



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

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2023.06.02**

**(21)** Номер заявки  
**201890285**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2016.07.13**

**(51)** Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)

**(54) АНТИТЕЛА ПРОТИВ PD-1, АКТИВИРУЕМЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ PD-1 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

**(31)** 62/191,902; 62/205,825; 62/295,314;  
62/323,543; 62/333,629

**(32)** 2015.07.13; 2015.08.17; 2016.02.15;  
2016.04.15; 2016.05.09

**(33)** US

**(43)** 2018.08.31

**(86)** PCT/US2016/042141

**(87)** WO 2017/011580 2017.01.19

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**САЙТОМКС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.**  
(US)

**(72)** Изобретатель:  
**Типтон Кимберли Энн, Уэст Джеймс**  
**Уилльям, Чан Чанти Мариатег (US)**

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

**(56)** WO-A1-2006121168  
US-B1-8735553  
WO-A1-2008156712  
US-A1-2014356363  
WO-A2-2014/179664  
US-A1-2013309250

KRISHNA R. POLU ET AL.: "Probody therapeutics for targeting antibodies to diseased tissue", EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY, vol. 14, no. 8, 1 August 2014 (2014-08-01), pages 1049-1053, XP055228738, ASHLEY, LONDON; GB, ISSN: 1471-2598, DOI:10.1517/14712598.2014.920814, title page 1049, paragraph 1, figure 1B, page 1052, right-hand column, paragraph 3

JOSHUA M. DONALDSON ET AL.: "Design and development of masked therapeutic antibodies to limit off-target effects: Application to anti-EGFR antibodies", CANCER BIOLOGY & THERAPY, vol. 8, no. 22, 15 November 2009 (2009-11-15), XP055274198, US, ISSN: 1538-4047, DOI:10.4161/cbt.8.22.9765, abstract, page 2145, right-hand column, paragraph 1

Ulrich H. Weidle ET AL.: "Proteases as activators for cytotoxic prodrugs in antitumor therapy", Cancer genomics & proteomics, 1 March 2014 (2014-03-01), page 67, XP055263152, Greece Retrieved from the Internet: URL: <http://cgp.iiarjournals.org/content/11/2/67.full.pdf> [retrieved on 2016-04-06] page 74 - page 75 page 74, right-hand column, paragraph 3, page 75, left-hand column, paragraph 1

WO-A2-2010081173

MEI GUAN ET AL.: "Adverse Events of Monoclonal Antibodies Used for Cancer Therapy", BIOMED RESEARCH INTERNATIONAL, vol. 21, no. 1, 1 January 2015 (2015-01-01), pages 80-13, XP055320217, US, ISSN: 2314-6133, DOI:10.1158/1078-0432.CCR-12-2982, the whole document

Kimberly A Tipton ET AL.: "PD-1 Probody™ Therapeutic Anti-tumor Efficacy and Protection Against Autoimmunity in Preclinical Models", 1 June 2016 (2016-06-01), pages 1-1, XP055321405, Retrieved from the Internet: URL: <http://cytomx.com/wp-content/uploads/2016/04/PD-1-ProbodyTM-Therapeutic-Anti-tumor-Efficacy-and-Protection-Against-Autoimmunity-in-Preclinical-Models-AACR-2016.pdf> [retrieved on 2016-11-21], the whole document

Anonymous: "/PD-1-ProbodyTM-Therapeutic-An BROWSE HISTORY, <http://cytomx.com/wp-content/uploads/2016/04/PD-1-ProbodyTM-Therapeutic-Anti-tumor-Efficacy-and-Protection-Against-Autoimmunity-in-Preclinical-Models-AACR-2016.pdf> [retrieved on 2016-11-21], the whole document

Anonymous: "International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances (INN) RECOMMENDED International Nonproprietary Names: List 72 Notice is hereby given that, in accordance with paragraph 7 of the Procedure for the Selection of Recommended International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substance", WHO Drug Information Rec. Wld Health Org. Resolution EB15.R7), 1 January 2014 (2014-01-01), pages 379-422, XP055320420, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.who.int/entity/medicines/publications/druginformation/inlists/RL72.pdf?ua=1> [retrieved on 2016-11-17], page 407

**(57)** Изобретение в целом относится к антителам, которые специфично связывают белок программируемой смерти клеток 1 (PD-1), активируемым антителам, которые специфично связываются с PD-1, и способам получения и применения таких антител против PD-1

и активируемых антител против PD-1 при различных терапевтических, диагностических и профилактических показаниях.

043582 B1

043582 B1

---

### Родственные заявки

Заявка на настоящий патент испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США 62/191,902, поданной 13 июля 2015 г.; предварительной заявки на патент США 62/205,825, поданной 17 августа 2015 г.; предварительной заявки на патент США 62/295,314, поданное 15 февраля 2016 г.; предварительной заявки на патент США 62/323,543, поданной 15 апреля 2016 г., и предварительной заявки на патент США 62/333,629, поданной 9 мая 2016 г.; содержание каждой из которых полностью включено в настоящее изобретение посредством отсылки.

### Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение в целом относится к антителам, которые специфично связывают белок программируемой смерти клеток 1 (PD-1), активируемым антителам, которые специфично связываются с PD-1, и способам получения и применения таких антител против PD-1 и активируемых антител против PD-1 в различных терапевтических, диагностических и профилактических показаниях.

