pKal фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, включает в себя вариабельный участок тяжелой цепи, которая включает те же три CDR, что и в последовательности с SEQ ID NO: 1, и/или те же три CDR, что и в последовательности с SEQ ID NO: 2. Два вариабельных участка тяжелой цепи (или два вариабельных участка легкой цепи), имеющие одинаковые CDR, означают, что CDR в двух вариабельных участках тяжелой цепи (или в вариабельных участках легкой цепи), определяемые одной и той же схемой нумерации, идентичны. Схемы нумерации для определения CDR антитела могут представлять собой, например, схему нумерации "Kabat" (Kabat et al. (1991), 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.), схему нумерации "Chothia" (Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948), схему нумерации "Contact" (MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)), схему нумерации "IMGT" (Lefranc M P et al., Dev Comp Immunol, 2003 January; 27(1) : 55-77), и схему нумерации "АНО" (Honegger A and Pluckthun A, J Mol Biol, 2001 Jun. 8; 309(3):657-70). Как известно специалисту в данной области техники, CDR приведенных в качестве примера антител против pKal и FXII, идентифицированные в настоящем документе, были определены согласно схеме нумерации "Chothia", используемой в качестве примера.

Альтернативно, анти-pKal фрагмент может включать одну или несколько (например, до 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8) мутаций в одном или нескольких CDR по сравнению с последовательностями с SEQ ID NO: 1 и/или 2. Такие мутации могут представлять собой консервативные замены аминокислот. В настоящем документе "консервативная замена аминокислоты" относится к заменам аминокислот, которые не меняют относительного заряда или размеров белка, в котором производится замена аминокислоты. Консервативные замены аминокислот включают замены друг на друга аминокислот, принадлежащим следующим группам: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N и (g) E, D.

В любом из примеров, описанных в настоящем документе, анти-pKal фрагмент биспецифических антител может включать одну или несколько (например, 1, 2, 3, 4, 5 или более) замен или делеций по сравнению с антителами сравнения. Такие мутации могут быть введены, например, для уменьшения про-

теолитического расщепления биспецифического антитела и/или для улучшения экспрессия, производства и/или изготовления биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления анти-pK_{al} фрагмент биспецифического антитела представляет собой IgG, причем остаток лизина на С-конце тяжелой цепи IgG удален или заменен по сравнению с диким типом. В некоторых вариантах осуществления С-концевой лизин тяжелой цепи IgG заменен на нейтральный аминокислотный остаток, например, остаток глицина или аланина.

Примеры последовательности таких мутированных тяжелых цепей анти-pK_{al} фрагмента биспецифического антитела представлены ниже (тяжелая цепь DX-2930 приведена в качестве примера).

Тяжелая цепь DX-2930 с удаленным С-концевым остатком лизина (SEQ ID NO: 149)

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVWVQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHHTCP
 PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSR
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
 GNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG

Тяжелая цепь DX-2930 с заменой С-концевого остатка лизина на глицин (SEQ ID NO: 150)

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVWVQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHHTCP
 PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
 REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSR
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
 GNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGG

Выделенные курсивом фрагменты вышеуказанных последовательностей относятся к сигнальным пептидам. Анти-pK_{al} фрагмент биспецифического антитела, описанный в настоящем документе, может включать те же сигнальные пептиды, либо сигнальные пептиды могут быть удалены или заменены на другие сигнальные пептиды. Применение сигнальных пептидов для производства секретируемых белков широко известно на существующем уровне техники.

Анти-pK_{al} фрагмент биспецифического антитела может представлять собой любую форму антитела, включая, не ограничиваясь нижеперечисленным, интактные (т.е. полноразмерные) антитела, их антиген-связывающие фрагменты (например, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv) и одноцепочечные антитела. В некоторых примерах переменный участок тяжелой цепи анти-pK_{al} фрагмента, описанного в настоящем документе, связан с константным участком тяжелой цепи (C_H), который может быть полноразмерным константным участком тяжелой цепи или его фрагментом (например, C_H1, C_H2, C_H3, или их комбинацией). Константный участок тяжелой цепи может быть производным от любого C_H, известного на существующем уровне техники. В некоторых вариантах осуществления C_H является тяжелой гамма-цепью. Альтернативно или дополнительно, переменный участок легкой цепи анти-pK_{al} фрагмента связан с константным участком легкой цепи (C_L), который может представлять собой любую C_L, известный на существующем уровне техники. В некоторых примерах, C_L представляет собой легкую каппа-цепь. В других примерах C_L представляет собой легкую ламбда-цепь. На существующем уровне техники константные участки легких и тяжелых цепей широко известны, например, те, которые содержатся в базе данных IMGT (www.imgt.org) или www.vbase2.org/vbstat.php, из которых обе включены в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых примерах анти-pK_{al} фрагмент является IgG, которое может содержать ту же тяжелую цепь, что и DX-2930 (идентификатор последовательности 9) и/или ту же легкую цепь, что и DX-2930 (идентификатор последовательности 10).

Альтернативно, анти-pK_{al} фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, может быть одноцепочечным антителом (scFv), в котором переменный участок тяжелой цепи и переменный участок легкой цепи соединены, например, через пептидный линкер, такой как (GGGG)₄ (SEQ ID NO: 23). В одном примере переменный участок тяжелой цепи и переменный участок легкой цепи соединены в ориентации Н→L. В другом примере переменный участок тяжелой цепи и переменный участок легкой цепи соединены в ориентации L→Н. В некоторых вариантах осуществления фрагмент scFv, относящийся к легкой цепи, не содержит мотива Лиз-Арг (KR-мотива) на своем С-конце.

В одном из примеров анти-pK_{al} фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, представляет собой DX-2930 (антитело IgG), описанное в настоящем документе, которое содержит тяжелую цепь согласно последовательности с SEQ ID NO: 9 и легкую цепь согласно последовательности с SEQ ID NO: 10 либо их антиген-связывающий фрагмент.

(ii) Фрагмент анти-FXII

Любые антитела, способные связывать FXII, такие как активный FXII (FXIIa), могут использоваться при дизайне описанных здесь биспецифических антител. В некоторых примерах анти-FXII антительный фрагмент биспецифического антитела может связывать человеческий FXIIa и ингибировать его активность по крайней мере на 50% (например, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более). Ингибиторная активность анти-FXII антительного фрагмента биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, может быть определена рутинными методами. В некоторых примерах биспецифическое антитело, описанное в настоящем документе, имеет кажущуюся анти-FXIIa $K_{i, \text{ каж}}$ менее 1 нМ, например 0,5 нМ, 0,2 нМ, 0,1 нМ, 0,09 нМ, 0,08 нМ, 0,07 нМ, 0,06 нМ, 0,05 нМ, 0,04 нМ, 0,03 нМ, 0,02 нМ, 0,01 нМ или ниже. Значение $K_{i, \text{ каж}}$ для антитела может быть оценено способами, известными на существующем уровне техники.

В одном из примеров анти-FXII фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, взят из клонов против FXII 59C-M0071-F06, 59C-M0179-D04, 59C-M0181-C02, 59C-M0180-G03, и 59C-M0184-B04. Ниже приводятся вариабельные участки тяжелой цепи и вариабельные участки легкой цепи этих клонов (CDR выделены жирным шрифтом и подчеркнуты).

Вариабельный участок тяжелой цепи клонов 59C-M0071-F06, 59C-M0179-D04, 59C-M0181-C02, и 59C-M0180-G03 (SEQ ID NO: 3):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFS **GYIMA**WVRQAPGKGLEWVS **VIYPSGGITV**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTR**QRYRGP****KYYYYMDV**WGKGTTVTSS
 Вариабельный участок тяжелой цепи 59C-M0184-B04 (SEQ ID NO: 4):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFS **FYSMH**WVRQAPGKGLEWVS **RIYPSGGVTK**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTR**QRYRGP****KYYYYMDV**WGKGTTVTSS

Вариабельный участок легкой цепи клонов 59C-M0071-F06 и 59C-M0184-B04 (SEQ ID NO: 5):

DIQMTQSPLSLPVTPEPASPISCR**RSSQSL****LLHSNGYNYLD**WYLQKPGQSPQLLIY**LGSNR**
ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQALQTPWT**FGQGTKVEIKR
 Вариабельный участок легкой цепи клона 59C-M0179-D04 (SEQ ID NO: 6):

DIQMTQSPLSLPVTPEPASPISCR**RSSQSL****LLHRNGHNYLD**WYLQKPGQSPQLLIY**LGSNR**
ASGVPERFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYC**MQALQART**FGQGTKVEIKR
 Вариабельный участок легкой цепи клона 59C-M0181-C02 (SEQ ID NO: 7):

DIQMTQSPLSLPVTPEPASPISCR**RSSQSL****LLHSNGYNYLD**WYLQKPGQSPQLLIY**LGSNR**
ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQALQTRT**FGQGTKVEIKR
 Вариабельный участок легкой цепи клона 59C-M0180-G03 (SEQ ID NO: 8):

DIQMTQSPLSLPVTPEPASPISCR**RSSQSL****LLHSNGYNYLD**WYLQKPGQSPQIMIIY**LGSNR**
ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQALQTPRT**FGQGTKVEIKR
 Вариабельный участок тяжелой цепи 620I-X0173-A11 (620I-X0177-A01) (SEQ ID NO: 123)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFS **QYVMH**WVRQAPGKCLEWVS **SIWP****SGGHTR**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR**QRYRGP****KYYYYMDV**WGQGTTVTSS
 Вариабельный участок тяжелой цепи клона 620I-X0173-C07 (620I-X0177-C01) (SEQ ID NO: 124)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFS **WYVMH**WVRQAPGKCLEWVS **SIYPS****GGKTS**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR**QRYRGP****KYYYYMDV**WGQGTTVTSS
 Вариабельный участок тяжелой цепи клона 620I-X0173-E07 (620I-X0177-E01) (SEQ ID NO: 125)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFS **WYSMH**WVRQAPGKCLEWVS **VIYPS****GGKTR**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR**QRYRGP****KYYYYMDV**WGQGTTVTSS
 Вариабельный участок тяжелой цепи клона 620I-X0173-G11 (620I-X0177-G01) (SEQ ID NO: 126)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFS **HYVMH**WVRQAPGKCLEWVS **SIYPS****GGLTK**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAR**QRYRGP****KYYYYMDV**WGQGTTVTSS
 Вариабельный участок легкой цепи клона 620I-X0173-A11 (SEQ ID NO: 127)

DIQMTQSPLSLPVTPEPASPISCR**RSSQSL****LLHSNGYNYLD**WYLQKPGQSPQLLIY**LGSNR**
ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQALQTPWT**FGCGTKVEIKR

Вариабельный участок легкой цепи клона 620I-X0173-C07 (SEQ ID NO: 128)

DIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR

ASGVDPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

Вариабельный участок легкой цепи клона 620I-X0173-E07 (SEQ ID NO: 129)

DIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR

ASGVDPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

Вариабельный участок легкой цепи клона 620I-X0173-G11 (SEQ ID NO: 130)

DIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR

ASGVDPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

Вариабельные участки легких цепей клонов 620I-X0173-A11 (SEQ ID NO: 127), 620I-X0173-C07 (SEQ ID NO: 128), 620I-X0173-E07 (SEQ ID NO: 129), и 620I-X0173-G11 (SEQ ID NO: 130) идентичны.

В некоторых примерах, анти-FXIIa фрагмент биспецифического антитела включает в себя вариабельный участок тяжелой цепи, состоящий из аминокислотной последовательности, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичной последовательности с SEQ ID NO: 3 или 4, и/или вариабельный участок легкой цепи, включающей аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичной последовательности с любым из SEQ ID NO: 5-8. Например, вариабельный участок тяжелой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 3, а вариабельный участок легкой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичную любой из последовательностей с SEQ ID NO: 5-8. В некоторых примерах, вариабельный участок тяжелой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 4, а вариабельный участок легкой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 5.

В некоторых примерах анти-FXIIa фрагмент биспецифического антитела включает в себя вариабельный участок тяжелой цепи, которая содержит аминокислотную последовательность, по крайней мере, на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную любой из последовательностей с SEQ ID NO: 123-126 и/или вариабельный участок легкой цепи включает аминокислотную последовательность, по крайней мере, на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную любой из последовательностей с SEQ ID NO. Например, вариабельный участок тяжелой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 123, а вариабельный участок легкой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичной последовательности с SEQ ID NO: 127. Альтернативно, вариабельный участок тяжелой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 124, а вариабельный участок легкой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичной последовательности с SEQ ID NO: 128. Альтернативно, вариабельный участок тяжелой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 125, а вариабельный участок легкой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 129. Альтернативно, вариабельный участок тяжелой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95%, или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 126, а вариабельный участок легкой цепи может включать аминокислотную последовательность, не менее чем на 80% (например, 85%, 90%, 95% или 98%) идентичную последовательности с SEQ ID NO: 130.

В других примерах анти-FXIIa фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, включает вариабельный участок тяжелой цепи и/или вариабельный участок легкой цепи, включающий те же три CDR, что и в клонах 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, 559C-M0180-G03, 559C-M0184-B04, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07, или 620I-X0173-G11 и/или те же три CDR, что и в следующих клонах. См. табл. 1 ниже:

Таблица 1. Последовательности CDR в анти-FXIIa клонах

Клоны	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
559C-M0071-F06	RSSQSLLHS NGY NYLD (SEQ ID NO: 34)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTP WT (SEQ ID NO: 37)	GYIMA (SEQ ID NO: 41)	YIYPSGGIT VYA DSVKG (SEQ ID NO: 43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO: 45)
559C-M0179-D04	RSSQSLLHR NGH NYLD (SEQ ID NO: 35)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQAR T (SEQ ID NO: 38)	GYIMA (SEQ ID NO: 41)	YIYPSGGIT VYA DSVKG (SEQ ID NO: 43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO: 45)
559C-M0181-C02	RSSQSLLHS NGY NYLD (SEQ ID NO: 34)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTR T (SEQ ID NO: 39)	GYIMA (SEQ ID NO: 41)	YIYPSGGIT VYA DSVKG (SEQ ID NO: 43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO: 45)
559C-M0184-G03	RSSQSLLHS NGY NYLD (SEQ ID NO: 34)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTP RT (SEQ ID NO: 40)	GYIMA (SEQ ID NO: 41)	YIYPSGGIT VYA DSVKG (SEQ ID NO: 43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO: 45)
620I-X0173-B04	RSSQSLLHS NGY NYLD (SEQ ID NO: 34)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTP WT (SEQ ID NO: 37)	FYSMH (SEQ ID NO: 42)	RIYPSGGVT KYA DSVKG (SEQ ID NO: 44)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO: 45)
620I-X0173-A11	I-NGYNYLD (SEQ ID NO: 131)	(SEQ ID NO: 36)	WT (SEQ ID NO: 37)	(SEQ ID NO: 132)	RYADSVKG (SEQ ID NO: 133)	YMDV (SEQ ID NO: 134)
620I-X0173-C07	I-NGYNYLD (SEQ ID NO: 131)	(SEQ ID NO: 36)	WT (SEQ ID NO: 37)	(SEQ ID NO: 135)	SIYPSGGKT SYADSVKG (SEQ ID NO: 136)	QRYRGPKYYY YMDV (SEQ ID NO: 134)
620I-X0173-E07	I-NGYNYLD (SEQ ID NO: 131)	(SEQ ID NO: 36)	WT (SEQ ID NO: 37)	(SEQ ID NO: 137)	VIYPSGGKT RYADSVKG (SEQ ID NO: 138)	QRYRGPKYYY YMDV (SEQ ID NO: 134)
620I-X0173-G11	I-NGYNYLD (SEQ ID NO: 131)	(SEQ ID NO: 36)	WT (SEQ ID NO: 37)	(SEQ ID NO: 139)	SIYPSGGLT KYADSVKG (SEQ ID NO: 140)	QRYRGPKYYY YMDV (SEQ ID NO: 134)

Альтернативно, анти-FXIIa фрагмент может включать одну или несколько (например, до 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8) мутаций в одном или нескольких CDR тяжелой и/или легкой цепи, перечисленных в табл. 1 выше, по сравнению с любым из клонов 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, 559C-M0180-G03, 559C-M0184-B04, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07, или 620I-X0173-G11. Такие мутации могут представлять собой консервативные замены аминокислот, описанные в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления анти-FXIIa фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, представляет собой молекулу IgG, которая может встречаться естественным образом или быть мутантом, включая, например, одну или несколько (например, 1, 2, 3, 4, 5 или более) мутаций или делеций, например для уменьшения протеолитического расщепления биспецифических антител, для уменьшения неоднородности зарядов биспецифических антител и/или для улучшения экспрессии, производства и/или изготовления биспецифических антител. В некоторых вариантах осуществ-

ления остаток лизина на С-конце тяжелой цепи IgG удален или заменен по сравнению с диким типом. В некоторых вариантах осуществления С-концевой лизин тяжелой цепи IgG заменен на нейтральный аминокислотный остаток, например, остаток глицина или аланина.

Анти-FXIIa фрагмент биспецифического антитела может представлять собой любую форму антитела, включая, не ограничиваясь нижеперечисленным, интактные (т.е. полноразмерные) антитела, их антиген-связывающие фрагменты (например, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv) и одноцепочечные антитела. В некоторых примерах переменный участок тяжелой цепи анти-pKal фрагмента, описанного в настоящем документе, связан с константным участком тяжелой цепи (C_H), который может быть полноразмерным константным участком тяжелой цепи или его фрагментом (например, C_H1, C_H2, C_H3 или их комбинацией). Константный участок тяжелой цепи может быть производным от любого C_H, известного на существующем уровне техники. В некоторых вариантах осуществления C_H является тяжелой гамма-цепью. Альтернативно или дополнительно, переменный участок легкой цепи анти-pKal фрагмента связан с константным участком легкой цепи (C_L), который может представлять собой любой C_L, известный на существующем уровне техники. В некоторых примерах C_L представляет собой легкую каппа-цепь. В других примерах C_L представляет собой легкую ламбда-цепь. На существующем уровне техники константные участки тяжелой и легкой цепей, например, описанные здесь, хорошо известны.

Альтернативно, анти-FXIIa фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, может быть одноцепочечным антителом, в котором переменный участок тяжелой цепи и переменный участок легкой цепи соединены, например, через пептидный линкер, такой как (GGGGS)₄ (SEQ ID NO: 23). Переменный участок тяжелой цепи и переменный участок легкой цепи соединены в ориентации Н→L или L→Н. В некоторых вариантах осуществления фрагмент scFv, относящийся к легкой цепи, не содержит KR-мотива на своем С-конце.

В некоторых вариантах осуществления анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv, включающий переменный участок тяжелой цепи согласно последовательностям с SEQ ID NO: 3 или 4 и/или переменный участок легкой цепи согласно любой из последовательностей с SEQ ID NO: 5-8. В одном из примеров анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv-антитело, содержащее переменный участок тяжелой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 3, и переменный участок легкой цепи согласно любой из последовательностей с SEQ ID NO: 5-8 в любой из ориентаций Н→L или L→. В другом примере анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv-антитело, содержащее переменный участок тяжелой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 4, и переменный участок легкой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 5 в любой из ориентации Н→L или L→. В некоторых вариантах осуществления анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv, включающий переменный участок тяжелой цепи согласно любой из последовательностей с SEQ ID NO: 123-126 и/или переменный участок легкой цепи согласно любой из последовательностей с SEQ ID NO: 127-130. В одном из примеров анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv-антитело, содержащее переменный участок тяжелой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 123, и переменный участок легкой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 127 в любой из ориентаций Н→L или L→. В одном из примеров анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv-антитело, содержащее переменный участок тяжелой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 123, и переменный участок легкой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 127 в любой из ориентации Н→L или L→. В другом примере анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv-антитело, содержащее переменный участок тяжелой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 124, и переменный участок легкой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 128 в любой из ориентации Н→L или L→. В другом примере анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv-антитело, содержащее переменный участок тяжелой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 125, и переменный участок легкой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 129 в любой из ориентаций Н→L или L→. В другом примере анти-FXIIa фрагмент представляет собой scFv-антитело, содержащее переменный участок тяжелой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 126, и переменный участок легкой цепи согласно последовательности с SEQ ID NO: 130 в любой из ориентации Н→L или L→.

В некоторых вариантах осуществления, переменные участки легкой и тяжелой цепей любого из scFv антител, описанных в настоящем документе, дополнительно соединены, например, с помощью дисульфидного мостика, например, между 44-м остатком V_H и 100-м остатком V_L.

(iii) Формат анти-pKal/анти-FXII биспецифических антител

Анти-pKal/анти-FXII биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, могут иметь любой формат биспецифических антител из известных на существующем уровне техники, например, описанных в работах Klein et al., mAbs 4(6):653-663, 2012; Kontermann et al., mAbs 4(2):182-197, 2012; и Coloma et al., Nature Biotechnology 15:159-163, 1997. В некоторых примерах биспецифические антитела могут быть гибридными полноразмерными антителами (также известными как квадромное или трифункциональное антитело), включающее одну ветвь (комплекс из тяжелой цепи/легкой цепи), связывающую pKal и другую ветвь (комплекс из тяжелой цепи/легкой цепи), связывающую FXII. В некоторых примерах биспецифические антитела представляют собой биспецифическое антитело Fab'₂, содержащее один

Fab-фрагмент, связывающий pKal, и другой Fab-фрагмент, связывающий FXII, или три-Fab-содержащую молекулу, включающую две копии фрагмента Fab, связывающегося с одним из целевых антигенов (например, pKal или FXIIa), и одну копию фрагмента Fab, связывающегося с другим целевым антигеном (например, FXIIa или pKal). Альтернативно, биспецифическое антитело представляет собой тандемную молекулу scFv, которая включает по меньшей мере одну копию scFv, связывающегося с pKal, и одну копию другого scFv, связывающегося с FXIIa. Биспецифическое антитело, описываемое в настоящем документе, также может быть диателом или одноцепочечным диателом, известным на существующем уровне техники. Другие примеры включают, не ограничиваясь нижеперечисленным, IgG₂, F(ab')₂, CovX-антитело, scFv₄-Ig, IgG-scFv, scFv-IgG, DVD-Ig, IgG-sVD, sVD-IgG, 2-in-1-IgG, mAb², Tandemab с общей LC, kih IgG, kih IgG с общей LC, CrossMab, kih IgG-scFab, mAb-Fv, зарядовые пары, SEED-антитело, диатело (Db), dsDd, scDb, tandAbs, тандемное scFv, трипл-боди, Fab-scFv и F(ab')₂-scFv₂. См., например, фиг. 2 в работе Kontermann et al., mAbs 4 (2):182-197, 2012.

В некоторых вариантах осуществления каркас биспецифических антител, описанных в настоящем документе, по конструкции включает в себя фрагмент антитела IgG и scFv-фрагмент, соединенный с С-концом тяжелой цепи либо легкой цепи IgG-фрагмента (например, с С-концом тяжелой цепи IgG, см., например, Coloma, M.J. & Morrison, S.L. Design and production of novel tetravalent bispecific antibodies. Nature Biotechnology. 15(2): 159-163. 1997). Тяжелая или легкая цепь IgG может быть соединена с scFv через короткий пептидный линкер, например, пептид, насыщенный остатками Гли и Сер. В одном примере пептидный линкер включает аминокислотную последовательность SGGGS (SEQ ID NO: 22).

Такое биспецифическое антитело может включать первый полипептид, содержащий легкую цепь первого антитела, включающую в себя вариабельный участок легкой цепи (V_L) и константный участок легкой цепи (C_L), и второй полипептид, включающий химерный белок, содержащий от N-конца к С-концу тяжелую цепь первого антитела, которая включает в себя вариабельный участок тяжелой цепи (V_H), константный участок тяжелой цепи (CH), и второе антитело, которое может быть одноцепочечным антителом. Альтернативно, биспецифическое антитело может включать первый полипептид, содержащий тяжелую цепь первого антитела, включающую в себя вариабельный участок тяжелой цепи (V_L) и константный участок тяжелой цепи (C_L) или его фрагмент, и второй полипептид, включающий химерный белок, содержащий, от N-конца к С-концу, легкую цепь первого антитела, которая включает в себя вариабельный участок тяжелой цепи (V_L), константный участок легкой цепи (C_L), и второе антитело, которое является одноцепочечным антителом. В некоторых примерах первое антитело может связываться с pKal (например, с активным pKal), а второе антитело может связываться с FXII (например, FXIIa). В других примерах первое антитело может связываться с FXIIa, а второе антитело может связываться с pKal.

C_L легкой цепи первого антитела может быть любым C_L, известным на существующем уровне техники. В некоторых вариантах осуществления, C_L представляет собой легкую каппа-цепь. В некоторых вариантах осуществления, C_L представляет собой легкую лямбда-цепь. C_H тяжелой цепи первого антитела может быть любым C_H, известным на существующем уровне техники. В некоторых вариантах осуществления C_H является тяжелой гамма-цепью. На существующем уровне техники такие константные участки тяжелой и легкой цепей, например, описанные здесь, хорошо известны.

В одном из примеров биспецифическое антитело состоит из антитела, полученного из DX-2930 и scFv-антитела на основе клонов 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, 559C-M0180-G03, 559C-M0184-B04, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07 или 620I-X0173-G11 в ориентации H→L или L→H (см. выше описание изобретения). Антитела, полученные от антитела-предшественника, могут включать тяжелую цепь и легкую цепь, в значительной степени аналогичные таковым цепям антитела-предшественника (идентичность последовательностей составляет не менее 80%, 85%, 90%, 95% или 98%). В некоторых примерах такие антитела включают те же CDR тяжелой и легкой цепей что и у антитела-предшественника. В других примерах такое антитело включает в себя CDR тяжелой и/или легкой цепи, которые в значительной степени идентичны CDR антитела-предшественника, например, имея до 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотных замен, таких как консервативные замены аминокислотных остатков, по сравнению с CDR антитела-предшественника.

В некоторых вариантах осуществления scFv-антитело в биспецифическом антителе включает V_H, присоединенный к N-концу V_L. В другом варианте осуществления scFv-антитело включает V_H, присоединенный к С-концу V_L. В любом из scFv-антител, описанных в настоящем документе, участки V_H и V_L могут быть соединены через линкер, например пептидный линкер.

Пептидный линкер, как описано в данном документе, может включать, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более аминокислот. В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер может состоять из 2-50, 5-25 или 5-20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер представляет собой SGGGS. В некоторых вариантах осуществления пептидный линкер представляет собой (G₄S)_x, где x может принимать значения 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более. В некоторых вариантах осуществления x равно 4.

Любой из описанных в настоящем документе пептидных линкеров, например, линкер SGGGS (SEQ ID NO: 22) или линкер (GGGS)₄ (SEQ ID NO: 23) может включать аминокислоты, встречающиеся и/или не встречающиеся естественным образом. Естественным образом встречающиеся аминокислоты вклю-

чают в себя аланин (Ала), аргинин (Арг), аспарагин (Асп), аспарагиновую кислоту (Асп), цистеин (Цис), глутаминовую кислоту (Глу), глутамин (Глн), глицин (Гли), гистидин (Гис), изолейцин (Иле), лейцин (Лей), лизин (Лиз) метионин (Мет), орнитин (Орн), фенилаланин (Фен), пролин (Про), Серин (Сер), треонин (Тре), триптофан (Трп), тирозин (Тир) и валин (Вал). Аминокислоты, не встречающиеся естественным образом, могут включать в себя защищенные аминокислоты, такие как естественные аминокислоты, защищенные такими группами, как ацетил, формил, тозил, нитрогруппа и т.п. К числу примеров неестественно встречающихся аминокислот относятся, не ограничиваясь нижеперечисленным, азидогемоаланин, гомопропаргилглицин, гомоаллилглицин, р-бромфенилаланин, р-иодфенилаланин, азидофенилаланин, ацетилфенилаланин или этинилфенилаланин, аминокислоты, содержащие внутренние алкены, такие как транс-кротилалкен, аллиловый эфир серина, аллилглицин, пропаргилглицин, винилглицин, пирролизин, N-сигма-о-азидобензилоксикарбонил-L-лизин (AzZLys), N-сигма-пропаргилксикарбонил-L-лизин, N-сигма-2-азидоэтоксикарбонил-L-лизин, N-сигма-трет-бутилоксикарбонил-L-лизин (BocLys), N-сигма-аллилксикарбонил-L-лизин (AlocLys), N-сигма-ацетил-L-лизин (AcLys), N-сигма-бензилоксикарбонил-L-лизин (ZLys), N-сигма-циклопентилоксикарбонил-L-лизин (CycLys), N-сигма-D-пролил-L-лизин, N-сигма-никотиноил-L-лизин (NicLys), N-сигма-N-Ме-антрапилоил-L-лизин (NmaLys), N-сигма-L-лизин, N-сигма-9-флуоренилмесоксикарбонил-L-лизин, N-сигма-метил-L-лизин, N-сигма-диметил-L-лизин, N-сигма-триметил-L-лизин, N-сигма-изопропил-L-лизин, N-сигма-дансил-L-лизин, N-сигма-о,р-динитрофенил-L-лизин, N-сигма-р-толуолсульфонил-L-лизин, N-сигма-DL-2-амино-2-карбокситил-L-лизин, N-сигма-фенилпирувамиде-L-лизин, N-сигма-пирувамиде-L-лизин, азидогемоаланин, гомопропаргилглицин, гомоаллилглицин, р-бромфенилаланин, р-иодфенилаланин, азидофенилаланин, ацетилфенилаланин или этинилфенилаланин, аминокислоты, содержащие внутренние алкены, такие как транс-кротилалкен, аллиловый эфир серина, аллилглицин, пропаргилглицин и винилглицин.

В некоторых вариантах осуществления scFv-фрагмент биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, может быть сконструирован таким образом, что включает цистеиновые остатки как в V_H , так и в V_L цепях, для формирования одного или нескольких дисульфидных мостиков, что может уменьшить образование высокомолекулярных агрегатов. В некоторых примерах цистеиновый остаток может быть включен в качестве 44-го остатка V_H -цепи. Альтернативно или дополнительно, остаток цистеина может быть включен как 100-й остаток V_L -цепи.

Примерами анти-pKal/анти-FXIIa биспецифических антител являются клоны X0120-A01, X0120-C01, X0120-E01, X0120-G01, X0121-A03, X0121-C01, X0121-E01, X0121-G01, X0122-A01, X0122-C01, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07 и 620I-X0173-G11, описанные в Примерах ниже. Другие примеры анти-pKal/анти-FXIIa биспецифических антител включают клоны 620I-X138-A08, 620I-X136-B02, 620I-X139-A12, 620I-X137-B08, 620I-X142-A04, 620I-X142-B11, 620I-X138-B01, 620I-X136-C01, 620I-X138-A12, 620I-X136-A12, 620I-X138-A02, 620I-X136-A05, 620I-X138-C07, 620I-X136-E07, 620I-X142-B02, 620I-X136-F11, 620I-X142-A05, 620I-X136-C09, 620I-X138-B10, 620I-X136-C08, 620I-X139-A11, 620I-X136-D05, 620I-X138-D04, 620I-X136-G08, 620I-X142-B07, 620I-X142-A11, 620I-X138-G12, 620I-X142-A10, 620I-X138-D03, 620I-X137-C08, 620I-X142-E02, 620I-X136-E05, 620I-X138-B06, 620I-X136-A09, 620I-X138-A06, 620I-X137-A10, 620I-X139-B10, 620I-X136-A04, 620I-X138-D06, 620I-X136-C11, 620I-X138-B07, 620I-X136-A02, 620I-X139-G02, 620I-X136-B07, 620I-X138-E03, 620I-X136-G05, 620I-X139-D12, 620I-X136-A01, 620I-X138-C12, 620I-X136-G10, 620I-X138-D05, 620I-X136-F07, 620I-X138-A01, 620I-X142-E09, 620I-X138-D11, 620I-X136-C05, 620I-X142-A02, 620I-X136-C04, 620I-X138-F02, 620I-X136-G04, 620I-X139-G12, 620I-X136-B11, 620I-X142-D04, 620I-X136-D06, 620I-X139-A01, 620I-X136-D12, 620I-X138-F05, 620I-X136-A11, 620I-X139-E05, 620I-X136-C12 и 620I-X138-E05, описанные в приведенных ниже примерах.

Создание биспецифических антител

Любые подходящие методы, известные на существующем уровне техники, например, стандартная рекомбинантная технология, могут использоваться для создания биспецифических антител, описанных в настоящем документе. Примеры приведены ниже.

Гены тяжелых и легких цепей подходящих антител-предшественников могут быть получены с помощью обычной технологии, например, с применением ПЦР-амплификации подходящего источника. В одном из примеров ДНК, кодирующая моноклональное антитело, специфичное к целевому антигену, может быть легко выделена и секвенирована с применением обычных процедур (например, с помощью олигонуклеотидных зондов, способных специфично связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи моноклональных антител). Источником такой ДНК может служить клетка, например, клетка гибридомы. В другом примере может быть получена последовательность ДНК, кодирующая моноклональное антитело, специфичное к целевому антигену, например, из базы данных или другого имеющегося в открытом доступе источника, и ДНК может быть синтезирована. Гены антитела-предшественника также могут быть получены путем скрининга подходящей библиотеки антител относительно интересующего антигена.

Полученные таким образом гены тяжелых и легких цепей антител могут быть проанализированы с целью выявления определяющих комплементарность участков (CDR) с помощью рутинной технологии. Любой из полипептидов биспецифических антител, описанных в настоящем документе, может быть под-

готовлен с помощью обычной рекомбинантной технологии и вставлен в подходящие экспрессирующие векторы для производства в подходящих клетках-хозяевах.

Нуклеотидные последовательности, кодирующие один или несколько биспецифических антител, описанных в настоящем документе, могут быть клонированы в один экспрессирующий вектор, так, что каждая нуклеотидная последовательность функционально связана с подходящим промотором. Альтернативно, нуклеотидные последовательности могут быть функционально связаны с единым промотором, таким образом, что обе последовательности экспрессируются под одним и тем же промотором. В некоторых примерах экспрессия двух полипептидов контролируется общим промотором. В других примерах экспрессия каждого из двух полипептидов находится под контролем отдельного промотора. Альтернативно, нуклеотидные последовательности, кодирующие эти два полипептида, клонируются в два вектора, которые могут быть введены в одну и ту же либо разные клетки. Когда два полипептида экспрессируются в различных клетках, каждый из них может быть выделен из клетки-хозяина, экспрессирующей таковой, и две изолированные тяжелые цепи могут быть смешаны и инкубированы в соответствующих условиях, позволяющих формирование биспецифических антител.

Как правило, нуклеотидная последовательность, кодирующая одну или все цепи биспецифического антитела, может быть клонирована в подходящий экспрессирующий вектор в функциональной связи с подходящим промотором, используя способы, известные на существующем уровне техники. Например, нуклеотидная последовательность и вектор могут быть, в подходящих условиях, приведены в контакт с рестрикционным ферментом, для создания комплементарных концов на каждой молекуле, которые могут образовывать пары друг с другом и сшиваться вместе с помощью лигазы. Альтернативно, синтетические нуклеотидные линкеры могут быть лигированы к концам гена. Эти синтетические линкеры содержат нуклеотидные последовательности, соответствующие определенному сайту рестрикции в векторе. Выбор экспрессирующего вектора/промотора лица зависит от типа клеток-хозяев, которые будут использоваться при производстве антител.

Для экспрессии биспецифических антител, описанных в настоящем документе, можно использовать различные промоторы, включая, не ограничиваясь нижеперечисленным, среднеранний промотор цитомегаловируса (CMV), вирусные длинные концевые повторы (LTR), такие как LTR вируса саркомы Рауса, HIV-LTR, HTLV-1 LTR, ранний промотор обезьяньего вируса 40 (SV40), *lac UV5* - промотор *E. coli* и тирозинкиназный (ТК) промотор вируса простого герпеса.

Можно также использовать регулируемые промоторы. К числу таких регулируемых промоторов относятся те, которые используют *lac*-репрессор из *E. coli* в качестве модулятора транскрипции для регулирования транскрипции с содержащих *lac*-оператор промоторов клеток млекопитающих [Brown, M. et al., *Cell*, 49:603-612 (1987)], those using the tetracycline repressor (tetR) [Gossen, M., and Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5547-5551 (1992); Yao, F. et al., *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995)]. К другим системам относятся димер FK506, VP16 или р65 с применением астрадиола, RU486, дифенола мурислерона или рапамицина. Доступны индуцибельные системы от Invitrogen, Clontech и Ariad.

Могут использоваться регулируемые промоторы, включающие в себя репрессор с опероном. В одном из вариантов осуществления, *lac*-репрессор из *E. coli* может функционировать в качестве модулятора транскрипции для регулирования транскрипции с содержащих *lac*-оператор промоторов клеток млекопитающих [M. Brown et al., *Cell*, 49:603-612 (1987)]; Gossen and Bujard (1992); [M. Gossen et al., *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992)], в комбинации с тетрациклиновым репрессором (tetR) и активатором транскрипции (VP 16) для создания химерного белка-активатора транскрипции в tetR-клетках млекопитающих tTa (tetR-VP 16), с tetO-несущим минимальным промотором, произведенным от основного средне-раннего промотора человеческого цитомегаловируса (hCMV) для создания системы операторов "tetR-tet" для контроля экспрессии генов в клетках млекопитающих. В одном из вариантов осуществления используется тетрациклин-индуцибельный переключатель. Тетрациклиновый репрессор (tetR) сам по себе, а не химерные продукты слияния транскрипционного фактора tetR-клеток млекопитающих, может функционировать как мощный транс-модулятор для регуляции экспрессии генов в клетках млекопитающих, в случае, если тетрациклиновый оператор должным образом расположен после ТАТА-элемента CMVIE-промотора (Yao et al., *Human Gene Therapy*). Одно из преимуществ этого тетрациклин-индуцибельного переключателя заключается в том, что он не требует использования трансактивирующего или репрессорного химерного белка клеток млекопитающих, включающих тетрациклиновую репрессорную систему, так как эти белки могут быть в некоторых обстоятельствах токсичными для клеток (Gossen et al., *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992); Shockett et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526 (1995)), для достижения его регулируемых эффектов.

Дополнительно, вектор может содержать, например, все или некоторые из следующих элементов: доступный для выбора маркерный ген, например ген неомидина для выбора стабильных или временных трансфектантов среди клеток млекопитающих; энхансерные/промоторные последовательности средне-раннего промотора человеческого CMV для обеспечения высоких уровней транскрипции; сигналы термации транскрипции и РНК-процессинга из SV40 для обеспечения стабильности мРНК; точки начала репликации и ColE1 из SV40-полиомы для правильной эпизомальной репликации; внутренние рибосо-

мальные сайты связывания (IRES), универсальные сайты множественного клонирования и T7 и SP6-РНК-промоторы для транскрипции *in vitro* смысловой и антисмысловой РНК. Подходящие векторы и способы изготовления векторов, содержащих трансгены, хорошо известны и доступны на существующем уровне техники.

Примеры сигналов полиаденилирования, полезных для практического применения описанных здесь способов, включают в себя, не ограничиваясь нижеперечисленным, сигнал полиаденилирования человеческого коллагена I, сигнал полиаденилирования человеческого коллагена II и сигнал полиаденилирования SV40.

В других аспектах изобретение относится к способу подготовки биспецифического антитела, включающего культивирование клетки-хозяина или клеток-хозяев, описанных в настоящем документе, в условиях, допускающих экспрессию первого полипептида и второго полипептида; и очистку биспецифического антитела, содержащего первый полипептид и второй полипептид. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин содержит экспрессирующий вектор, включающий первую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид, описанный в настоящем документе, и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид, описанный в настоящем документе.

Подходящими клетками-хозяевами для использования при подготовке биспецифических антител, описанных в настоящем документе, могут служить любые клетки-хозяева, известные на существующем уровне техники, которые могут использоваться для производства белка, включая, не ограничиваясь нижеперечисленным, бактериальные клетки, дрожжевые клетки, клетки насекомых, растительные клетки или клетки млекопитающих.

Биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, могут быть наработаны в бактериальных клетках, например, в клетках *E. coli*. Альтернативно, биспецифические антитела могут быть наработаны в эукариотических клетках. В одном из вариантов осуществления, антитела экспрессируются в дрожжевой клетке, такой как *Pichia* (см., например, Powers et al., 2001, *J. Immunol. Methods*. 251:123-35), *Hansenula*, или *Saccharomyces*. В другом варианте осуществления биспецифические антитела могут быть наработаны в клетках млекопитающих. Клетки млекопитающих, которые могут использоваться как клетки-хозяева для экспрессии антител, включают, не ограничиваясь нижеперечисленным, клетки 293 (см., например, ATCC CRL-1573, American Type Culture Collection®, и Expi293F™ cells, Life Technologies™), клетки яичника китайского хомячка (CHO) (включая клетки dhfr-CHO), описанные в Urlaub and Chasin, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, используемые с выборочным DHFR-маркером, например, как описано в Kaufman and Sharp, 1982, *Mol. Biol.* 159:601-621), лимфоцитную линию клеток, например, клетки миеломы NS0 и клетки SP2, клетки COS и клетки трансгенного животного, например, трансгенного млекопитающего. Например, клетка может представлять собой эпителиальную клетку молочной железы.

В одном из примеров системы для рекомбинантной экспрессии биспецифических антител, описанных в настоящем документе, рекомбинантный экспрессирующий вектор, кодирующий оба полипептида биспецифического антитела, вводится в клетки dhfr-CHO посредством трансфекции, опосредованной фосфатом кальция. В рекомбинантном экспрессирующем векторе нуклеиновые кислоты, кодирующие два полипептида, функционально связаны с регуляторными элементами "энхансер/промотор" (например, производными от SV40, CMV, аденовируса и т.п., например, регуляторный элемент "CMV-энхансер/AdMLP-промотор" или регуляторный элемент "SV40-энхансер/AdMLP-промотор") для обеспечения высокого уровня транскрипции генов. Рекомбинантный экспрессирующий вектор также содержит ген DHFR, который позволяет выбирать ячейки CHO, трансфицированные вектором с помощью метотрексатного отбора/амплификации. Выбранные трансформантные клетки-хозяева культивируются для экспрессии двух полипептидов. Тетрамерная молекула, образуемая в результате этого процесса, может быть выделена из среды культивирования. Еще один пример системы рекомбинантной экспрессии описан в примере 2.

Стандартные методы молекулярной биологии используются для подготовки рекомбинантного экспрессирующего вектора, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения антител из среды культивирования. Например, некоторые антитела могут быть очищены с помощью аффинной хроматографии с сорбентом, связанным с протеином А или протеином G.

Применение биспецифических антител

Биспецифические антитела или кодирующие нуклеиновые кислоты либо наборы нуклеиновых кислот, описанные в настоящем документе, могут использоваться в диагностических и терапевтических целях. Они также могут использоваться в качестве исследовательских инструментов в фундаментальных и терапевтических исследованиях.

(i) Фармацевтические композиции

Биспецифические антитела (или кодирующие нуклеиновые кислоты или наборы нуклеиновых кислот), описанные в настоящем документе, могут быть смешаны с фармацевтически приемлемым носителем (эксципиентом), в том числе буфером, для создания фармацевтической композиции, используемой при лечении от целевого заболевания. Термин "приемлемый" означает, что носитель должен быть совместим с активным ингредиентом состава (и, предпочтительно, способен стабилизировать активный

ингредиент) и не наносит вреда субъекту, получающему лечение. Фармацевтически приемлемые эксципиенты (носители) включают в себя буферы, хорошо известные на существующем уровне техники. См., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover.

Фармацевтические композиции, которые будут использоваться в настоящих способах, могут включать фармацевтически приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы в виде лиофилизатов или водных растворов. (Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover). Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы являются нетоксичными для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и могут включать такие буферы, как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие, как октадецилдиметилбензил аммония хлорид; гексаметионим хлорид; бензалконим хлорид, бензетониум хлорид; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабены; катехол; резорцинол; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол); низкомолекулярные (менее 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, например, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстраны; хелатирующие агенты, такие как ЕДТА; сахара, например, сахароза, маннитол, трегалоза или сорбитол; соль-формирующие противоионы, например, натрий; комплексы металлов (например, Zn-белковые комплексы); и/или неионные поверхностно-активные вещества, такие, как TWEEN™, PLURONICS™ или полиэтиленгликоль (ПЭГ).

В некоторых примерах фармацевтический состав, описанный в настоящем документе, включает липосомы, содержащие биспецифическое антитело, которые могут быть подготовлены способами, известными на существующем уровне техники, например, описанными в Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688 (1985); Hwang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030 (1980); и патенты США №№ 4485045 и 4544545. Липосомы с улучшенным временем циркуляции описаны в патенте США № 5013556. Особенно полезные липосомы могут быть созданы способом обратного-фазового выпаривания с липидным составом, включающим фосфатидилхолин, холестерин и ПЭГилированный фосфатидилэтаноламин (ПЭГ-РЕ). Липосомы выдавливаются с помощью фильтров с определенным размером пор, для получения липосом с требуемым диаметром.

Биспецифическое антитело или кодирующие нуклеиновые кислоты могут также быть заключены в микрокапсулы, подготовленные, например, с помощью образования коацерватов или путем полимеризации на границе фаз, например, гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и поли(метилметакрилатные) микрокапсулы, соответственно, в коллоидные системы доставки лекарственных препаратов (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и микрокапсулы) или макроэмульсии. Такие методы известны на существующем уровне техники, см., например, Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing (2000).

В других примерах фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, может быть сформулирована в формате с постепенным высвобождением. К числу подходящих примеров препаратов с постепенным высвобождением относятся полупроницаемые матрицы твердых гидрофобных полимеров, содержащих антитела, которые представляют собой форму профилированных изделий, например, пленок или микрокапсул. Примеры матриц с постепенным высвобождением включают полиэферы, гидрогели (например, поли(2-гидроксиэтилметакрилат), или поли(виниловый спирт)), полилактиды (патент США № 3773919), кополимеры L-глутаминовой кислоты и 7-этил-L-глутамата, неразлагаемый этиленвинилацетат, разлагаемые кополимеры молочной и гликолевой кислот, такие как LUPRON DEPOT™ (инъекцируемые микросферы, состоящие из кополимера молочной и гликолевой кислот и лейпролида ацетата), сахарозы ацетат изобутират и поли-D-(-)-3-гидроксипропановая кислота.

Фармацевтические композиции, используемые для введения *in vivo*, должны быть стерильными. Это легко достигается, например, путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны. Лечебные композиции, содержащие антитела, как правило, помещены в контейнер с портом стерильного доступа, например в мешок для внутривенного раствора или флакон с крышкой, протыкаемой иглой для подкожных инъекций.

Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут иметь различные единицы дозировки, такие как таблетки, пилюли, капсулы, порошки, гранулы, растворы или суспензии, или суппозитории для перорального, парентерального или ректального введения или введения путем ингаляции или инсуффляции.

Для подготовки твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент может быть смешан с фармацевтическим носителем, например, с обычными ингредиентами таблеток, такими как кукурузный крахмал, лактоза, сахароза, сорбитол, тальк, стеариновая кислота, стеарат магния, дикальцийфосфат или смолы, и другие фармацевтические разбавители, например вода, для образования твердой композиции до придания лекарственной формы, содержащей однородную смесь соединения согласно настоящему изобретению или его нетоксичной фармацевтически приемлемой соли. Однород-

ность композиции до придания ей лекарственной формы предполагает, что активный ингредиент равномерно распределен по всей композиции, так что композицию можно легко разделить на равноэффективные формы единичной дозировки, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Эта твердая композиция до придания лекарственной формы затем делится на формы дозировки, описанные выше, содержащие от 0,1 до примерно 500 мг активного ингредиента согласно настоящему изобретению. Таблетки или пилюли этой инновационной композиции могут быть покрыты оболочкой или иным образом обработаны, чтобы предоставить дозировку, которая дает преимущество длительного действия. Например, таблетка или пилюля могут включать компоненты внутренней и внешней дозировки, причем последний представляет собой оболочку первого. Эти два компонента могут быть разделены желудочно-резистентным слоем, который не распадается в желудке и позволяет внутреннему компоненту поступать в двенадцатиперстную кишку или задерживает его высвобождение. Для таких желудочно-резистентных слоев или покрытий могут использоваться различные материалы, включая ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

К подходящим поверхностно-активным агентам относятся, в частности, неионные агенты, такие как полиоксиэтиленсорбитаны (например, Tween™ 20, 40, 60, 80 или 85) и другие сорбитаны (например, Span™ 20, 40, 60, 80 или 85). Композиции с поверхностно-активным агентом вполне могут содержать от 0,05 до 5% поверхностно-активного вещества, и могут содержать от 0,1 до 2,5%. Желательно, чтобы при необходимости была возможность добавлять и другие ингредиенты, например, маннитол или другие фармацевтически приемлемые носители.

Подходящие эмульсии могут быть подготовлены с применением коммерчески доступных жировых эмульсий, таких как Intralipid™, Liposyn™, Infonutrol™, Lipofundin™ и Lipiphysan™. Активный ингредиент может быть либо растворен в предварительно смешанной эмульсионной композиции, либо, альтернативно, он может быть растворен в масле (например, соевом масле, сафлоровом масле, хлопковом масле, кунжутном масле, кукурузном масле или миндальном масле), а также эмульсии, образованной при смешении фосфолипида (например, яичного фосфолипида, соевого фосфолипида или соевого лецитина) и воды. Желательно, чтобы при необходимости можно было добавить другие ингредиенты, например, глицерин или глюкозу для регулировки тоничности эмульсии. Подходящие эмульсии обычно содержат до 20% масла, например, от 5 до 20%. Жировая эмульсия может включать жировые капли в диапазоне от 0,1 до 1,0 мкм, особенно 0,1 и 0,5 мкм, и имеет pH в диапазоне от 5,5 до 8,0.

Эмульсионные композиции могут быть подготовлены путем смешивания биспецифических антител с Intralipid™ или его компонентами (соевое масло, яичные фосфолипиды, глицерин и вода).

Фармацевтические композиции для ингаляции или инсуффляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях, их смеси, а также порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые эксципиенты, как указано выше. В некоторых вариантах осуществления композиции через оральный или назальный дыхательный тракт для обеспечения местного или системного эффекта.

Составы, предпочтительно в стерильном фармацевтически приемлемом растворителе, могут распыляться с помощью газов. Распыляемые растворы могут вдыхаться непосредственно с распыляющего устройства, или распыляющее устройство может быть прикреплено к лицевой маске, кислородной палатке или аппарату для вентиляции легких с положительным перемежающимся давлением. Раствор, суспензия или порошковые композиции могут быть введены, предпочтительно орально или назально, с помощью аппаратов, которые доставляют препарат надлежащим способом.

(ii) Лечение болезней

Биспецифические антитела (или кодирующие нуклеиновые кислоты или наборы нуклеиновых кислот), описанные в настоящем документе, могут применяться для лечения заболевания или расстройства, связанных с одним или обоими антигенами, с которыми связывается биспецифическое антитело. Например, если биспецифическое антитело способно приражаться и блокировать активность pKal и FXIIa, оно может использоваться для лечения болезней, связанных с нарушением регуляции системы контактной активации, например НАО и тромбоза.

НАО (включая НАО типа I, типа II и типа III) представляет собой расстройство, характерное для периодических приступов острой отечности, например, конечностей, лица, пищеварительного и дыхательного путей. НАО может быть вызван незначительными травмами или стрессом. Отечность желудочно-кишечного тракта, вызванная приступом НАО, может вызывать сильную боль в животе, тошноту и рвоту. Отечность дыхательных путей может ограничивать дыхание и приводить к помехам в дыхательных путях, представляющим угрозу жизни.

Термин "тромбоз" (например, венозный тромбоз или артериальный тромбоз) относится к формированию кровяных сгустков внутри кровеносного сосуда, который может мешать потоку крови по системе ее циркуляции. К тромбозам может относиться тромбоз, связанный с фибрилляцией предсердий, ТГВ, легочной эмболией, инсультом или другими артериальными или венозными тромботическими синдромами.

Для практического применения метода, описанного в настоящем документе, эффективное количе-

ство фармацевтической композиции, о которой говорилось выше, может быть введено субъекту (например, человеку), нуждающемуся в лечении, подходящим способом, таким, как внутривенное введение, например, в виде болюсов или непрерывного введения в течение некоторого периода времени, а также внутримышечно, интраперитонеально, интрацеребрально, подкожно, интраартикулярно, интраспинально, интратекально, орально, путем ингаляции или наружным способом. Для введения могут использоваться коммерчески доступные небулайзеры для распыления жидких композиций, включая струйные небулайзеры и ультразвуковые небулайзеры. Жидкие композиции могут быть непосредственно распылены, а лиофилизированный порошок может быть распылен после растворения. Альтернативно, биспецифические антитела, описанные в настоящем документе, могут быть аэрозольно распылены с применением фторуглеродной лекарственной формы и дозирующего ингалятора либо могут вдыхаться в виде лиофилизированного и исмелченного порошка.

Субъект, подвергающийся лечению способами, описанными в настоящем документе, может представлять собой млекопитающее, более предпочтительно человека. К млекопитающим относятся, не ограничиваясь нижеперечисленным, сельскохозяйственные животные, спортивные животные, домашние животные, приматы, лошади, собаки, кошки, мыши и крысы. Человек, нуждающийся в лечении, может быть больным, с риском развития или с подозрением на целевое заболевание/расстройство, например, НАО или тромбоз. В некоторых вариантах осуществления тромбоз ассоциируется с фибрилляцией предсердий, тромбозом глубоких вен (ТГВ), легочной эмболией, инсультом или формированием артериального или венозного тромба. Субъект, имеющий целевое заболевание или расстройство, может быть идентифицирован на основе обычного медицинского освидетельствования, например лабораторных тестов, функциональных исследований органов, томографии или ультразвукового обследования. Субъект с подозрением на какое-либо из указанных целевых заболеваний/расстройств, может демонстрировать один или несколько симптомов заболевания/расстройства. Субъект, подверженный риску заболевания/расстройства, может быть субъектом, подвергающимся одному или нескольким факторам риска развития этой болезни/расстройства.

Термин "эффективное количество", используемый в настоящем документе, относится к количеству каждого активного вещества, необходимого для обеспечения терапевтического воздействия на субъект, самого по себе либо в сочетании с одним или несколькими другими активными веществами. Эффективные количества варьируют, как это понятно квалифицированному специалисту в данной области техники, в зависимости от конкретного излечиваемого состояния, степени тяжести состояния, индивидуальных параметров пациента, включая возраст, физическое состояние, размер, пол и вес, продолжительности лечения, характера параллельной терапии (если таковая присутствует), конкретного способа введения и подобных факторов, сведения о которых входят в область знаний и компетенций врачей-терапевтов. Эти факторы хорошо известны квалифицированному специалисту в данной области техники и могут быть учтены без выхода за рамки рутинных исследовательских работ. Как правило, предпочтительным считается применение максимальной дозы отдельных компонентов или их комбинаций, т.е. наибольшей безопасной дозы в соответствии с разумным медицинским назначением. Тем не менее, как понятно специалисту в данной области техники, пациент может настаивать на более низкой дозе или более переносимой дозе по медицинским причинам, психологическим причинам или практически любым другим причинам.

Эмпирические соображения, такие как период полувыведения, как правило, будут влиять на определение дозировки. Например, антитела, совместимые с иммунной системой человека, такие как гуманизированные антитела или полностью человеческие антитела, могут использоваться для продления периода полувыведения антитела и для предотвращения атаки антител со стороны иммунной системы организма-хозяина. Частота введения может быть определена и скорректирована с учетом курса терапии и, как правило, но не обязательно, основана на лечении и/или подавлении и/или смягчении и/или задержки развития целевого заболевания/расстройства. Альтернативно, подходящим может оказаться лекарственная форма с постепенным высвобождением биспецифического антитела. На существующем уровне техники известны различные лекарственные формы и аппараты для обеспечения постепенного высвобождения.

В одном из примеров дозировка биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, может определяться эмпирически на отдельных субъектах, которым было введено антитело один или несколько раз. Отдельным субъектам вводятся возрастающие дозы антагониста. Для оценки эффективности антагониста можно отслеживать изменения индикатора заболевания/расстройства.

Как правило, при введении любого из описанных в настоящем документе антител первоначальная предполагаемая доза может составлять около 2 мг/кг. Для целей настоящего изобретения типичная ежедневная доза может варьироваться от 0,1 до 3 мкг/кг, до 30 мкг/кг, до 300 мкг/кг, до 3 мг/кг, до 30 мг/кг, до 100 мг/кг или более, в зависимости от вышеупомянутых факторов. В случае неоднократного введения в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение поддерживается до тех пор, пока не произойдет желаемого подавления симптомов или до тех пор, пока не будут обеспечены терапевтические уровни, достаточные для облегчения заболевания или расстройства или его симптомов. Пример режима дозирования включает в себя введение начальной дозы примерно 2 мг/кг, за которым

следует еженедельная поддерживающая доза примерно 1 мг/кг антитела, или поддерживающая доза примерно 1 мг/кг один раз в две недели. Однако другие режимы дозирования могут быть полезны, в зависимости от схемы фармакокинетического распада, которую этот врач желает достичь. Например, предусматривается дозирование, начиная с 1-4 раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления может использоваться дозировка, варьирующая от примерно 3 мкг/мг до примерно 2 мг/кг (например, около 3 мкг/мг, около 10 мкг/мг, около 30 мкг/мг, около 100 мкг/мг, около 300 мкг/мг, около 1 мг/кг и около 2 мг/кг). В некоторых вариантах осуществления частота дозировки составляет один раз в неделю, каждые 2 недели, каждые 4 недели, каждые 5 недель, каждые 6 недель, каждые 7 недель, каждые 8 недель, каждые 9 недель или каждые 10 недель; или один раз в месяц, каждые два месяца или каждые три месяца или реже. Прогресс в этом лечении легко контролируется традиционными способами и анализами. Режим дозирования (включая используемые антитела) может варьироваться со временем.

В некоторых вариантах осуществления взрослому пациенту с нормальным весом могут вводиться дозы в диапазоне от примерно 0,3 до 5,00 мг/кг. Конкретный режим дозировки, т.е. доза, время и повторяемость, будет зависеть от конкретного субъекта и его истории болезни этого, а также от свойств отдельных веществ (таких, как период полувыведения вещества и другие факторы, хорошо известные на существующем уровне техники).

Для целей настоящего изобретения соответствующая доза биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, будет зависеть от конкретных антител (или их композиций), типа и тяжести болезни/расстройства, от того, вводятся ли антитела в профилактических или терапевтических целях, предшествующего лечения, истории болезни пациента и реакции на антагониста, а также от предписаний лечащего врача. Как правило, врачи будут вводить биспецифическое антитело, пока не будет достигнута дозировка, обеспечивающая желаемый результат. Введение одного или нескольких биспецифических антител может быть непрерывным или периодическим, в зависимости, например, от физиологического состояния реципиента, от того, является ли цель введения терапевтической или профилактической, а также от других факторов, известных квалифицированным специалистам в данной области техники. Введение биспецифического антитела может быть существенно непрерывной в течение предустановленного периода времени или может представлять собой серию распределенных доз, например, до, во время или после развития целевого заболевания или расстройства.

Термин "лечение", используемый в настоящем документе, относится к применению или введению композиции, включающей одно или более активных веществ субъекту, имеющего целевое заболевание или расстройство, симптом заболевания/расстройства или предрасположенность к заболеванию/расстройству, с целью лечения, исцеления, облегчения, ослабления, модификации, устранения, улучшения, корректировки или воздействия на расстройство, симптом заболевания или предрасположенность к заболеванию или расстройству.

Облегчение заболевания/расстройства включает в себя задержку в развитии или прогрессировании этого заболевания или снижение тяжести заболевания. Облегчение болезни необязательно включает в себя исцеление. Термин "задержка" развития целевого заболевания или расстройства в настоящем документе означает отсрочку, затруднение, замедление, снижение темпа, стабилизацию и/или торможение прогрессирования этого заболевания. Задержка может быть различной продолжительности, в зависимости от истории болезни и/или субъектов, к которым применяется лечение. Под способом, "задерживающим" или облегчающим развитие болезни, или задерживающим начало заболевания, подразумевается способ, который уменьшает вероятность разработки одного или более симптомов заболевания в данный промежуток времени и/или уменьшает степень выраженности симптомов в данный промежуток времени, по сравнению со случаем, когда способ не используется. Такие сопоставления обычно основываются на клинических исследованиях, включающих число субъектов, достаточное для того, чтобы дать статистически значимый результат.

Термины "развитие" или "прогрессирование" болезни означают первоначальные проявления и/или последующее прогрессирование болезни. Развитие болезни может быть обнаружено и оценено с применением стандартных клинических методов, хорошо известных на существующем уровне техники. Однако термин "развитие" также касается прогрессирования, которое может быть необнаружимым. Для целей настоящего изобретения, термины "развитие" или "прогрессирование" относятся к биологическому ходу изменения симптомов. Термин "развитие" включает проявление, повторное проявление и наступление. В настоящем документе термины "наступление" или "проявление" целевого заболевания или расстройства включают начальное и/или повторное проявление.

В некоторых вариантах осуществления биспецифическое антитело, описанное в настоящем документе, вводится субъекту, нуждающемуся в лечении, в количестве, достаточном для того, чтобы ингибировать активность одного или обоих целевых антигенов по меньшей мере на 20% (например, на 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более) *in vivo*. В других вариантах осуществления антитело вводится в количестве, эффективно снижающем уровень одного или обоих целевых антигенов по крайней мере на 20% (например, на 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или более).

Обычные методы, известные на существующем уровне техники, могут использоваться для введения фармацевтической композиции субъекту в зависимости от вида заболевания, подлежащего лечению, или

от локализации заболевания. Композиция может также быть введена другими обычными способами, например, орально, парентерально, вдыханием аэрозолей, местно наружно, ректально, назально, буккально, вагинально или с помощью имплантированного резервуара. Термин "парентеральный", используемый в настоящем документе, включает подкожные, внутрикожные, внутривенные, внутримышечные, интраартикулярные, внутриартериальные, интрасиновиальные, внутригрудинные, интратекальные, внутриочаговые и внутричерепные инъекции или инфузионные способы. Дополнительно она может быть введена субъекту посредством инъекции веществ замедленного всасывания, например, с применением инъекруемых веществ с 1-, 3-или 6-месячным сроком всасывания или биоразлагаемых материалов и способов.

Инъектируемые композиции могут содержать различные носители, например, растительные масла, диметилаксамид, диметилформамид, этиллактат, этилкарбонат, изопропилмирилат, этанол и многоатомные спирты (глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п.). Для внутривенных инъекций, растворимые в воде антитела могут быть введены с помощью капельницы, причем инфузируются фармацевтическая композиция, содержащая антитела и физиологически приемлемые эксципиенты. Физиологически приемлемые эксципиенты могут включать, например, 5% декстрозу, 0,9% соляной раствор, раствор Рингера или другие подходящие эксципиенты. Внутримышечные препараты, например, стерильная форма подходящей растворимой соли антитела, могут быть растворены и введены в фармацевтическом эксципенте, например, в воде для инъекций, 0,9% соляном растворе или 5% растворе глюкозы.

В одном из вариантов осуществления биспецифическое антитело вводится с помощью сайт-специфичных или местных направленных способов. К числу примеров способов сайт-специфичной или местной направленной доставки относятся различные имплантируемые депо биспецифических антител или катетеры местного введения, например, инфузионные катетеры, вживленные катетеры или игольные катетеры, синтетические импланты, адвентиальные оболочки, шунты и стенты, а также другие имплантируемые устройства, сайт-специфичные носители, прямая инъекция или прямое нанесение. См. например, Договор о патентной кооперации № WO 00/53211 и патент США № 5981568.

Возможно также применение направленной доставки терапевтических композиций, содержащих антисмысловые полинуклеотиды, экспрессирующие векторы или субгеномные полинуклеотиды. Рецептор-опосредованные способы доставки ДНК описаны, например, в Findeis et al., *Trends Biotechnol.* (1993) 11:202; Chiou et al., *Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer* (J. A. Wolff, ed.) (1994); Wu et al., *J. Biol. Chem.* (1988) 263:621; Wu et al., *J. Biol. Chem.* (1994) 269:542; Zenke et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1990) 87:3655; , *J. Biol. Chem.* (1991) 266:338.

Терапевтические композиции, содержащие полинуклеотиды (например, кодирующие биспецифические антитела, описанные в настоящем документе), вводятся в количестве от примерно 100 нг до примерно 200 мг ДНК в случае местного введения в протоколе генной терапии. В некоторых вариантах осуществления в протоколе генной терапии могут также использоваться диапазоны концентрации от примерно 500 нг до примерно 50 мг, от примерно 1 мкг до примерно 2 мг, от примерно 5 до примерно 500 мкг и от примерно 20 до примерно 100 мкг ДНК или более.

Описываемые в настоящем документе терапевтические полинуклеотиды и полипептиды могут быть доставлены с применением средств генной доставки. Средство доставки генов может быть вирусного или невирусного происхождения (см. обзоры Jolly, *Cancer Gene Therapy* (1994) 1:51; Kimura, *Human Gene Therapy* (1994) 5:845; Connelly, *Human Gene Therapy* (1995) 1:185; and Kaplitt, *Nature Genetics* (1994) 6:148). Экспрессия таких кодирующих последовательностей может быть индуцирована с применением эндогенных промоторов и/или энхансеров млекопитающих или гетерологичных промоторов и/или энхансеров. Экспрессия кодирующей последовательности может быть конститутивной либо регулируемой.

Векторы вирусного происхождения для доставки желаемого полинуклеотида и экспрессии в желаемой клетке хорошо известны на существующем уровне техники. Примеры средств вирусного происхождения включают в себя, не ограничиваясь нижеперечисленным, рекомбинантные ретровирусы (см., например, Договоры о патентной кооперации №№ WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/25234; WO 93/11230; WO 93/10218; WO 91/02805; патенты США Nos. 5219740 и 4777127; патент Великобритании № 2,200,651; и Европейский патент № 0345242), векторы на основе альфавирусов (например, вектора на основе вируса Синдбис, вируса леса Семлики (ATCC VR-67; ATCC VR-1247), вируса Росс-Ривер (ATCC VR-373; ATCC VR-1246) и вируса венесуэльского энцефалита лошадей (ATCC VR-923; ATCC VR-1250; ATCC VR 1249; ATCC VR-532)), а также векторы на основе аденоассоциированного вируса (AAV) (см., например, Договора о патентной кооперации №№ WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 and WO 95/00655). Введение ДНК, связанной с убитым аденовирусом, описанное, например, в Curiel, *Hum. Gene Ther.* (1992) 3:147, также может быть применено.

Кроме того, можно использовать невирусные средства и способы, включая, не ограничиваясь нижеперечисленным, поликатионные конденсированные ДНК, связанные или не связанные с убитыми аденовирусами самими по себе (см., например, Curiel, *Hum. Gene Ther.* (1992) 3:147); лиганд-ассоциированные ДНК (см. например, Wu, *J. Biol. Chem.* (1989) 264:16985); эукариотические средства доставки (см. например, патент США № 5814482; Договора о патентной кооперации №№ WO 95/07994; WO 96/17072; WO 95/307 63; and WO 97/42338) и нейтрализацию заряда нуклеиновых кислот или слия-

ние с клеточными мембранами. Можно также использовать депротеинизированную ДНК. Примеры способов введения депротеинизированной ДНК описаны в Договоре о патентной кооперации № WO 90/11092 and патенте США № 5580859. Липосомы, которые могут выступать в качестве средств генной доставки, описаны в патенте США № 5422120; Договорах о патентной кооперации №№ WO 95/13796; WO 94/23697; WO 91/14445 и европейском патенте № 0524968. Дополнительные подходы описаны в Philip, Mol. Cell. Biol. (1994) 14:2411, и в Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci. (1994) 91:1581.

Конкретный режим дозировки, т.е. доза, расписание и повторность, используемый в способе, описанном в настоящем документе, будет зависеть от конкретного субъекта и истории болезни данного субъекта.

В некоторых вариантах осуществления более одного биспецифического антитела или комбинация биспецифического антитела и другого подходящего терапевтического агента могут быть введены субъекту, нуждающемуся в лечении. Биспецифическое антитело также может использоваться совместно с другими агентами, которые служат для усиления и/или дополнения эффективности агентов.

Эффективность лечения в отношении целевого заболевания/расстройства может быть оценена с помощью способов, хорошо известных на существующем уровне техники.

Комплекты для использования при лечении целевых заболеваний

Настоящее изобретение также относится к комплектам для использования в целях смягчения целевых заболеваний или расстройств. Эти комплекты могут включать один или несколько контейнеров, содержащих одно или несколько биспецифических антител и/или одну или несколько изолированных нуклеиновых кислот или наборов нуклеиновых кислот, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления комплект может содержать инструкции по применению в соответствии с любым из описанных в настоящем документе способов. Включенные в комплект инструкции могут содержать описание введения биспецифического антитела для лечения, задержки наступления или облегчения целевого заболевания, например, НАО или тромбоза. Этот комплект может дополнительно включать описание выбора субъекта, подходящего для лечения, основанного на определении того, имеет ли этот субъект целевое заболевание. В других вариантах осуществления инструкции содержат описание введения антитела субъекту, подвергающемуся риску развития целевой болезни.

Инструкции, касающиеся использования биспецифического антитела, описанного в настоящем документе, как правило, содержат информацию о дозировке, графике введения и способе введения при предполагаемом лечении. Контейнеры могут представлять собой единичные дозы, упаковки крупных партий (например, многодозовые упаковки) или субдозовые упаковки. Инструкции, поставляемые в комплекте согласно изобретению, обычно представляют собой письменные инструкции на этикетке или вкладыше (например, бумажный лист, вложенный в комплект), однако также допустимы машинно-читаемые инструкции (например, инструкции, записанные на магнитном или оптическом диске).

На этикетке или вкладыше указывается, что композиция используется для лечения, задержки наступления и/или облегчения целевого заболевания или расстройства. Инструкции могут касаться использования любого из описанных в настоящем документе способов.

Комплекты этого изобретения имеют подходящую упаковку. Подходящая упаковка включает в себя, не ограничиваясь нижеперечисленным, флаконы, бутылки, банки, гибкие упаковки (например, запечатанные майларовые или пластиковые пакеты) и т.п. Также предусмотрена упаковка для использования в сочетании с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения (например, распылитель) или инфузионное устройство, например мини-насос. Комплект может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с крышкой, которую можно проткнуть иглой для подкожной инъекции). Контейнер также может иметь стерильный порт доступа (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенного раствора или флакон с крышкой, которую можно проткнуть иглой для подкожной инъекции). По крайней мере один из активных агентов в композиции представляет собой биспецифическое антитело, описанное в настоящем документе.

В комплекты могут необязательно входить дополнительные компоненты, такие как буферы и интерпретируемые сведения. Как правило, комплект включает контейнер и этикетку или вкладыш(и), находящиеся на контейнере или прикрепленные к нему. В некоторых вариантах осуществления изобретение предоставляет статьи изделия промышленного производства, включающие содержимое комплектов, описанных выше.

Общее описание способов

Практика настоящего изобретения будет использовать, если не указано иное, обычные способы молекулярной биологии (включая способы рекомбинантной технологии), микробиологии, клеточной биологии, биохимии и иммунологии, не выходящие за пределы существующего уровня техники. Такие методы в полной мере разъясняются в литературе, например, в Molecular Cloning: A Laboratory Manual, издание второе (Sambrook, et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle,

J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995).

Предполагается, что квалифицированный специалист в данной области техники может без дополнительных творческих усилий, основываясь на вышеприведенном описании, использовать настоящее изобретение в полной мере. Поэтому следующие конкретные варианты осуществления должны толковаться как исключительно иллюстративные, но не ограничивающие остальное описание изобретения каким бы то ни было образом. Все публикации, упоминаемые в настоящем документе, включены посредством ссылки для целей или по существу предмета, на который дается ссылка.

Пример 1. Конструкция и характеристика образца биспецифических антител, связывающих рKal и фактор XIIa

Несколько взятых для примера биспецифических антител против рKal и FXIIa, включая клоны X0120-A01, X0120-C01, X0120-E01, X0120-G01, X0121-A03, X0121-C01, X0121-E01, X0121-G01, X0122-A01 и X0122-C01 были сконструированы с применением DX-2930 и одного из анти-FXIIa клонов 559C-M0071-F06, 559C-M0184-B04, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02 и 559C-M0180-G03 в качестве антигенов-предшественников. См. табл. 2 ниже:

Таблица 2. Компоненты образцов биспецифических антител

Клоны биспецифических антител	Фрагмент анти-рKal	Фрагмент анти-FXIIa
X0120-A01	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0184-B04 (H→L), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0120-C01	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0184-B04 (L→H), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0120-E01	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0179-D04 (H→L), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0120-G01,	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0179-D04 (L→H), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0121-A03	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0181-C02 (H→L), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0121-C01	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0181-C02 (L→H), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0121-E01	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0180-G03 (H→L), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0121-G01	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0180-G03 (L→H), присоединенный к C-
		концу тяжелой цепи DX-2930
X0122-A01,	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0071-F06 (H→L), присоединенный к C-концу тяжелой цепи DX-2930
X0122-C01	DX-2930 (IgG)	scFv клона 559C-M0071-F06 (L→H), присоединенный к C-
		концу тяжелой цепи DX-2930

Среди анти-FXIIa клонов 559C-M0071-F06 является клоном-предшественником, 559C-M0184-B04 получен путем созревания аффинности HCDR1+2, а клоны 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02 и 559C-M0180-G03 получены в результате созревания аффинности легкой цепи.

Все клоны-образцы биспецифических антител, перечисленные в табл. 2 выше, являются тетравалентными молекулами, включающими четыре полипептидные цепи, в том числе две полипептидные цепи легкой цепи DX-2930 (SEQ ID NO: 10, приведена выше), и две химерных полипептидных цепи тяжелой цепи DX-2930 (за исключением лизинового остатка в шарнирном домене константной цепи), соединенные с scFv-цепью одного из клонов FXIIa. scFv-цепь каждого из пяти анти-FXIIa клонов была синтезирована как в ориентации "тяжелая-легкая" (H→L), так и в ориентации "легкая-тяжелая" (L→H). Во всех примерах scFv-цепей использовался внутренний линкер (GGGS)₄ (SEQ ID NO: 23). Цепи scFv были сконструированы таким образом, что первые две аминокислоты (RT) клонов с ориентацией "легкая-тяжелая" стояли в начале константного участка до начала линкерной последовательности. Клоны в ориентации "тяжелая-легкая" содержали только первую аминокислоту (R) из константного участка легкой цепи до стоп-кодонов.

Ниже перечислены аминокислотные последовательности химерных полипептидов каждого из образцов биспецифических антител:

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0120-A01 (SEQ ID NO: 11):

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVQRQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFY
 SMHWVRQAPGKGLEWVSRIPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 TRQRYRGPKYKYMDVWGKTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPE
 PASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
 RVEAEDVGVVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0120-C01 (SEQ ID NO: 12):

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVQRQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNS
 GYNLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQA
 LQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
 FTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED
 TAVYYCTRQRYRGPKYKYMDVWGKTTTVTVSS

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0120-E01 (SEQ ID NO: 13):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVWVQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY
 IMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 TRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLTVAPGE
 PASISCRSSQSLLRNGHNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPERFSGSGSGTDFTLRIS
 RVEAEDVGVYCMQALQARTFGQGTKVEIKR

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0120-G01 (SEQ ID NO: 14):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVWVQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLTVAPGEPASISCRSSQSLLR
 NGHNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPERFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYCMQA
 LQARTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF
 TFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT
 AVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSS

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0121-A03 (SEQ ID NO: 15):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVWVQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY
 IMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 TRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLTPVTPGE
 PASISCRSSQSLLRNGHNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDFRFSGSGSGTDFTLKIS
 RVEAEDVGVYCMQALQTRTFGQGTKVEIKR

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0121-C01 (SEQ ID NO: 16):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVWVQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP

CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPTPGEPAISCRSSQSLLS
 NGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQA
 LQTRTFGQGTKEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF
 TFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT
 AVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSS

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0121-E01 (SEQ ID NO: 17):

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY
 IMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 TRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPTPGE
 PAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQIMYIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
 RVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTKEIKR

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0121-G01 (SEQ ID NO: 18):

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPTPGEPAISCRSSQSLLS
 NGYNYLDWYLQKPGQSPQIMYIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQA
 LQTPRTFGQGTKEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
 FTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAED
 TAVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSS

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0122-A01 (SEQ ID NO: 19):

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY
 IMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 TRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPTPGE
 PAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS
 RVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKR

Химерный полипептид "тяжелая цепь-scFv" клона биспецифического антитела X0122-C01 (SEQ ID NO: 20):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWRQA
 PGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVP
 RRDEFDIWQGTMVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKRVPEKSCDTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
 EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLHS
 NGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLSNRASGVPDFRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQA
 LQTPWTFGQTKVEIKRTGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
 FTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAED
 TAVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWGKGTITVTVSS

Для построения экспрессирующей кассеты для образцов биспецифических антител, описанных выше, кодирующие последовательности тяжелых и легких цепей DX-2930 были клонированы в вектор pRh1-СНО, модифицированный вставкой С-концевого SGGGS-линкера, соединенного с кодирующей последовательностью scFv. Линкерный участок содержал сайт рестрикции BamHI для эффективного клонирования последовательностей scFv. Пять анти-фактор XIIa клонов были выбраны для вставки в конструкцию через сайты рестрикции BamHI/XbaI.

Выделенные курсивом фрагменты вышеуказанных последовательностей относятся к сигнальным пептидам. Анти-pKal фрагмент биспецифического антитела, описанный в настоящем документе, может включать те же сигнальные пептиды, либо сигнальные пептиды могут быть удалены или заменены на другие сигнальные пептиды. Применение сигнальных пептидов для производства секретируемых белков широко известно на существующем уровне техники.

Нуклеотидные последовательности, кодирующие биспецифические антитела (в формате цистронного оперона), приводятся ниже:

X0120-A01 (SEQ ID NO: 24)

ATGGGATGGTCTGCATCATCTCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACCTCCGA
 CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCTGTCCGCTCTGTGGCGACAGAGTGACCATCACC
 TGTCGGGCTCCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCC
 CCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATCTCCGGCTC
 TGGCTCCGGCACCGAGTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTAC
 TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGA
 CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTATCTTCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGC
 CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGAC
 AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
 ACTCCCTGTCTTACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTG
 CGAAGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGTGTGA
 TGAGGCGCGCTTCGCGTTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATCCGCCCCCTCTCCCCCCCC
 CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
 TCCACCATATGCGCTCTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
 GCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
 AGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGCAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGG
 AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA
 AGGCGGCACAACCCAGTGCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAGAGTCAATGGCTCTC
 TTCAAGCGTATTAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATGTATGGGATCTGAT
 CTGGGGCTTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCC
 CGAACCCAGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATGATAATAGGCCACAACCATGGGAT
 GGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACCTCCGAGGTGCAATGTCT
 GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC

TTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCCTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAC
CATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
GGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCCGAGCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTCATACCTTCC
CTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGTGACCGTGCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGACAAG
CGGGTGAACCCAAGTCTTGCACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCCTGAAGTGTGG
GCGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCCCCAAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCTCCCGACCCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTAC
GTGGACGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG
CAAGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
CCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTATTCTTCCTG
TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCCTACACCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGAAGTCTGG
CGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGTGGAAGCGGGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTG
AGACTGTCTTGCCTGCCAGCGGCTTACCTTACGCTTCTACAGCATGCACTGGGTCCGACAGG
CTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCTACCCCTCTGGCGGGCTGACCAAATACGC
CGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG
ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCC
CCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACAACCGTGACCGTGTCTAGCGGAGG
CGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGCAGCGACATCCAG
ATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAA
GCAGCCAGAGCCTGTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGG
CCAGTCCCCCAGCTGTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCGACAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGG
GCGTGTACTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGA
AATCAAGAGATGAATCTAGA

X0120-C01 (SEQ ID NO: 25)

ATGGGATGGTCCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGA
CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGCGACAGAGTACCATCACC

TGTCGGGCCTCCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC
CCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTC
TGGCTCCGGCACCGAGTTCACCTTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCAGCAGACTTCGCCACCTAC
TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGA
CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGC
CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
ACTCCCTGTCTTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCCTG
CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCTGACCAAGTCCTTCAACGGGGCGAGTGTCTGA
TGAGGGCGCCCTTCGCGTTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGGCCCTCTCCCCCCCC
CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
TCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
GCATTCTTAGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
AGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGCTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGG
AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA
AGGCGGCACAACCCAGTCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAGAGTCAAATGGCTCTC
TTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGCTCTAGGCCCC
CGAACACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC
TTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCACTCCGTGAAGGGCCGGTTTAC
CATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCGTGTACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
GGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCTCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCC
CTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCGTACCGTGCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG
CGGGTGAACCCAAGTCTCGGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGG
GCGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTTAAATTGGTAC
GTGGACGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGGGAACAGTACAACCTCCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGGTACAAGTG
CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG

CCTCGGAGCCCCAGGTGTACACCCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
 CCCGTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
 CCAGCCCAGAACTACAAGACCACCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTCTG
 TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
 TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGG
 CGGAGGATCCGACATCCAGATGACCAGAGCCCTGAGCCTGCCGTGACACCTGGCAGCCT
 GCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACT
 GGTATCTGCAGAAGCCCGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAG
 CGGCGTGGCCGACAGATTTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTCACCCCTGAAGATCAGCCGG
 GTCGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCTGGACCTTCG
 GCCAGGGCACCAGGTGAAATCAAGCGGACAGCGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAGCGG
 AGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGCGGACTGGT
 CAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCTTCTACAGCA
 TGCCTGGTCCGACAGGCCCTGGCAAGGGCTGGAATGGGTGTCCCGGATCTACCCCTCTGG
 CGGCGTACCATAACGCCAGCGTGAAGGGCCGTTACCATCAGCCGGGACAAACAGCAAG
 AACACCCCTGTACTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCCTGTACTATTGCACCC
 GGCAGCGGTACAGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGCAAGGGCACCACCGT
 GACCGTGTCCAGCTGAATCTAGA

X0120-E01 (SEQ ID NO: 26)

ATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGA
 CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC
 TGTCCGGCCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC
 CCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCTCCAGATTCTCCGGCTC
 TGGCTCCGGCACCAGTTACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCGACGACTTCGCCACCTAC
 TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAATCAAGCGGA
 CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACC
 CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCAGGCAAGGTGCAGTGAAGGTGGAC
 AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
 ACTCCCTGTCTTACCCCTGACCCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCCTG
 CGAAGTGACCCACCAGGCGCTGTCCAGCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGTGA
 TGAGGGCGCCTTCGCGTGCAGCATGCATCTAGGGCGGCAATTCGGCCCTCTCCCCCCCC
 CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
 TCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
 GCATTCTAGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
 AGCAGTTCTCTGGAAGTCTTGAAGACAAACAGTCTGTAGCGACCCCTTGCAGGCAGCGG
 AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA

AGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTC
TTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCC
CGAACACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC
TTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGGCATCTACTCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTAC
CATCTCTCGGGACAACCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACCTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCGGTGTACTACTGCGCCTACCGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
GGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGTGTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCCGAGCCGTGACCGTGTCTGGAACCTGTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCC
CTGGCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG
CGGGTGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCCTGAACCTGCTGG
GCGGACCCAGCGTGTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTAATTTGGTAC
GTGGACGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG
CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
CCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTATTCTTCTCTG
TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGG
CGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAGCGGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTG
AGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGG
CTCCAGGCAAGGGCCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGGCGCATCACCGTGTACGC
CGACAGCGTGAAGGGCCGGTTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG
ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCC
CCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCGTTGACCGTGTCTAGCGGAGG
CGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAG
ATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGAGCGTGGCACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAA
GCAGCCAGAGCCTGCTGCACCGGAACGGCCACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGG
CCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCGAGAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTACCTTCCGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGG
GCGTGTACTATTGCATGCAGGCTCTGCAGGCCAGAACCCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAT
CAAGAGATGAATCTAGA

X0120-G01 (SEQ ID NO: 27)

ATGGGATGGTCCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGA
CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC
TGTCCGGCCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC
CCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTC
TGGCTCCGGCACCAGATTCCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCAGACTTCGCCACCTAC
TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGAAATCAAGCGGA
CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGC
CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
ACTCCCTGTCTCTACCCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCCTG
CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGA
TGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCCCTCTCCCCCCCC
CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
TCCACCATATTGCGCTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
GCATTCTTAGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
AGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCGCGG
AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATAACCTGCAA
AGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAGAGTCAAATGGCTCTC
TTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCC
CGAACACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCCTCCGGC
TTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTAC
CATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCCGTGACTACTGCGCCTACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTGCACATCT
GGGGGCGAGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCCTCCACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGACATACCTTCC
CTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCGTACCGTGCCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGACAAG

CGGGTGGAAACCAAGTCCCTGCGACACCCACACCTGTCCCCTTGCCCTGCCCCTGAACGTCTGG
GCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCTCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG
CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCTCGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
CCAGCCCAGAACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCCTTCTCTG
TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTCTCTCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGG
CGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGAGCGTGGCACCTGGCGAGCCT
GCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGTGCACCGGAACGGCCACAACCTACCTGGACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAG
CGGCGTGCAGAGATTGAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGCGGATCAGCCGG
GTCGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCTCTGCAGGCCAGAACCTTCGGCC
AGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGCGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG
CGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCAGCTGAGACTGTCTTGGCCGCCAGCGGCTTACCCTCAGCGGCTACATCATGG
CCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCAGCGGCGG
CATCACCGTGTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAAC
ACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACCCGGC
AGCGGTACAGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCGTGAC
CGTGTCCAGCTGAATCTAGA

X0121-A03 (SEQ ID NO: 28)

ATGGGATGGTCCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACCTCCGA
CATCCAGATGACCCAGTCCCCTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC
TGTCCGGCCCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC
CCAAGCTGTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTC
TGGCTCCGGCACCGAGTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCGACGACTTCGCCACCTAC
TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGA
CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGC
CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
ACTCCCTGTCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCCTG
CGAAGTGACCCACAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGGAGTGTGA

TGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCC
CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
TCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
GCATTCTTAGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTGCGTGAAGGA
AGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTGCAGGCAGCGG
AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA
AGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTC
TTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCC
CGAACCCAGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCCTCCGGC
TTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTAC
CATCTCTCGGGACAACCTCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCGTGTACTACTGCGCTACCGGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCCGACATCT
GGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGCCCCCTGTGTTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGTGTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCC
CTGCCGTGTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCGTGACCGTGCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCAACACCAAAGTGGACAAG
CGGGTGGAAACCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCTGCCCCTGAAGTGTGG
GCGGACCCAGCGTGTCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAAAGTGAAGTTAATGGTAC
GTGGACGGCGTGGAAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG
CAAGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
CCAGCCCAGAACAACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTG
TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGG
CGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGTGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTG
AGACTGTCTTGGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGG
CTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGC
CGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAG
ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCC
CCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTAGCGGAGG
CGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGACGACATCCAG
ATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAA
GCAGCCAGAGCCTGTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCCG
CCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGGCCGACAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGG
GCGTGTACTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAAT
CAAGAGATGAATCTAGA

X0121-C01 (SEQ ID NO: 29)

ATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGA
CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC
TGTCCGGCCTCCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCC
CCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTC
TGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCAGCACTTCGCCACCTAC
TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGA
CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCCG
CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAAGTGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
ACTCCCTGTCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCCTG
CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGA
TGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGGCCCTCTCCCCCCCCC
CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
TCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
GCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
AGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTCGAGGCAGCGG
AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA
AGGCGGCACAACCCAGTGCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAGAGTCAAATGGCTCTC
TTC AAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCC
CGAACACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC
TTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTAC
CATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC

ACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
GGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGCGCGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCC
CTGCCGTGCTCCAGTCTCCGCGCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCTCCAGTCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG
CGGGTGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCCTGAAGTGTGG
GCGGACCCAGCGTGTCTGTTCCTCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTAC
GTGGACGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGCACCGAGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG
CAAGGTGTCCAACAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
CCAGCCCAGAACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTG
TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGGA
TGACAGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGG
CGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCGTGACACCTGGCGAGCCT
GCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGCCAGTCCCCCAGCTGTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAG
CGGCGTCCCCGACAGATTGAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGG
GTCGAAGCCGAGGACGTGGCGGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCGGACCTTCGGCC
AGGGCACCAGGTGAAAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG
CGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAG
CCTGGCGGCGAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGG
CCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGG
CATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAAC
ACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACCCGGC
AGCGGTACAGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCGTGAC
CGTGCCAGCTGAATCTAGA

X0121-E01 (SEQ ID NO: 30)

ATGGGATGGTCTGCATCATCTCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGA
CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC
TGTCGGGCCCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC
CCAAGCTGTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCTCCAGATTCTCCGGCTC
TGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTAC

TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGA
CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACC
CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
ACTCCCTGTCTTCTACCCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTG
CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGTGA
TGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCCCTCTCCCCCCCC
CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
TCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
GCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
AGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTCAGGCAGCGG
AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA
AGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAAGTCAAATGGCTCTC
TTC AAGCGTATTCAACAAGGGGTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGCTAGGCCCCC
CGAACCCAGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCTTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC
TTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGTGGAATGG
TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTAC
CATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCCGTGTACTACTGCGCTACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
GGGGGAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCC
CTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCGTGACCGTGCCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG
CGGGTGAACCCAAGTCTTGCAGACCCACACCTGTCCCCCTTGCCTGCCCCCTGAACTGCTGG
GCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTAC
GTGACGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGT
CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCTCGCGAGCCCAAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
CCAGCCCAGAACAACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTTCTG

TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGG
CGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTG
AGACTGTCTTGGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGG
CTCCAGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCAGCGGGCGGCATCACCGTGTACGC
CGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG
ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCC
CCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTAGCGGAGG
CGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGGGAGGCAGCGACATCCAG
ATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAA
GCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCCG
CCAGTCCCCCAGATCATGATCTACCTGGGAGCAACAGAGCCAGCGGGTGCACGACAGATTC
AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGG
GCGTGTACTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCCAGAACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGA
AATCAAGAGATGAATCTAGA

X0121-G01 (SEQ ID NO: 31)

ATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGA
CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCTGTCCGCTCTGTGGGGCAGAGTGCACATCAC
TGTCCGGCCCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCC
CCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCTCCAGATTCTCCGGCTC
TGGTCCGGCACCGAGTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCGACGACTTCGCCACCTAC
TACTGCCAGCAGTACAACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGA
CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCTCCGACGAGCAGTGAAGTCCGGCACCGC
CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
ACTCCCTGTCTCTACCTGACCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTG
CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCCTCAACCGGGGCGAGTGTGA
TGAGGCGCGCCTTCGCGTGCAGCATGCATCTAGGGCGGCAATTCGCGCCCTCTCCCCCCCC
CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
TCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
GCATTCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
AGCAGTTCCTTGGAAGCTTCTTGAAGACAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTGCAGGCAGCGG
AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGATAAGATACACCTGCAA
AGGCGGCACAACCCAGTCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTC
TTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCATTGTATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCC

CGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCCTGCATCATCTGTTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC
TTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTAC
CATCTCTCGGGACAACCTCCAAGAACACCTGTACTCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCGTGTACTACTGCGCCTACCGGGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
GGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTTGCGCCCTGACCAGCGGAGTGACATACCTTCC
CTGCCGTGTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGTGGACAAG
CGGGTGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGTG
GCGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCGGACCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCTGAAGTGAAGTTAATTGGTAC
GTGGACGGCGTGGAAGTGATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCACCT
ACCGGGTGGTGTCCGTGTGACCGTGTGCACCCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGT
CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
CCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
CCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTCCTG
TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTCTCTCTGCTCCGTGA
TGACAGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCGGCAAGTCTGG
CGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACACCTGGCGAGCCT
GCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACT
GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGATCATGATCTACCTGGGCGCAACAGAGCCAG
CGGCGTGCCCGACAGATTAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTACCCCTGAAGATCAGCCGG
GTCGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCCAGAACCTTCG
GCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAGCGG
AGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGT
CAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTACGCGGCTACATCA
TGGCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCAGCGG
CGGCATCACCGTGTACGCCAGACGCTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
AACACCCTGTACTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTATTGACCC
GGCAGCGGTACAGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGT
GACCGTGTCCAGCTGAATCTAGA

X0122-A01 (SEQ ID NO: 32)

ATGGGATGGTCCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGA
CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC
TGTCCGGCCCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAGGCC
CCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGATTCTCCGGCTC
TGGCTCCGGCACCAGTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTAC
TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGA
CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGC
CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGAC
AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
ACTCCCTGTCTTACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCCTG
CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGTGTGA
TGAGGCGCGCCTTCGCGTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCCCTCTCCCCCCCC
CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
TCCACCATATFGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA
GCATTCCTAGGGGTCTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
AGCAGTTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTCGAGCGACGG
AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCCTCTCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA
AGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTC
TTCAAGCGTATTCACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATGTATGGGATCTGAT
CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCC
CGAACCACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
GGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC
TTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTAC
CATCTCTCGGGACAACCTCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
ACCGCCGTGTACTACTGCGCTACCGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
GGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCGCT
AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCCTGCTCTGGGCTGCCCTCGTCAAGGACTAC
TTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCC
CTGCCGTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGTCGACCGTGCCCTCCAGCTC
CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGACAAG
CGGGTGAACCAAGTCTTGCACACCCACACCTGTCCCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGG
GCGGACCCAGCGTGTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCC
CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTAC

GTGGACGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT
 ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG
 CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
 CCTCGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
 CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
 CCAGCCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCTG
 TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
 TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGG
 CGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGTGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTG
 AGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGG
 CTCCAGCCAAGCGCCTGGAATGGGTCTCTACATCTACCCAGCGCGCCATCACCGTCTACGC
 CGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCGTACCTGCAG
 ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCC
 CCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTAGCGGAGG
 CGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGAGGCAGCGACATCCAG
 ATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAA
 GCAGCCAGAGCCTGTGCACAGCAACGGCTACAACACTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGG
 CCAGTCCCCCAGCTGTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCGACAGATTC
 AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGG
 GCGTGTACTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGA
 AATCAAGAGATGAATCTAGA

X0122-C01 (SEQ ID NO: 33)

ATGGGATGGTCCCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGA
 CATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACC
 TGTGGGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCC
 CCAAGCTGTGATCTACAAGGCCAGCACCCCTGGAATCCGGCGTGCCTCCAGATTCCTCCGGCTC
 TGGCTCCGGCACCGAGTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTAC
 TACTGCCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAGGTGGAATCAAGCGGA
 CCGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCACCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGC
 CTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGCGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGAC
 AACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCT
 ACTCCCTGTCTCTACCCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCCTG
 CGAAGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGCGAGTGTGTA
 TGAGGCGCGCCTTCGCGTTCGAGCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGGCCCTCTCCCCCCCCC
 CCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGCCGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTT
 TCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGTCTTCTTGACGA

GCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGA
 AGCAGTTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGG
 AACCCCCACCTGGCGACAGGTGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAA
 AGGGCGCACAAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGATAGTTGTGAAAAGAGTCAAATGGCTCTC
 TTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTATGGGATCTGAT
 CTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCC
 CGAACCCAGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCATGGGAT
 GGTCTGCATCATCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCT
 GGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGC
 TTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGGGCTGGAATGGG
 TGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTAC
 CATCTCTCGGGACAACCTCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGAC
 ACCGCCGTGTACTACTGCGCCTACCGGGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCT
 GGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTCCACCAAGGGCCCTCTGTGTTCCCGCT
 AGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGTGTCTGGGCTGCCTCGTCAAGGACTAC
 TTCCCCGAGCCGTGACCGTGTCTGGAACCTGTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCC
 CTGGCGTGTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCTCCAGCTC
 CCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAG
 CGGGTGAACCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTCCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGTCTGG
 GCGGACCCAGCGTGTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCCGACCCC
 CGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTAC
 GTGGACGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT
 ACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTG
 CAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG
 CCTCGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGTGT
 CCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGG
 CCAGCCCAGAAACAACATAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTCTCTG
 TACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGA
 TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGG
 CGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGCACCTGGCGAGCCT
 GCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACT
 GGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAG
 CGGCGTGCCTGACAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGAAGATCAGCCGG
 GTCGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCTGGACCTTCG
 GCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGTGGAAGCGG
 AGGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGGGACTGGTG
 CAGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGGCCGCCAGCGGCTTCACTTACAGCGGTACATCA
 TGGCCTGGGTCCGACAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCAGCGG
 CGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
 AACACCTGTACTGTCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTATTGCACCC
 GGCAGCGGTACAGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCCCGT
 GACCGTGTCCAGCTGAATCTAGA

Были сконструированы экспрессирующие pRh1-плазмиды, кодирующие вышеуказанные биспецифические антитела. После стерилизующей фильтрации через 0,2-мкм фильтр плазмиды трансфицировали в 60 мл d1 культуры клеток Expi293F™, культивируемые в среде экспрессии Expi293™ с применением ExpiFectamine™ в качестве трансфекционного реагента, как описано в протоколе LifeTech (Life Technologies™, Карлсбад, Калифорния). Усилители трансфекции 1 и 2 ExpiFectamine™ добавляли на 2-й день культивирования, как описано в протоколе LifeTech. Культуры инкубировали при 37С, 8% CO₂, 140 об/мин в течение 7-го дня. Культуры затем собирали с помощью центрифугирования с последующей стерилизующей фильтрацией через фильтр 0,2 мкм и хранили при 4°С. Клоны были серийно очищены на колонке с протеином А.

Различные концентрации биспецифических антител инкубировали с индивидуальными образцами

FXIIa и pKall, и способность этих протеаз расщеплять пептидный субстрат отслеживалась во времени путем измерения изменений флуоресценции химического зонда, ковалентно прикрепленного к пептидному субстрату. Наклоны этих кинетических кривых эквивалентны скоростям ферментативного протеолиза, зависимость которых от концентрации ингибитора затем отображали на графике. Результирующие графики затем аппроксимируются уравнением прочно связывающегося ингибитора (Уравнение 1) с помощью нелинейной регрессии, чтобы получить кажущиеся константы ингибирования ($K_i^{\text{каж}}$).

$$v = V_0 \cdot \frac{([E] - [I] - K_i^{\text{app}}) + \sqrt{([E] - [I] - K_i^{\text{app}})^2 - 4[E] \cdot K_i^{\text{app}}}}{2} \quad [\text{Уравнение 1}]$$

На фиг. 1 и 2 показаны графики ингибирования активности pKall и FXIIa для каждого из испытанных биспецифических антител. Все испытанные клоны были способны ингибировать как pKall, так и FXIIa. Ниже в табл. 3 перечислены $K_i^{\text{каж}}$ по pKall и FXIIa для каждого из биспецифических антител.

Таблица 3. Кажущиеся константы ингибирования биспецифических антител

Биспецифическое антитело	$K_i^{\text{каж}}$ по pKall (нМ)	$K_i^{\text{каж}}$ по FXIIa (нМ)
X120-A01	0,1376 +/- 0,0206	0,0515 +/- 0,0186
X121-E01	0,1593 +/- 0,0245	0,6114 +/- 0,0714
X122-A01	0,1693 +/- 0,0242	6,0467 +/- 0,6497
X122-C01	0,1610 +/- 0,0221	5,6900 +/- 0,6512
Контрольное IgG M71-F06	Нет данных	0,8758 +/- 0,0579

Пример 2. Конструкция и характеристика образцов биспецифических антител, связывающих pKall и фактор XIIa

Еще одна серия образцов биспецифических антител против pKall и FXIIa была сконструирована следующим образом. IgG-фрагмент молекулы была той же, что и в примере 1, т.е. DX-2930. Для фрагмента анти-FXIIa были выбраны 36 изолятов и преобразованы в фрагменты scFv как в ориентации "легкая/тяжелая", так и "тяжелая/легкая". Фрагменты scFv были соединены с DX-2930 с помощью линкера SGGGS (SEQ ID NO: 22). При конструировании фрагментов scFv для соединения анти-FXIIa переменных доменов тяжелой и легкой цепей друг к другу использовался линкер $(G_4S)_4$. Ниже приводятся последовательности биспецифических антител.

Сконструированные биспецифические молекулы показали анти-pKall активность, в целом соответствующую значениям, определенным ранее для DX-2930 (табл. 4). Некоторые значения продемонстрировали меньшую активность против pKall, возможно, из-за ошибок при определении концентрации или, возможно, из-за агрегирования. Анти-FXIIa активность компонента scFv, была в основном ниже, чем ранее определенная величина, возможно, из-за внутренней нестабильности, связанной с фрагментами scFv (табл. 4). Активность биспецифических молекул в анализе с применением плазмы показала заметное улучшение по сравнению с DX-2930 и анти-FXIIa антител IgG. В этом тесте DX-2930 показало активность в диапазоне от 70 до 100 нМ, в то время как антитело-предшественник против FXIIa продемонстрировало ингибирование порядка ~100 нМ. Группа испытанных биспецифических молекул, продемонстрировала ингибирование в диапазоне 1-10 нМ (табл. 5).

Таблица 4. K_i , кажущаяся, определенная для 72 биспецифических анти-rKа1+анти-FXIIa антител против соответствующих мишеней. В качестве контроля использовались DX-2930 и лучшее антитело против FXIIa (559C-M0292-D07).

	Ориентация scFv	Биспецифический изолят	FXII-название	Исправленная анти-rKа1 каж (pM)	Исправленная анти-FXIIa K_i , каж (pM)
1	H→L	620I-X136-C07	559C-M0177-B11	182	699
	L→H	620I-X138-A08	559C-M0177-B11	920	357
2	H→L	620I-X136-B02	559C-M0177-C12	210	2857
	L→H	620I-X139-A12	559C-M0177-C12	2053	4084
3	H→L	620I-X137-B08	559C-M0178-A08	312	409
	L→H	620I-X142-A04	559C-M0178-A08	162	1233
4	H→L	620I-X142-B11	559C-M0179-A03	622	7719
	L→H	620I-X138-B01	559C-M0179-A03	169	6628
5	H→L	620I-X136-C01	559C-M0182-B04	173	957
	L→H	620I-X138-A12	559C-M0182-B04	405	1925

043404

6	H→L	620I-X136-A12	559C- M0182-D04	234	304
	L→H	620I-X138-A02	559C- M0182-D04	206	288
7	H→L	620I-X136-A05	559C- M0182-H01	179	111
	L→H	620I-X138-C07	559C- M0182-H01	196	314
8	H→L	620I-X136-E07	559C- M0182-H04	190	312
	L→H	620I-X142-B02	559C- M0182-H04	156	955
9	H→L	620I-X136-F11	559C- M0183-B12	201	235
	L→H	620I-X142-A05	559C- M0183-B12	160	2140
10	H→L	620I-X136-C09	559C- M0183-C03	173	90
	L→H	620I-X138-B10	559C- M0183-C03	75	58
11	H→L	620I-X136-C08	559C- M0183-D08	216	1231
	L→H	620I-X139-A11	559C- M0183-D08	235	3835
12	H→L	620I-X136-D05	559C- M0183-H08	55	13
	L→H	620I-X138-D04	559C- M0183-H08	215	79
13	H→L	620I-X136-G08	559C- M0184-B04	176	28
	L→H	620I-X142-B07	559C- M0184-B04	224	775
14	H→L	620I-X142-A11	559C- M0184-D01	158	195
	L→H	620I-X138-G12	559C-	186	766

043404

			M0184-D01		
15	H→L	620I-X142-A10	559C- M0184-E06	175	389
	L→H	620I-X138-D03	559C- M0184-E06	79	344
16	H→L	620I-X137-C08	559C- M0184-F12	153	34
	L→H	620I-X142-E02	559C- M0184-F12	162	186
17	H→L	620I-X136-E05	559C- M0191-A03	158	172
	L→H	620I-X138-B06	559C- M0191-A03	330	405
18	H→L	620I-X136-A09	559C- M0191-B11	190	X
	L→H	620I-X138-A06	559C- M0191-B11	145	X
19	H→L	620I-X137-A10	559C- M0191-C09	195	205
	L→H	620I-X139-B10	559C- M0191-C09	247	189
20	H→L	620I-X136-A04	559C- M0191-E04	171	230
	L→H	620I-X138-D06	559C- M0191-E04	199	132
21	H→L	620I-X136-C11	559C- M0191-E09	154	38
	L→H	620I-X138-B07	559C- M0191-E09	246	135
22	H→L	620I-X136-A02	559C- M0191-H09	176	136
	L→H	620I-X139-G02	559C- M0191-H09	171	161
23	H→L	620I-X136-B07	559C- M0191-H10	168	99

043404

	L→H	620I-X138-E03	559C- M0191-H10	178	122
24	H→L	620I-X136-G05	559C- M0192-A01	179	100
	L→H	620I-X139-D12	559C- M0192-A01	428	383
25	H→L	620I-X136-A01	559C- M0192-A03	135	224
	L→H	620I-X138-C12	559C- M0192-A03	267	697
26	H→L	620I-X136-G10	559C- M0192-D02	171	28
	L→H	620I-X138-D05	559C- M0192-D02	519	139
27	H→L	620I-X136-F07	559C- M0192-D12	183	167
	L→H	620I-X138-A01	559C- M0192-D12	154	465
28	H→L	620I-X142-E09	559C- M0192-F01	174	163
	L→H	620I-X138-D11	559C- M0192-F01	178	443
29	H→L	620I-X136-C05	559C- M0192-F06	150	58
	L→H	620I-X142-A02	559C- M0192-F06	152	63
30	H→L	620I-X136-C04	559C- M0192-F07	205	189
	L→H	620I-X138-F02	559C- M0192-F07	464	794
31	H→L	620I-X136-G04	559C- M0192-G03	179	107
	L→H	620I-X139-G12	559C- M0192-G03	276	252
32	H→L	620I-X136-B11	559C-	172	184

			M0192-G05			
	L→H	620I-X142-D04	559C- M0192-G05	170	414	
33	H→L	620I-X136-D06	559C- M0192-H04	176	84	
	L→H	620I-X139-A01	559C- M0192-H04	146	53	
34	H→L	620I-X136-D12	559C- M0192-H11	179	63	
	L→H	620I-X138-F05	559C- M0192-H11	214	147	
35	H→L	620I-X136-A11	559C- M0292-D07	199	193	
	L→H	620I-X139-E05	559C- M0292-D07	196	172	
36	H→L	620I-X136-C12	559C- M0177-A06	217	1567	
	L→H	620I-X138-E05	559C- M0177-A06	186	245	
37	Планшет 1			DX-2930	160	X
	Планшет 2			DX-2930	138	X
38	Планшет 1		559C- M292-D07	X	36	
	Планшет 2		559C- M292-D07	X	38	

Таблица 5. Сравнение изолятов-предшественников анти-FXIIa и анти-pKai/анти-FXIIa биспецифических молекул в тесте с активированной плазмой. Плазму разбавляли 1:40. К разбавленной плазме добавляли ингибиторы и 2,5% эллаговую кислоту. Через 2 мин активацию тушили путем добавления кукурузного ингибитора трипсина. Активность pKai измеряли путем добавления про-флуоресцентного субстрата.

		Ингибирование плазмы	
		IgG	Биспецифическое антитело
Изолят анти-FXII IgG	Изолят биспецифического антитела	IC50 (nM)	IC50/Ki (nM)
559C-M0192-A03	620I-X0136-A01	514	52
559C-M0192-F06	620I-X0136-C05	304	2.6
559C-M0192-E09	620I-X0136-C11	31	1.8
559C-M0192-H11	620I-X0136-D12	101	3
559C-M0192-A01	620I-X0136-G05	198	8

Для дальнейших анализов были отобраны пять образцов-кандидатов (620I-X0136-D12, 620I-X0136-C05, 620I-X0136-C11, 620I-X0136-G05 и 620I-X0136-A01). Из этих пяти лучших кандидатов 620I-X0136-A01 был исключен из-за низких значений экспрессии и множественных пиков на гель-фильтрационной хроматографии. Из оставшихся 4 лучших кандидатов каждый изолят содержал разную долю высокомолекулярных агрегатов (16-35%) (фиг. 3). Было определено, что доля агрегатов зависела от концентрации, поэтому была выдвинута гипотеза, что агрегаты являются димерными структурами, взаимодействующими через scFv-домены.

Образец биспецифического антитела, 620I-X0136-D12 (D12) оценили на способность ингибировать активность плазменного pKai с помощью теста на ингибирование плазмы. В кратком изложении, реконструированная плазма, содержащая некоторое количество пре-pKai и FXII в присутствии или отсутствии ВМКГ, была разбавлена 1:40 в тестовом буфере (20 mM трис-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM ЭДТА, 0,1% ПЭГ-8000 и 0,1% Тритон X-100). Концентрации пре-pKai, FXII и ВМКГ эквивалентны их нормальной

концентрации в плазме. Ингибиторы добавляли к реконструированной плазме в различных концентрациях в 96-луночном микропланшете при комнатной температуре. Затем контактную активацию инициировали добавлением 25% (2,5% конечная концентрация) раствора разбавленной эллаговой кислоты, содержимое перемешали осторожным встряхиванием микропланшета, и инкубировали в течение 2 минут при комнатной температуре, после чего добавили 100 нМ СТИ. 10 мкл этой смеси затем перенесли в аналогичный микропланшет, содержащий 80 мкл из тестового буфера, заранее доведенного до 30°C. Этот планшет с разбавлением затем инкубировали еще 5 мин при 30°C, и протеолиз PFR-АМС оценивали как описано выше, но производили перерасчет концентраций ингибитора, отложенных по оси X для кривой, для аппроксимации кривой согласно измененному уравнению Моррисона для прочного связывания ингибиторов (конечное разбавление плазмы составило 1:400). Результаты теста представлены на фиг. 5 (в присутствии однопочечного ВМКГ) и фиг. 6 (в отсутствие ВМКГ). Биспецифическое антитело показало лучшие результаты, чем его IgG-предшественники, вместе взятые, особенно в присутствии ВМКГ. С применением уравнения прочно связывающегося ингибитора значения кажущейся K_i для D12 были определены как 8,8 нМ в присутствии ВМКГ и 2,6 нМ в отсутствие ВМКГ.

Биспецифическое антитело-кандидат 620I-X0136-D12 (D12) было также исследовано на предмет способности задерживать активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) в АЧТВ-анализе по сравнению с анти-FXIIa антителами (D06) и анти-pKal антителами (H03) (фиг. 7). В кратком изложении, молекулы ингибиторов (или контрольный буфер разведения=25 мМ HEPES, pH 7,5, 125 мМ NaCl) добавляли в трех концентрациях (25, 50, 100) к чистой плазме в пропорции 1:1, и уравнивали при 37°C в течение 5 мин. 2x50, мкл из этой смеси было перенесено в 2 отдельных кюветы (с металлическим шариком) для анализа с помощью системы KC4 Delta. По истечении 60 с 50 мкл АЧТВ-реагента (активатор, Pacific Hemostasis АРТТ-XL) добавляли во вращающиеся кюветы, а через 180 с после добавления АЧТВ (при t=0 с), добавляли 50 мкл CaCl₂. Прибор KC4 Delta фиксировал время коагуляции в секундах.

Биспецифическое антитело-кандидат 620I-X0136-D12 (D12) также испытали на способность ингибировать образование фибрина (фиг. 8).

Последовательности антител: все биспецифические молекулы, описанные в данном Примере, содержали первый полипептид, включающий тяжелую цепь DX-2930, линкер SGGGS и анти-FXIIa scFv в ориентации "тяжелая/легкая" или "легкая/тяжелая". Легкую цепь DX-2 93 0 также экспрессировали с применением того же самого вектора. Для каждого изолята перечислены только последовательности фрагментов, включающих тяжелые цепочки+scFv. >легкая цепь DX-2930 (без сигнальной последовательности)

```
DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPKAPKLLIYKASTLESGVP
SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEK
HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 46)
```

Биспецифические молекулы, имеющие своим предшественниками 36 образцов анти-FXIIa IgG:

>620I-X0136-C07=тяжелая цепь DX2930+559C-M0177-B11 L4H scFv

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCLAAAGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGGTMTVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQ
KSLLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCLAAAGFTFSRYIMVWVRQAPGKGLEWVSR
IYPSGGYTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWG
KGTTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLLSNGY
NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 51)
```

>620I-X0138-A08=тяжелая цепь DX2930+559C-M0177-B11 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYIMWVVRQAPGKG
 LEWVSRIYPSGGYTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 52)

>620I-X0136-B02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0177-C12 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYHMHWRQAPGKGLEWVSR
 IVPSSGMTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGNY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 53)

620I-X0139-A12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0177-C12 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYHMHWRQAPGKG
 LEWVSRIVPSSGMTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 54)

>620I-X0137-B08=тяжелая цепь DX2930+559C-M0178-A08 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYIMGWVRQAPGKGLEWVSR

>620I-X0136-C01=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-B04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSY
 IYPSGGHTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYKYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 59)

>620I-X0138-A12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-B04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGK
 LEWVSYIYPSGGHTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYKY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 60)

>620I-X0136-A12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-D04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYTMNWVRQAPGKLEWVSR
 IYPSGGKTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYKYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 61)

>620I-X0138-A02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-D04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYTMNWVRQAPGK
 LEWVSR IYPSGGKTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYKY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 62)

>620I-X0136-A05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-H01 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYVMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IWPSGGMTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 63)

>620I-X0138-C07=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-H01 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYVMHWVRQAPGK
 LEWVSSIWPSGGMTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 64)

>620I-X0136-E07=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-H04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYIMGWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGTTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 65)

>620I-X0142-B02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0182-H04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT

GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYIMGWVRQAPGKG
LEWVSRIYPSGGTTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGP KYYY
YMDVWGKGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 66)

>620I-X0136-F11=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-B12 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
STKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMYWVRQAPGKGLEWVSR
IYPSGGITHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGP KYYY YMDVWG
KGT TTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSP LSLPVTGP EPASISCRSSQSL LHSNGY
NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSDTFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQT
PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 67)

>620I-X0142-A05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-B12 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
STKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSP LSLPVTGP EPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
LLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSDTFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQT PWTFGQGTKVEIKRT
GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMYWVRQAPGKG
LEWVSRIYPSGGITHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGP KYYY
YMDVWGKGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 68)

>620I-X0136-C09=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-C03 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
STKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYNMHWVRQAPGKGLEWVSY
ISPSSGKTKYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTRQRYRGP KYYY YMDVWG
KGT TTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSP LSLPVTGP EPASISCRSSQSL LHSNGY
NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSDTFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQT
PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 69)

>620I-X0138-B10=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-C03 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYF
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYNMHWVRQAPGK
 LEWVSYISPSGGKTKYTDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 70)

>620I-X0136-C08=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-D08 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYF
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYIMGWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGVTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKY YMDVWG
 KGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 71)

>620I-X0139-A11=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-D08 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYF
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYIMGWVRQAPGK
 LEWVSSIYPSGGVTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 72)

>620I-X0136-D05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-H08 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTFSRYIMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRASGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 73)

>620I-X0138-D04=тяжелая цепь DX2930+559C-M0183-H08 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGNSRASGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT PWTFGQGTKVEIKRT
 GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTFSRYIMHWVRQAPGKG
 LEWVSSIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 74)

>620I-X0136-G08=тяжелая цепь DX2930+559C-M0184-B04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRASGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 75)

>620I-X0142-B07=тяжелая цепь DX2930+559C-M0184-B04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGNSRASGVPDRFSGSGSDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT PWTFGQGTKVEIKRT
 GGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKG
 LEWVSR IYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 76)

>620I-X0137-C08=тяжелая цепь DX2930+559C-M0184-F12 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSG
 IWPSSGRTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGDIQMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLLSHNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 81)

>620I-X0142-E02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0184-F12 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGK
 LEWVSGIWPSSGRTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 82)

>620I-X0136-E05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-A03 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYIMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGNTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGDIQMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLLSHNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 83)

>620I-X0138-B06=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-A03 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLSPVTPGEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYIMHWVRQAPGK
 LEWVSSIYPSGGNTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 84)

>620I-X0136-A09=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-B11 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 85)

>620I-X0138-A06=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-B11 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDGVVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:
 86)

>620I-X0137-A10=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-C09 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYIMHWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGATVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYN
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDGVVYCMQALQTP
 WTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 87)

>620I-X0139-B10=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-C09 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDGVVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYIMHWVRQAPGK
 LEWVSR IYPSGGATVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 88)

>620I-X0136-A04=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-E04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL

SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMI SRTP E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H
Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q
K S L S L S P G K S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S M Y I M H W V R Q A P G K G L E W V S S
I Y P S G G M T K Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y M D V W G
K G T T V T V S S G G G S G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y
N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T
P W T F G Q G T K V E I K R (S E Q I D N O : 8 9)

>620I-X0138-D06=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-E04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSA
STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMI SRTP E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H
Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q
K S L S L S P G K S G G G S D I Q M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q
L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P W T F G Q G T K V E I K R T
G G G G S G G G S G G G S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S M Y I M H W V R Q A P G K G
L E W V S S I Y P S G G M T K Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y
Y M D V W G K G T T V T V S S (S E Q I D N O : 9 0)

>620I-X0136-C11=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-E09 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSA
STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMI SRTP E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H
Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q
K S L S L S P G K S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S W Y S M H W V R Q A P G K G L E W V S V
I Y P S G G K T R Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y M D V W G
K G T T V T V S S G G G S G G G S G G G S G G G S D I Q M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y
N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T
P W T F G Q G T K V E I K R (S E Q I D N O : 9 1)

>620I-X0138-B07=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-E09 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSA
STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMI SRTP E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H
Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P
S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q
K S L S L S P G K S G G G S D I Q M T Q S P L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L L H S N G Y N Y L D W Y L Q K P G Q S P Q
L L I Y L G S N R A S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D V G V Y Y C M Q A L Q T P W T F G Q G T K V E I K R T
G G G G S G G G S G G G S G G G S E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S W Y S M H W V R Q A P G K G
L E W V S V I Y P S G G K T R Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C T R Q R Y R G P K Y Y Y
Y M D V W G K G T T V T V S S (S E Q I D N O : 9 2)

>620I-X0136-A02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-H09 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTEPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYVMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 93)

>620I-X0139-G02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-H09 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTEPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYVMHWVRQAPGK
 LEWVSSIYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 94)

>620I-X0136-B07=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-H10 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTEPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYTMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGFTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 95)

>620I-X0138-E03=тяжелая цепь DX2930+559C-M0191-H10 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTEPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYTMHWVRQAPGK
 LEWVSSIYPSGGFTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 96)

>620I-X0136-G05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-A01 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 97)

>620I-X0139-D12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-A01 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGK
 LEWVSSIYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 98)

>620I-X0136-A01=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-A03 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGMTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYIYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 99)

>620I-X0138-C12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-A03 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPK

PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKG
 LEWVSSIYPSGGMTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRQRYRGPKEYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 100)

>620I-X0136-G10=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-D02 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQ
 KSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKLEWVSS
 IWPSGGFTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRQRYRGPKEYYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 101)

>620I-X0138-D05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-D02 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKG
 LEWVSSIWPSGGFTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRQRYRGPKEYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 102)

>620I-X0136-P07=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-D12 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQ
 KSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYIMQWVRQAPGKLEWVSS
 IYPSGGRTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRQRYRGPKEYYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 103)

>620I-X0138-A01=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-D12 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYIMQWVRQAPGKG
 LEWVSSIYPSGGRTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 104)

>620I-X0142-E09=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-F01 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYNMAWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGMTQYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLHNSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYVYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 105)

>620I-X0138-D11=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-F01 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYNMAWVRQAPGKG
 LEWVSRIYPSGGMTQYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 106)

>620I-X0136-C05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-F06 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEGPASISCRSSQSLHNSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYVYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 107)

>620I-X0142-A02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-F06 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWRQAPGKG
 LEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 108)

>620I-X0136-C04=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-F07 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMSWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 109)

>620I-X0138-F02=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-F07 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMSWVRQAPGKG
 LEWVSR IYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 110)

>620I-X0136-G04=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-G03 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYNMWRQAPGKGLEWVSR
 IWPSGGKTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 111)

>620I-X0139-G12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-G03 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYNMWWVRQAPGKG
 LEWVSRIWPSGGKTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKTTVTVSS (SEQ ID NO: 112)

>620I-X0136-B11=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-G05 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYTMVWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGVTQYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYCMQALQTP
 WTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 113)

>620I-X0142-D04=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-G05 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYTMVWVRQAPGKG
 LEWVSRIYPSGGVTQYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKTTVTVSS (SEQ ID NO: 114)

>620I-X0136-D06=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-H04 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYCMQALQTP
 WTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 115)

>620I-X0139-A01=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-H04 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGK
 LEWVSRIYPSGGLTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 116)

>620I-X0136-D12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-H11 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYMDVWG
 KGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQ
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 117)

>620I-X0138-F05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0192-H11 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGK
 LEWVSSIWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYY
 YMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 118)

>620I-X0136-A11=тяжелая цепь DX2930+559C-M0292-D07 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYVMHWVRQAPGKGLEWVSS
 IWPSGGKTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYMDAWG

QGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 119)

>620I-X0139-E05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0292-D07 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYVMHWVRQAPGKG
 LEWVSSIWPSGGKTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKEYY
 YMDAWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 120)

>620I-X0136-C12=тяжелая цепь DX2930+559C-M0177-A06 L4H scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSR
 IYPSGGITSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKEYYYMDVWG
 KGTTVTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQALQT
 PWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 121)

>620I-X0138-E05=тяжелая цепь DX2930+559C-M0177-A06 H4L scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
 LLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVVYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRT
 GGGGGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKG
 LEWVSRIYPSGGITSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKEYY
 YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 122)

Пример 3. Конструкция и характеристика образцов биспецифических антител, содержащих дисульфидную связь

Для борьбы с агрегированием была спроектирована дисульфидная связь между остатком VH 44 (C44) и остатком VL 100 (C₁₀₀) на scFv-участке 4 клонов: 620I-X0177-A01 (620I-X0173-A11), 620I-X0177-C01 (620I-X0173-C07), 620I-X0177-E01 (620I-X0173-E07) и 620I-X0177-G01 (620I-X0173-G11). Гель-фильтрационный анализ биспецифических молекул, содержащих scFv-фрагменты с дисульфидными связями, показал резкое сокращение высокомолекулярных пиков, в результате чего эти значения упали до 1-2% (фиг. 4). Это сокращение агрегирования наблюдалось для всех испытанных концентраций. Биакор-анализ этих биспецифических клонов показал сильное специфическое связывание с pKal и FXIIa (фиг. 9). Ингибирование плазмы этими изолятами варьировало в диапазоне от 0,5 до 8 нМ (фиг. 10).

Тест на ингибирование плазмы, описанный в настоящем документе, был выполнен для определения ингибиторной активности биспецифического антитела 620I-X0177-A01. Плазму разбавляли 1:40 и инги-

биторы добавляли к разбавленной плазме. 2,5% (конечная концентрация) раствора разбавленной эллаговой кислоты добавляли к плазме. Спустя примерно 2 мин активацию плазмы тушили добавлением СТИ. Активность рКал в плазме измеряли путем добавления профлуоресцентного субстрата, как описано в настоящем документе. Полученные таким образом результаты показаны на фиг. 11.

Ингибиторную активность клона 620I-X0177-A01 сравнили с ингибиторной активностью антител-предшественников самих по себе или в комбинации. Наблюдалось снижение аффинности биспецифических антител по сравнению с IgG-предшественниками (фиг. 12).

Дополнительно способность различных биспецифических антител влиять на АЧТВ была оценена способами, описанными в настоящем документе. Все протестированные антитела показали задержку с АЧТВ, зависящую от дозы (фиг. 13).

Были также проанализированы способности клонов антител 1A01 (анти-FXIIa) and 7A01 (биспецифичных против рКал и FXII) ингибировать отложение фибрина, и результаты показаны на фиг. 14. Наблюдалось ингибирование отложения фибрина, зависящее от дозы.

В целом, согласно тесту на ферментативное ингибирование, значения кажущихся K_i отдельных анти-рКал и анти-FXIIa компонентов образца биспецифического антитела 620I-X0177-A01 примерно совпадали со значениями для молекул-предшественников, чьи кажущиеся K_i составляют 389 и 73 пМ соответственно. Удивительным образом, дополнительные эксперименты в контактно-активированной разбавленной плазме свидетельствуют о том, что данное биспецифическое антитело предотвращало образование рКал более чем в 5 раз эффективнее, чем 1:1 комбинации антител-предшественников, и более чем в 20 раз эффективнее, чем любое из антител-предшественников само по себе. Эти данные свидетельствуют о том, что биспецифическое антитело было бы уникально мощным в отношении своей способности прерывать петлю положительной обратной связи контактной системы активации.

Последовательности биспецифических антител с scFv-участками, связанными дисульфидными связями, приводятся ниже:

> 620I-X0173-A11 (620I-X0177-A01)=620I-X0136-D12 с модификацией на уровне генов зародышевой линии+оптимизацией гена scFv+дисульфидной стабилизацией

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV

YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA

STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL

SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK

PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLII

QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP

SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ

KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSS

IWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQYRGPKYYYYMDVWG

QGTIVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNGY

NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSDTFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT

PWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 47)

>620I-X0173-C07 (620I-X0177-C01)=620I-X0136-C05 с модификацией на уровне генов зародышевой линии+оптимизацией гена scFv+дисульфидной стабилизацией

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV

YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA

STKGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL

SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK

PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH

QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP

SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ

KLSLSLSPGKSGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSS

IYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQYRGPKYYYYMDVWG

QGTIVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNGY

NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSNRASGVPDRFSGSGSDTFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT

PWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 48)

>620I-X0173-E07 (620I-X0177-E01)=620I-X0136-C11 с модификацией на уровне генов зародышевой линии+оптимизацией гена scFv+дисульфидной стабилизацией

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ
KSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFSWYSMHWRQAPGKCLEWVSV
IYPSGGKTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYIYMDVWG
QGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGY
NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDTFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
PWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 49)
```

>620I-X0173-G11 (620I-X0177-G01)= 620I-X0136-G05 с модификацией на уровне генов зародышевой линии+оптимизацией гена scFv+дисульфидной стабилизацией

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ
KSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRSLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSS
IYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYIYMDVWG
QGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGY
NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDTFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
PWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 50)
```

Пример 4. Конструкция и характеристика образцов биспецифических антител с С-концевыми заменами и/или делециями

Образцы биспецифических антител (620I-X0177-A01, 620I-X0177-C01, 620I-X0177-E01, 620I-X0177-G01) были оценены на предмет технологичности и выполнимости производства. Образцы биспецифических антител инкубировали при комнатной температуре в течение 48 ч при различных значениях pH перед проведением анализа. Образцы затем разделяли на белковом геле-электрофорезе с ДСН, как показано, например, для биспецифического антитела 620I-X0177-A01 на фиг. 15, или анализировали с помощью гель-фильтрационной хромаграфии (фиг. 16А-16С). В восстанавливающих условиях (фиг. 15, дорожки 2-6) наблюдалось pH-зависимое усиление полос 30 и 50 кДа и ослабление полосы 80 кДа. Появление этих неожиданных полос указывало на то, что биспецифические антитела претерпевали непредвиденное протеолитическое расщепление. Появление тех же 30 кДа-компонент в невосстанавливающих условиях свидетельствует о том, что продукты расщепления являются мономерами (фиг. 15, полосы 6-8). В гель-фильтрационном анализе на 15,7-16,1 мин наблюдались пики, представляющие собой правильно сформированные биспецифические антитела, пик на 17 мин представлял собой DX-2930, а пик на 22 минуте представлял собой расщепленное одноцепочечное антитело (фиг. 16).

Образцы биспецифических антител были сконструированы таким образом, что С-концевой остаток лизина тяжелой цепи IgG1 был удален или заменен на глицин.

Ниже приводятся аминокислотные последовательности первых полипептидов биспецифических антител с делецией С-концевого остатка лизина или заменой С-концевого остатка лизина на остаток глицина тяжелой цепи первого антитела. Эти первые полипептиды могут вступать во взаимодействие с легкой цепью DX-2930.

>620I-X0179-A09 (620I-X0177-A01 с делецией IgG-C-концевого Лиз)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSI
 WPSGGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYVYMDVWGQ
 GTT VTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYN
 YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
 WTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 141)

>620I-X0179-C01 (620I-X0177-A01 с заменой IgG-C-концевого Лиз на Гли)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSS
 IWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYVYMDVWG
 QGT VTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
 PWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 142)

>620I-X0179-E05 (620I-X0177-C01 с делецией IgG-C-концевого Лиз)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSI
 YPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYVYMDVWGQ
 GTT VTVSSGGGGGGGGGGGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYN
 YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
 WTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 143)

>620I-X0179-G05 (620I-X0177-C01 с заменой IgG-C-концевого Лиз на Гли)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGGSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSS
 IYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWG
 QGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFCGCTKVEIKR (SEQ ID NO: 144)

>620I-X0180-A05 (620I-X0177-G01 с делецией IgG-C-концевого Лиз)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGGSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSI
 YPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQ
 GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGYN
 YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
 WTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 145)

>620I-X0180-C11 (620I-X0177-G01 с заменой IgG-C-концевого Лиз на Гли)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGGSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSS
 IYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWG
 QGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFCGCTKVEIKR (SEQ ID NO: 146)

>620I-X0180-E07 (620I-X0177-E01 с делецией IgG-C-концевого Лиз)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ
 KLSLSLSPGGSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSVI
 YPSGGKTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQ
 GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPEGPASISCRSSQSLLSHNGYN
 YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
 WTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 147)

>620I-X0180-G03 (620I-X0177-E01 с заменой IgG-C-концевого Лиз на Гли)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWVRQAPGKCLEWVSV
 IYPSGGKTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYMDVWG
 QGTTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 148)

Каждый из образцов биспецифических антител с делецией С-концевого остатка лизина или заменой С-концевого остатка лизина на остаток глицина тяжелой цепи первого антитела исследовали путем разделения биспецифических антител на гель-электрофорезе в ПААГ с ДСН при $t=0$ (фиг. 17). Образцы каждого биспецифического антитела, кроме того, концентрировали с применением спин-фильтров Amicon с границей фильтрации 10 кДа до примерно 10 мг/мл в 50 мМ HEPES, pH 7,5 и инкубировали при комнатной температуре в течение 48 ч. Образцы затем были исследованы в ПААГ с ДСН (фиг. 18). В каждом случае удаление или замена С-концевого лизина уменьшали или устраняли отщепление scFv от биспецифического антитела.

Образцы биспецифических антител также исследовали с помощью аналитической гель-фильтрационной хроматографии, результаты которой свидетельствуют о том, что удаление или замена С-концевого лизина уменьшает расщепление биспецифических антител (фиг. 19-20). Расщепление биспецифических антител также оценивали инкубацией антител с EndoLysC при 37°C в течение 1 ч с последующим разделением в ПААГ с ДСН (фиг. 21). Белковые полосы 50 кДа соответствовали Fab-фрагменту DX-2930, а полосы 100 кДа соответствовали гомодимеру Fc-scFv, что, в свою очередь, указывает на то, что делеция или замена С-концевого лизина тяжелой цепи снижает расщепление биспецифических антител.

Образцы биспецифических антител с делецией или заменой С-концевого лизина были также исследованы на способность ингибировать pKal, FXIIa и активированную плазму по сравнению с контрольным антителами DX-2930 и DX-4012 (табл. 1, фиг. 22-24). Обнаружено, что каждый из образцов биспецифических антител функционально эквивалентен биспецифическому антителу-предшественнику (биспецифическому антителу без делеции или замены С-концевого лизина тяжелой цепи IgG1). Замена может снизить неоднородность зарядов биспецифического антитела.

Таблица 6. Сводка по биспецифическим антителам, использованным в биохимических анализах, а также контрольным IgG DX-2930 и DX-4012. Были проведены тесты для оценки ингибирования rK_{al}, ингибирования FXIIa и ингибирования активированной плазмы.

R-маркировка	X-маркировка (или DX-а)	Биспецифическое антитело-предшественник	Изменение на С-конце IgG	Анти-FXIIa scFv	Ингибирование rK _{al} Ki, каж (пМ)	Ингибирование FXIIa Ki, каж (пМ)	Ингибирование активированной плазмы, IC50/Ki, каж (пМ)
620I-R0052-A01	620I-X0179-A09	620I-X0177-A01	Лиз-делеция	559C-M0192-H11 GL/GO/Дисульфид H4L scFV	225	90	7,6 (Ki)
620I-R0052-C01	620I-X0179-C01	620I-X0177-A01	Лиз-Гли	559C-M0192-H11 GL/GO/Дисульфид H4L scFV	243	108	7,8 (Ki)
620I-R0052-E01	620I-X0179-E05	620I-X0177-C01	Лиз-делеция	559C-M0192-F06 GL/GO/Дисульфид H4L scFV	203	99	7,4 (Ki)
620I-R0052-G01	620I-X0179-G05	620I-X0177-C01	Лиз-Гли	559C-M0192-F06 GL/GO/Дисульфид H4L scFV	226	52	8,1 (Ki)
620I-R0052-E03	620I-X0180-G03	620I-X0177-E01	Лиз-Гли	559C-M0192-E09 GL/GO/Дисульфид H4L scFV	208	71	2,8 (Ki)
620I-R0052-A03	620I-X0180-A05	620I-X0177-G01	Лиз-делеция	559C-M0192-A01 GL/GO/Дисульфид H4L scFV	254	116	7,3 (Ki)
620I-R0052-G03	620I-X0180-C11	620I-X0177-G01	Лиз-Гли	559C-M0192-A01 GL/GO/Дисульфид H4L scFV	232	140	9,2 (Ki)
	DX-2930				127, 131, 151	нет данных	90, 68, 74, 74, 66 (IC50)
	DX-4012				нет данных	8, 2, 9	279, 291 (IC50)

Альтернативно или дополнительно, упомянутый выше Лиз-Арг-мотив (KR) на С-конце анти-FXIIa фрагмента scFv-участков мог быть удален. Ниже приводятся аминокислотные последовательности пер-

вых полипептидов биспецифических антител с делецией С-концевого остатка лизина или заменой С-концевого остатка лизина на остаток глицина тяжелой цепи первого антитела и делецией С-концевой последовательности "лизин-аргинин" scFv-фрагмента.

>620I-X0186-C05 (620I-X0177-A01 с делецией IgG-С-концевого Лиз и удаленным С-концевым KR-мотивом)

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYF
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSI
WPSGGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYKYMDVWGQ
GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYN
YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
WTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 151)
```

>620I-X0185-C01 (620I-X0177-A01 с заменой IgG-С-концевого Лиз на глицин и удаленным С-концевым KR-мотивом)

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYF
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGSGGGSDIQMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQ
LLIYLGNSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKEIKRT
GGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHVVRQAPGK
LEWVSVIYPSGGKTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYKY
YMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 152)
```

>620I-X0186-E05 (620I-X0177-C01 с делецией IgG-С-концевого Лиз и удаленным С-концевым KR-мотивом)

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGMVTVSSA
STKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYF
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSI
YPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYKYMDVWGQ
GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSNGYN
YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
WTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 153)
```

>620I-X0185-E01 (620I-X0177-C01 с заменой IgG-C-концевого Лиз на глицин и удаленным С-концевым KR-мотивом)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYFP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSS
 IYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYMDVWG
 QGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDTFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFCGCTKVEI (SEQ ID NO: 154)

>620I-X0186-A05 (620I-X0177-G01 с делецией IgG-C-концевого Лиз и удаленным С-концевым KR-мотивом)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYFP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSI
 YPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYMDVWGQ
 GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYN
 YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDTFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
 WTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 155)

>620I-X0185-A03 (620I-X0177-G01 с заменой IgG-C-концевого Лиз на глицин и удаленным С-концевым KR-мотивом)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSA
 STKGPSVFPFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPFAVLQSSGLYSL
 SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
 QDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYFP
 SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
 KSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSS
 IYPSGGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYMDVWG
 QGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPVLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGY
 NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSDTFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
 PWTFCGCTKVEI (SEQ ID NO: 156)

>620I-X0186-G07 (620I-X0177-E01 с делецией IgG-C-концевого Лиз и удаленным С-концевым KR-мотивом)

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHVWRQAPGKCLEWVSVI
YPSGGKTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQYRGPKYIYMDVWGQ
GTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGYN
YLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
WTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 157)
```

>620I-X0185-G01 (620I-X0177-E01 с заменой IgG-C-концевого Лиз на глицин и удаленным С-концевым KR-мотивом)

```
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITV
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ
KSLSLSPGGSGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHVWRQAPGKCLEWVSV
IYPSGGKTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQYRGPKYIYMDVWG
QTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVTPEPASISCRSSQSLHNSNGY
NYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT
PWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 158)
```

Вышеупомянутые полипептиды могут взаимодействовать с легкой цепью DX-2930 формируя биспецифическое антитело, которое также находится в пределах объема настоящего изобретения.

Другие варианты осуществления

Все признаки, описанные в данном описании, могут быть объединены в любой комбинации. Каждый признак, раскрываемый в данном описании, может быть заменен альтернативным признаком, служащим той же, эквивалентной или аналогичной цели. Таким образом, если явно не указано иное, то все раскрываемые признаки являются лишь примером родовой серии эквивалентных или схожих признаков.

Согласно вышеприведенному описанию квалифицированный специалист в данной области техники способен легко определить существенные признаки настоящего изобретения и без отступления от его существа и объема может вносить различные изменения и модификации изобретения, чтобы приспособить его к различным случаям применения и условиям. Таким образом, другие варианты осуществления также включены в формулу изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Биспецифическое антитело, которое связывает плазменный калликреин (pKal) и фактор XII, включающее

первое антитело и второе антитело,

где первое антитело связывает pKal и включает первый полипептид, включающий легкую цепь первого антитела, при этом легкая цепь содержит определяющий комплементарность участок (CDR) 1 легкой цепи (LC), содержащий последовательность RASQSISSWLA, LC CDR2, содержащий последовательность KASTLES и LC CDR3, содержащий последовательность QQYNTYWT; и

второй полипептид, который включает тяжелую цепь первого антитела, при этом тяжелая цепь содержит CDR1 тяжелой цепи (HC), содержащий HYIMM, HC CDR2, содержащий последовательность GIYSSGGITVYADSVKKG, HC CDR3, содержащий последовательность RRIGVPRRDEFDI,

причем С-конец первого полипептида или второго полипептида соединен со вторым антителом, которое представляет собой одноцепочечное антитело; и

где второе антитело связывает фактор XII и содержит:

(а) переменный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность

RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTPWT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность GYIMA, HC CDR2, содержащий последовательность YIYPSGGIT-VYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV;

(b) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHRNGHNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQART, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность GYIMA, HC CDR2, содержащий последовательность YIYPSGGIT-VYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV;

(c) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTRT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность GYIMA, HC CDR2, содержащий последовательность YIYPSGGIT-VYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV;

(d) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTPRT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность GYIMA, HC CDR2, содержащий последовательность YIYPSGGIT-VYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV;

(e) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTPRT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность FYSMH, HC CDR2, содержащий последовательность RIYPSGGVTKYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV;

(f) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTPWT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность QYVMH, HC CDR2, содержащий последовательность SIWPSGGHT-RYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV;

(g) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTPWT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность WYVMH, HC CDR2, содержащий последовательность SIYPSGGKTSYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV;

(h) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTPWT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность WYSMH, HC CDR2, содержащий последовательность VIYPSGGKTRYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV; или

(i) варибельный домен легкой цепи, содержащий LC CDR1, содержащий последовательность RSSQSLLHSNGYNYLD, LC CDR2, содержащий последовательность LGSNRAS, и LC CDR3, содержащий последовательность MQALQTPWT, и варибельный домен тяжелой цепи, содержащий HC CDR1, содержащий последовательность HYVMH, HC CDR2, содержащий последовательность SIYPSGGLTKYADSVKG, HC CDR3, содержащий последовательность QRYRGPKYYYYMDV.

2. Биспецифическое антитело по п.1, отличающееся тем, что второе антитело соединено с С-концом второго полипептида первого антитела.

3. Биспецифическое антитело по п.1 или 2, отличающееся тем, что первое антитело представляет собой IgG.

4. Биспецифическое антитело по п.3, отличающееся тем, что первое антитело представляет собой IgG и включает мутированную тяжелую цепь, у которой по сравнению с аналогом дикого типа С-концевой остаток лизина удален или заменен.

5. Биспецифическое антитело по п.4, где тяжелая цепь первого антитела содержит С-концевой остаток глицина, а не остаток лизина.

6. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что второе антитело не содержит KR-мотива на своем С-конце.

7. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что антитело является тетравалентным.

8. Биспецифическое антитело по любому из пп.2-7, отличающееся тем, что второй полипептид включает пептидный линкер между тяжелой цепью первого антитела и вторым антителом.

9. Биспецифическое антитело по п.8, где пептидный линкер представляет собой SGGGS.

10. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что легкая цепь первого антитела содержит константный участок легкой цепи (C₁), который представляет собой легкую каппа-

цепь или легкую лямбда-цепь.

11. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-10, отличающееся тем, что переменный участок тяжелой цепи (V_H) второго антитела соединен с N-концом переменного участка легкой цепи (V_L) второго антитела или V_H второго антитела соединен с C-концом V_L второго антитела.

12. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-11, отличающееся тем, что второе антитело включает пептидный линкер между переменным участком тяжелой цепи (V_H) и переменным участком легкой цепи (V_L).

13. Биспецифическое антитело по п.12, где пептидный линкер представляет собой $(G_4S)_4$.

14. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-13, отличающееся тем, что между переменным участком тяжелой цепи (V_H) и переменным участком легкой цепи (V_L) второго антитела образуется дисульфидная связь.

15. Биспецифическое антитело по п.14, где дисульфидная связь образована между $C_{44} V_H$ и $C_{100} V_L$, где положения CDR антитела определены согласно схеме нумерации Chothia.

16. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-15, где тяжелая цепь первого антитела содержит переменный участок тяжелой цепи, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

17. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-16, отличающееся тем, что тяжелая цепь первого антитела содержит аминокислотную последовательность аминокислотных положений 20-470 последовательности SEQ ID NO: 9, 149 или 150.

18. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-17, где легкая цепь первого антитела содержит переменный участок легкой цепи, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2.

19. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-18, где переменный участок тяжелой цепи (V_H) второго антитела содержит аминокислотную последовательность с любой из SEQ ID NO: 3, 4 и 123-126.

20. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-19, где переменный участок легкой цепи (V_L) второго антитела содержит аминокислотные положения 1-111 любой из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 5-8 и 127 или V_L второго антитела содержит любую из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 5-8 и 127.

21. Биспецифическое антитело по п.1, отличающееся тем, что первый полипептид содержит аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 10, а второй полипептид содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы последовательностей с SEQ ID NO: 11-20, 47-122, 141-148 и 151-158.

22. Биспецифическое антитело по любому из пп.1-21, где первое антитело содержит переменный участок тяжелой цепи (V_H), содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 1, и первое антитело содержит переменный участок легкой цепи (V_L), содержащий аминокислотную последовательность с SEQ ID NO: 2.

23. Биспецифическое антитело по п.22, где второе антитело включает переменный участок тяжелой цепи, содержащий любую из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 3, 4 и 123-126; и/или второе антитело включает переменный участок легкой цепи, содержащий аминокислотные положения 1-111 любой из аминокислотных последовательностей с SEQ ID NO: 5-8 и 127.

24. Изолированная нуклеиновая кислота, содержащая первую нуклеотидную последовательность, кодирующую первый полипептид по любому из пп.1-23, и вторую нуклеотидную последовательность, кодирующую второй полипептид по любому из пп.1-23, где первая нуклеотидная последовательность или вторая нуклеотидная последовательность дополнительно кодируют второе антитело по любому из пп.1-23.

25. Экспрессирующий вектор, содержащий изолированную нуклеиновую кислоту по п.24.

26. Экспрессирующий вектор по п.25, где первая нуклеотидная последовательность и/или вторая нуклеотидная последовательность функционально связаны с промотором.

27. Экспрессирующий вектор по п.26, где первые и вторые нуклеотидные последовательности функционально связаны с одним и тем же или различными промоторами.

28. Фармацевтическая композиция, включающая (i) биспецифическое антитело по любому из пп.1-23 или изолированную нуклеиновую кислоту по п.25 и (ii) фармацевтически приемлемый носитель.

29. Клетка-хозяин, включающая экспрессирующий вектор по любому из пп.25-27.

30. Способ получения биспецифического антитела, включающий культивирование клетки-хозяина по п.29 в условиях, допускающих экспрессию первого полипептида и второго полипептида, первого антитела и второго антитела; и выделение биспецифического антитела.

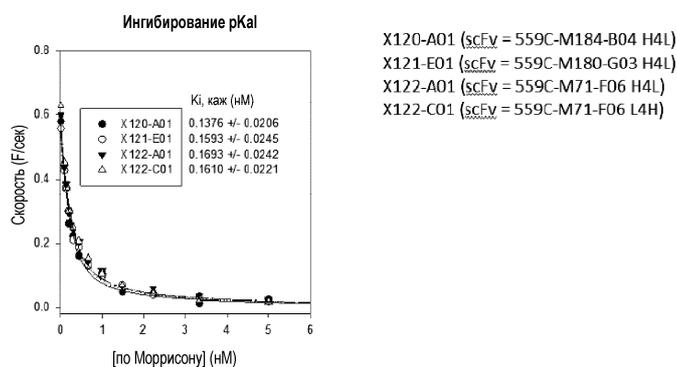
31. Применение фармацевтической композиции для лечения заболевания, связанного с системой контактной активации, включающей (i) биспецифическое антитело по любому из пп.1-24 или нуклеиновую кислоту по п.25 и (ii) фармацевтически приемлемый носитель.

32. Применение по п.31, причем заболевание, связанное с системой контактной активации, представляет собой наследственный ангионевротический отек или тромбоз.

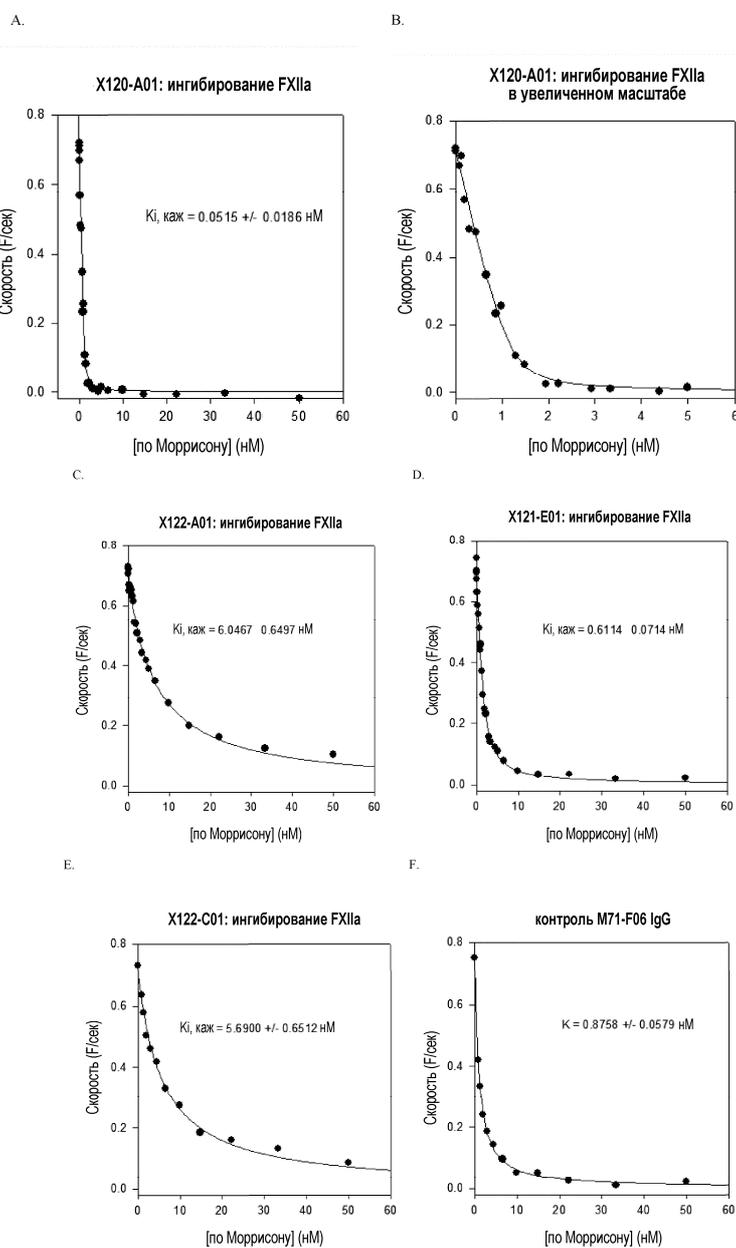
33. Применение биспецифического антитела по любому из пп.1-23 для изготовления лекарственного средства для применения в лечении заболевания, связанного с системой контактной активации.

34. Применение изолированной нуклеиновой кислоты по п.24 для изготовления лекарственного средства для применения в лечении заболевания, связанного с системой контактной активации.

35. Применение по п.33 или 34, где заболевание, связанное с системой контактной активации, представляет собой наследственный ангионевротический отек или тромбоз.

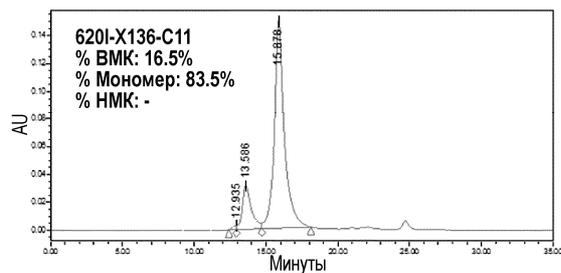


Фиг. 1

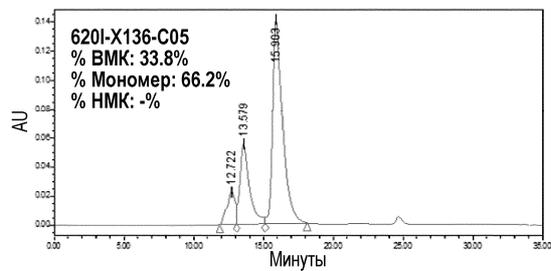


Фиг. 2A-F

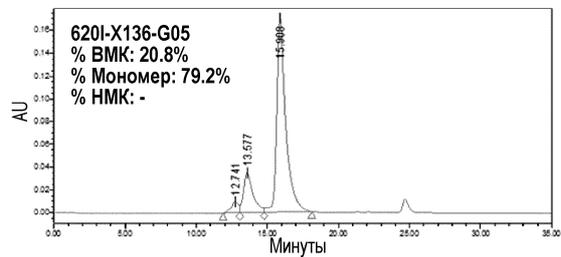
A.



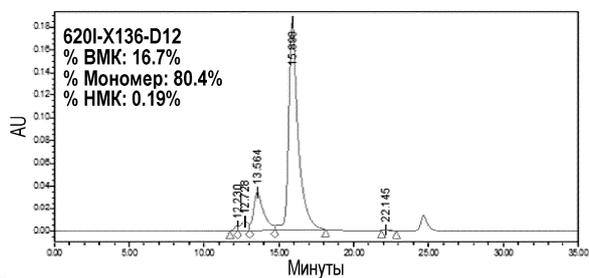
B.



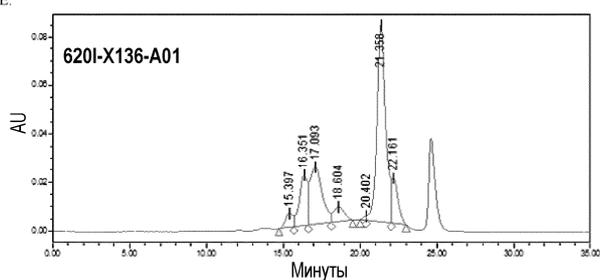
C.



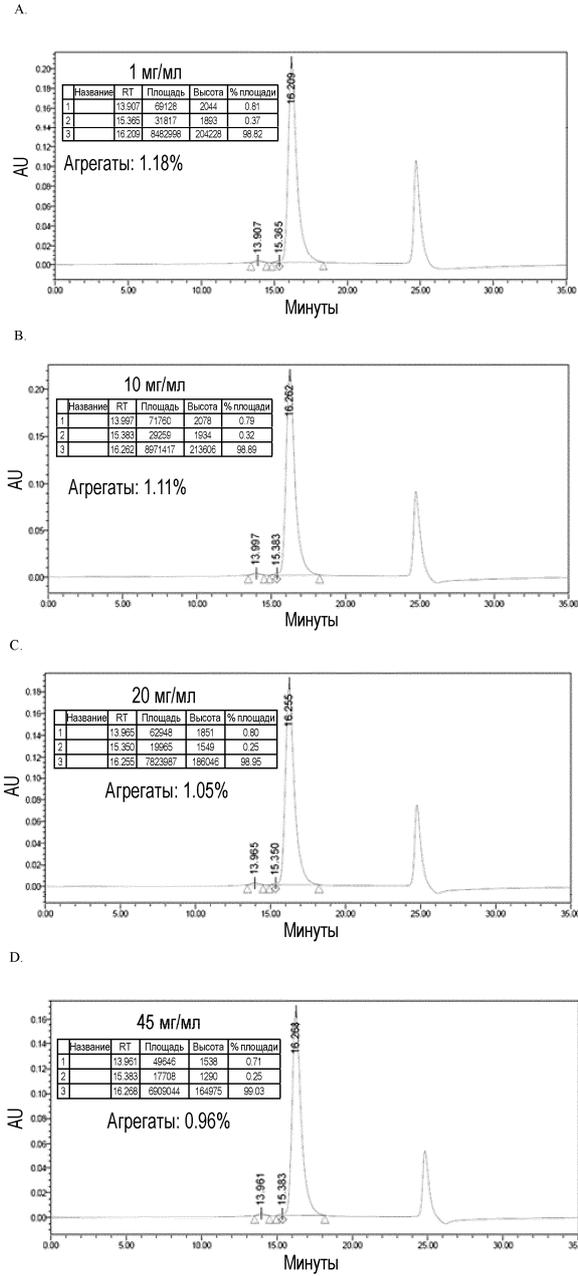
D.



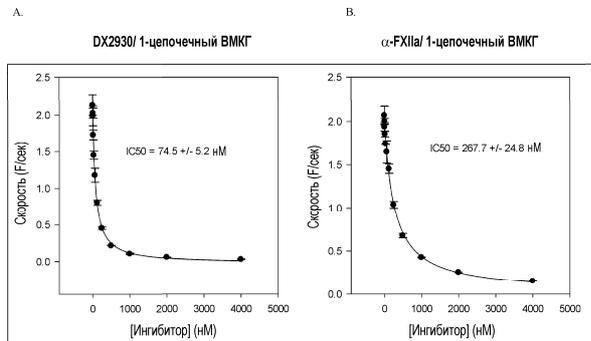
E.

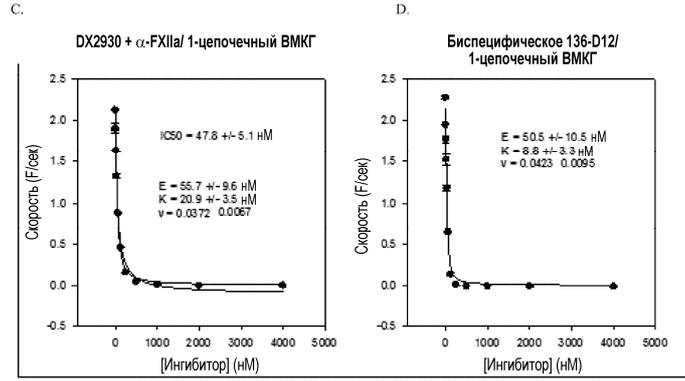


Фиг. 3А-Е

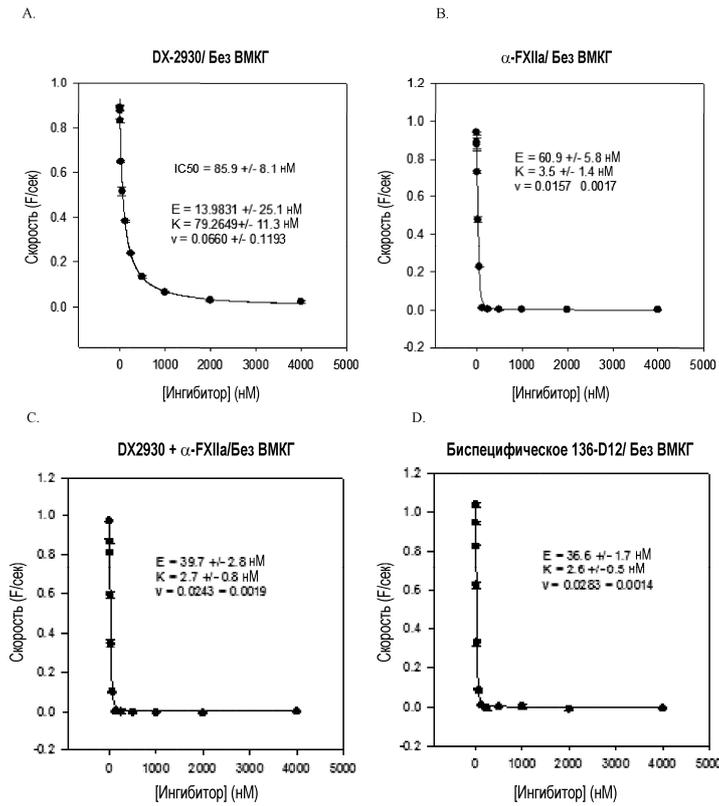


Фиг. 4А-Д

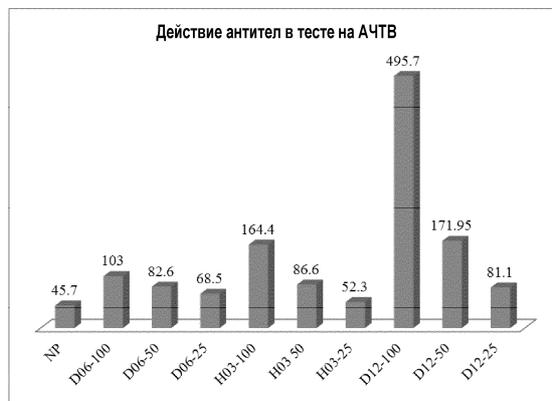




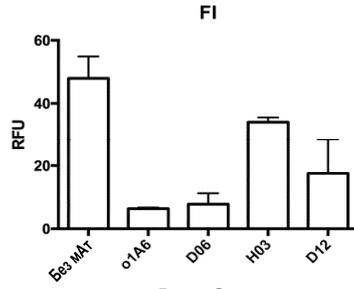
Фиг. 5A-D



Фиг. 6A-D

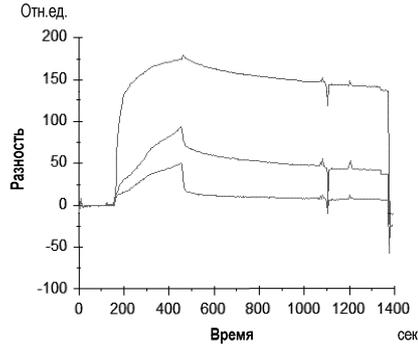


Фиг. 7

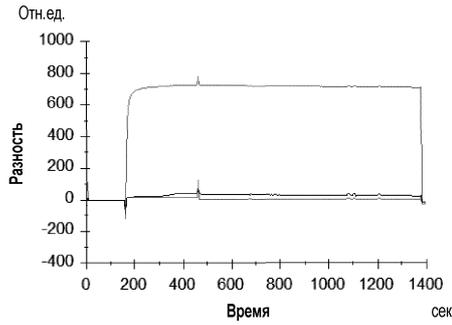


Фиг. 8

A.

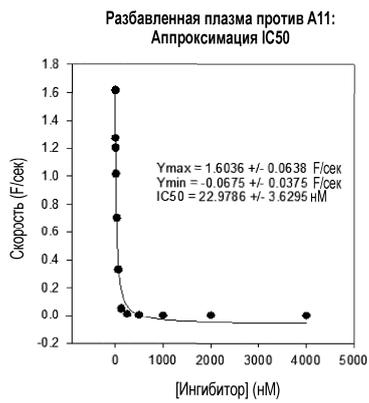


B.

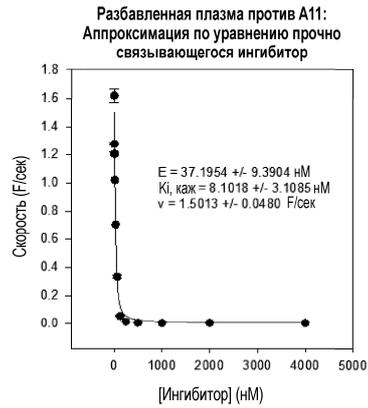


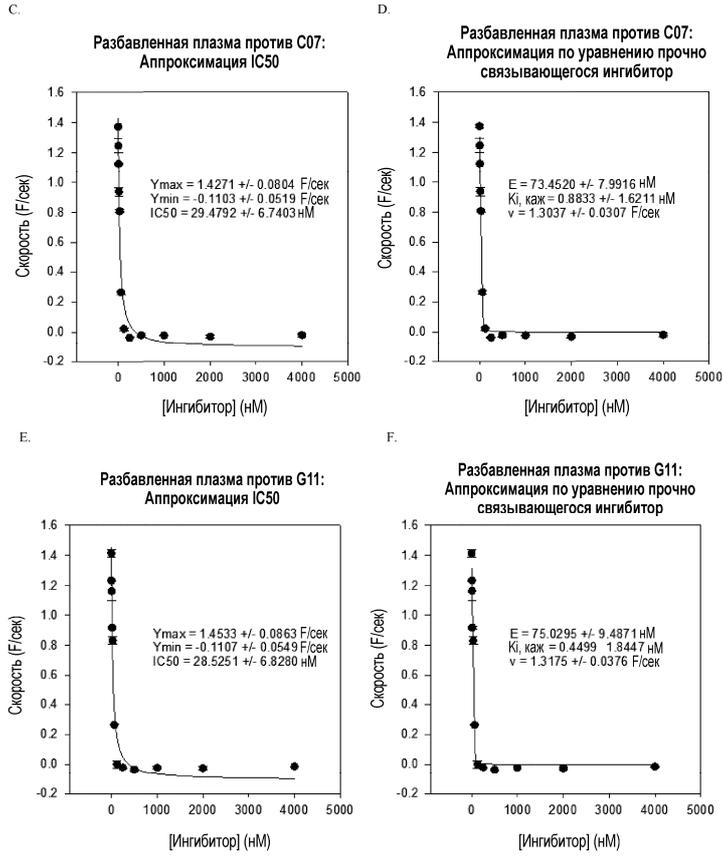
Фиг. 9А-В

A.

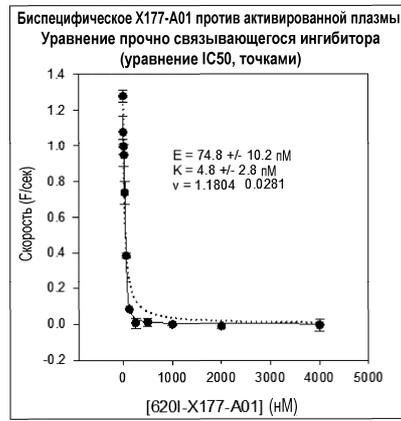


B.



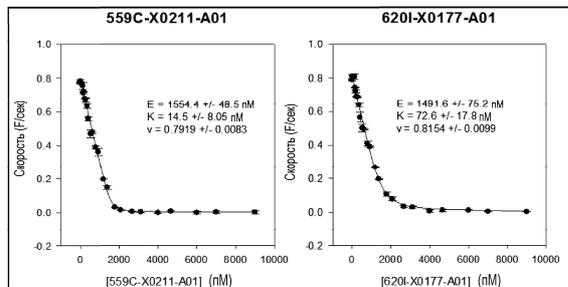


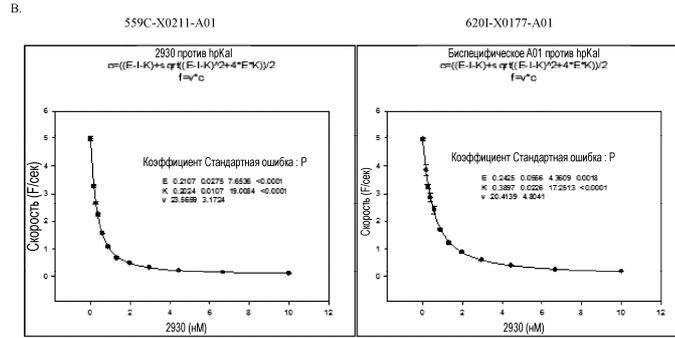
Фиг. 10А-Ф



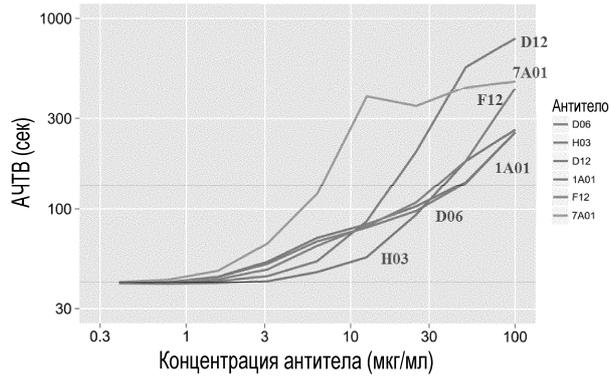
Фиг. 11

A.

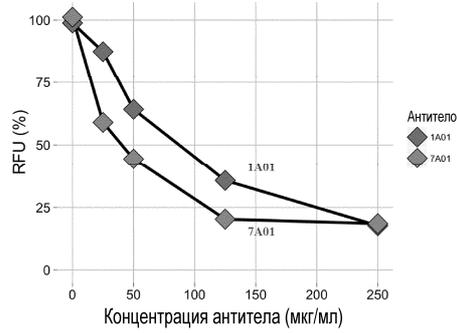




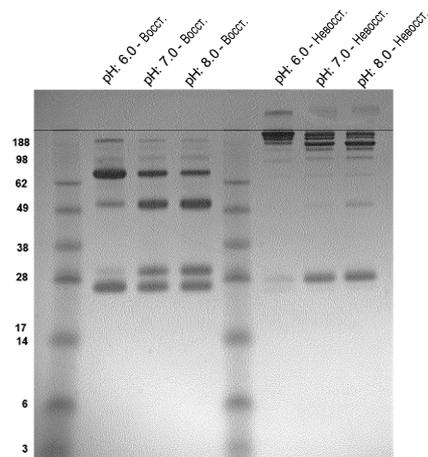
Фиг. 12



Фиг. 13

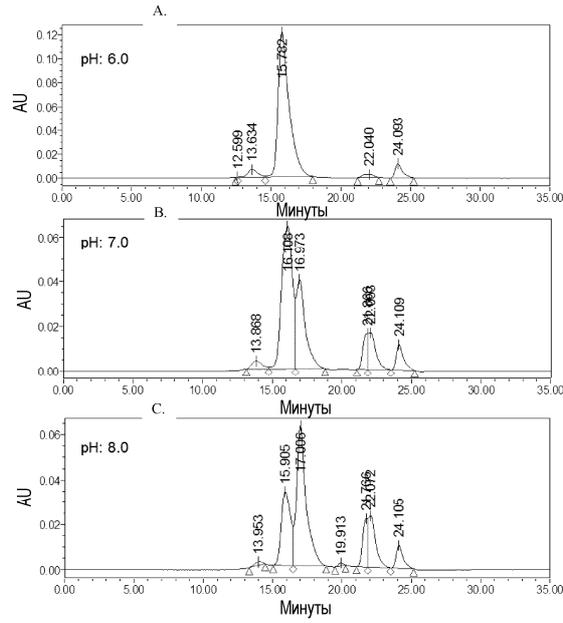


Фиг. 14

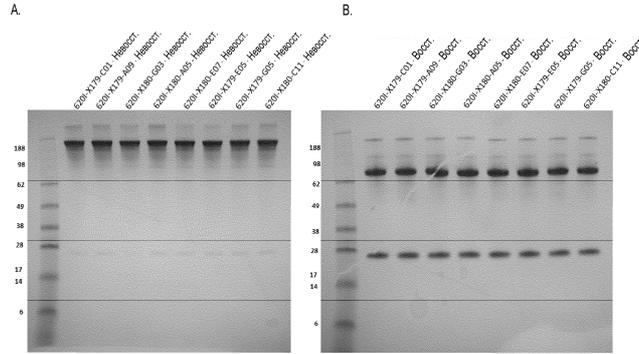


ПААГ с ДСН
Фиг. 15

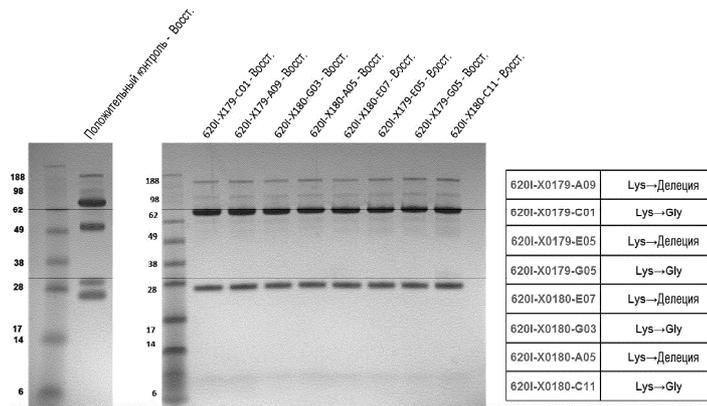
043404



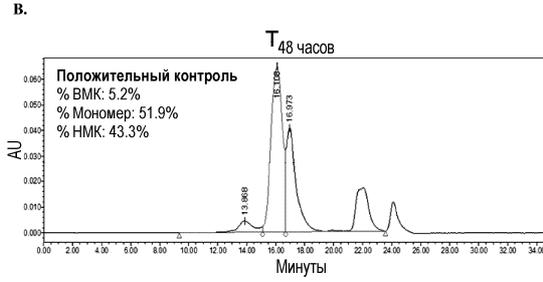
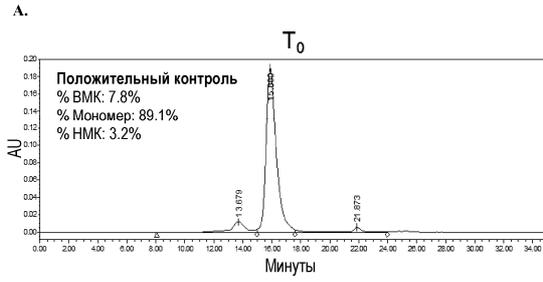
Фиг. 16



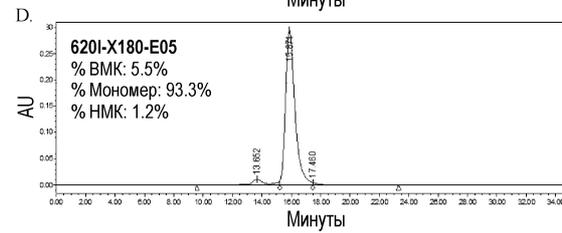
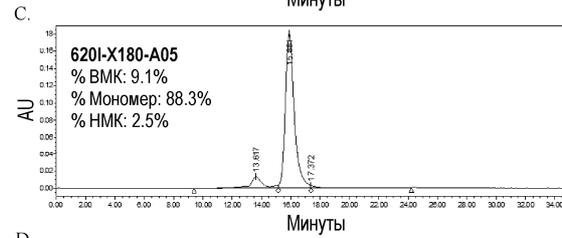
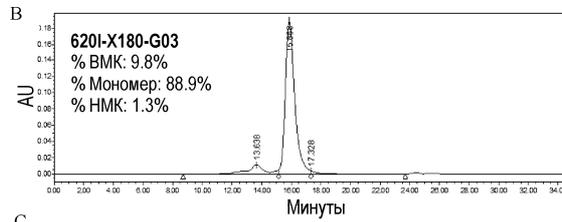
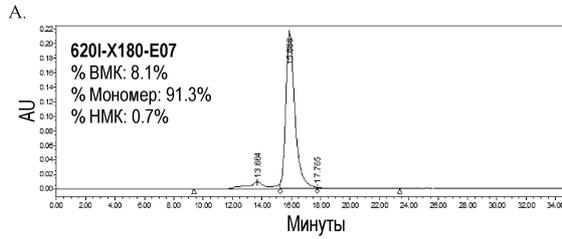
Фиг. 17



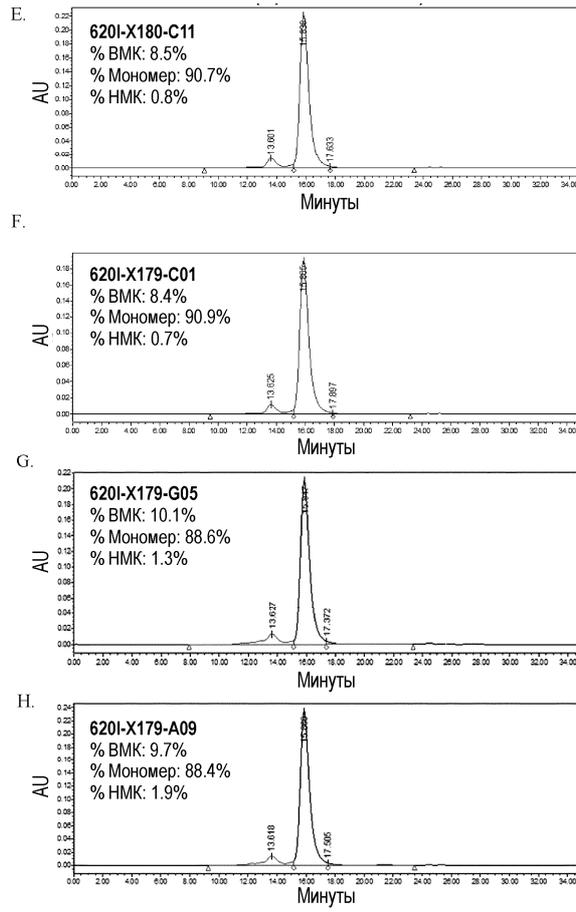
Фиг. 18



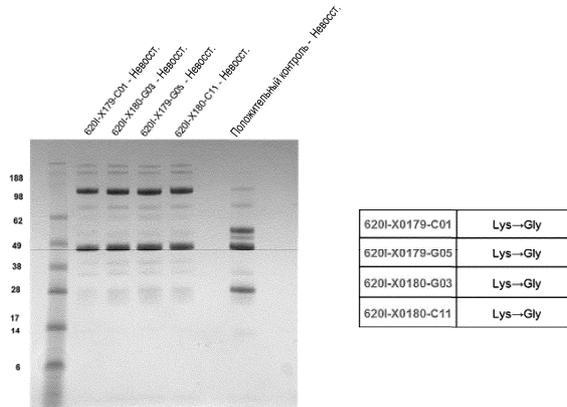
Фиг. 19



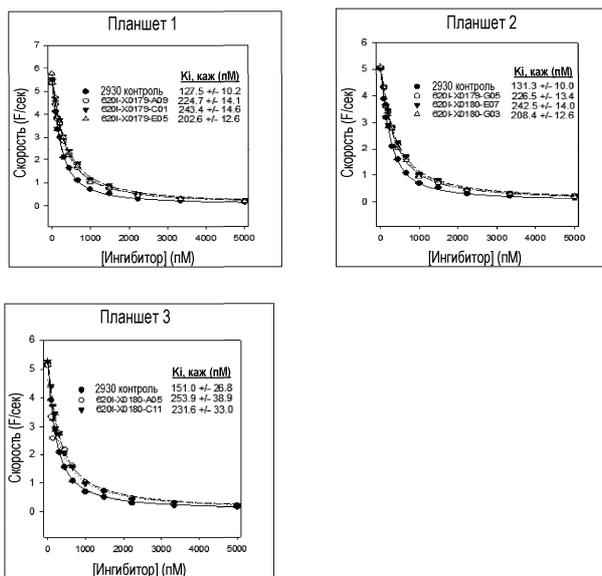
043404



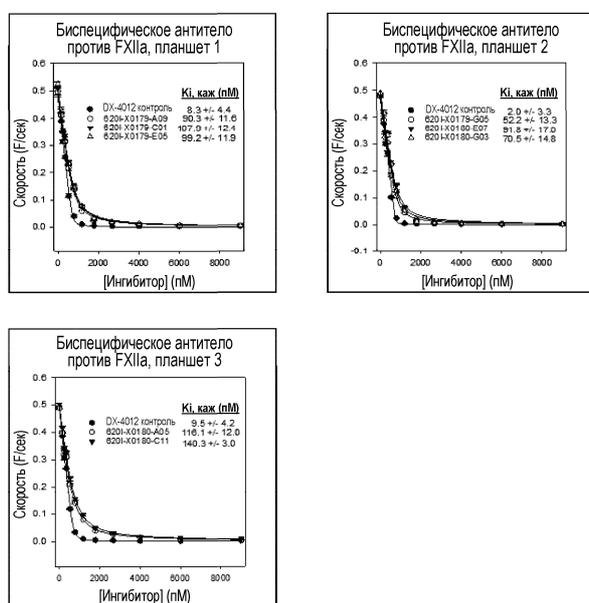
Фиг. 20А-Н



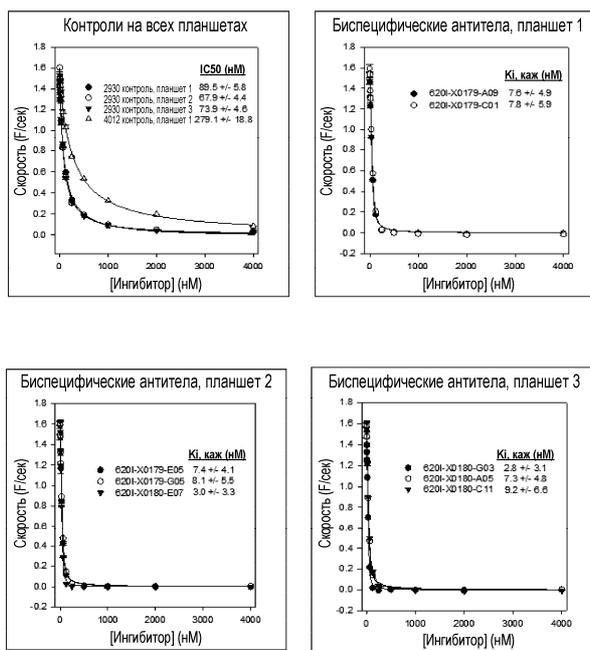
Фиг. 21



Фиг. 22



Фиг. 23



Фиг. 24



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2