### Уровень техники

Терапии, основанные на применении антител, доказали эффективность при лечении нескольких заболеваний, однако в некоторых случаях токсичность, обусловленная широкой экспрессией мишени, ограничивала их терапевтическую эффективность. Кроме того, терапия, основанная на применении антител, демонстрировала другие ограничения, такие как быстрый клиренс из кровотока после введения.

В условиях длительной стимуляции Т-клетки апрегулируют и поддерживают экспрессию ингибирующего рецептора PD-1 с негативной регуляцией качества и силы Т-клеточных ответов. Основным лиганд PD-1, PD-L1, апрегулирован на многих опухолевых клетках и был связан с ингибированием противоопухолевого Т-клеточного иммунитета посредством его связывания с PD-1 на инфильтрирующих опухолях Т-клетках.

Клинические испытания подтвердили способность антител блокировать PD-1 или PD-L1 с восстановлением активности длительного опухолеспецифичного иммунитета у больных с различными типами опухолей (Herbst et al., 2014; Lipson et al., 2015). Впрочем, поскольку подобные механизмы регулируют противоопухолевый иммунитет и аутоотолерантность, системная доставка таких терапий, направленно воздействующих на контрольные точки, может также индуцировать системный аутоиммунитет, который может быть усилен с применением методов комбинированного лечения, таких как ниволумаб или пембролизумаб (против PD-1) и ипилимумаб (против CTLA4). Таким образом, необходимы новые методы, которые обеспечивают противоопухолевую активность без нарушения регуляции системного иммунитета.

В области низкомолекулярных терапевтических средств были разработаны стратегии получения пролекарств активного химического соединения. Такие пролекарства вводят в относительно неактивной (или значительно менее активной) форме. После введения пролекарство метаболизируется *in vivo* в активное соединение. Такие стратегии получения пролекарств могут обеспечивать повышенную селективность лекарственного средства в отношении его предполагаемой мишени и уменьшение побочных действий.

Таким образом, в области терапии, основанной на применении антител, сохраняется потребность в антителах, которые воспроизводят требуемые характеристики низкомолекулярного пролекарства.

### Сущность изобретения

В настоящем описании предложены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связывают белок программируемой смерти клеток 1 (PD-1), также известный как CD279, SLEB2 и/или hSLE1. Использование термина "PD-1" должно охватывать любую его вариацию, такую как, в качестве неограничивающего примера, PD1 и/или PD 1, при этом все изменения используются в настоящем изобретении попеременно. Аберрантная экспрессия и/или активность PD-1 и PD-1-связанная сигнализация участвуют в патогенезе многих заболеваний и нарушений, таких как рак.

В настоящем изобретении предложены моноклональные антитела (мАт), активируемые антитела, а также их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связывают PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают PD-1. В некоторых вариантах осуществления, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают PD-1, являются моноклональным антителом, доменным антителом, одноцепочечным, Fab-фрагментом, F(ab')<sub>2</sub>-фрагментом, scFv, scAb dAb, однодоменным антителом из тяжелых цепей или однодоменным антителом их легких цепей. В некоторых вариантах осуществления такое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают PD-1, являются мышинным, другого грызуна, химерным, гуманизированным или полностью человеческим моноклональным антителом.

В некоторых вариантах осуществления антитело включает выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB), которые специфично связываются с PD-1 млекопитающего, где AB обладает одной или более характеристиками, выбранными из группы, состоящей из следующего: (a) AB ингибирует связывание PD-1 млекопитающего с PDL1 млекопитающего со значением EC<sub>50</sub> меньше 5 нМ; (b) AB ингибирует связывание PD-1 млекопитающего с PDL2 млекопитающего со значением EC<sub>50</sub> меньше 5 нМ; и (c) AB специфично связывается с PD-1 человека и PD-1 яванского макака.

В некоторых вариантах осуществления антитело специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации от 0,01 до 5 нМ, от 0,05 до 5 нМ, от 0,1 до 5 нМ, от 0,2 до 5 нМ, от 0,3 до 5 нМ, от 0,4 до 5 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,75 до 5 нМ, от 1 до 5 нМ, от 2 до 5 нМ, от 0,01 до 2 нМ, от 0,05 до 2 нМ, от 0,1 до 2 нМ, от 0,2 до 2 нМ, от 0,3 до 2 нМ, от 0,4 до 2 нМ, от 0,5 до 2 нМ, от 0,75 до 1 нМ, от 1 до 2 нМ, от 0,01 до 1 нМ, от 0,05 до 1 нМ, от 0,1 до 1 нМ, от 0,2 до 1 нМ, от 0,3 до 1 нМ, от 0,4 до 1 нМ, от 0,5 до 1 нМ, от 0,75 до 1 нМ, от 0,01 до 0,75 нМ, от 0,05 до 0,75 нМ, от 0,1 до 0,75 нМ, от 0,2 до 0,75 нМ, от 0,3 до 0,75 нМ, от 0,4 до 0,75 нМ, от 0,5 до 0,75 нМ, от 0,01 до 0,5 нМ, от 0,05 до 0,5 нМ, от 0,1 до 0,5 нМ, от 0,2 до 0,5 нМ, от 0,3 до 0,5 нМ, от 0,4 до 0,5 нМ, от 0,01 до 0,4 нМ, от 0,05 до 0,4 нМ, от 0,1 до 0,4 нМ, от 0,2 до 0,4 нМ, от 0,3 до 0,4 нМ, от 0,01 до 0,3 нМ, от 0,05 до 0,3 нМ, от 0,1 до 0,3 нМ, от 0,2 до 0,3 нМ, от 0,01 до 0,2 нМ, от 0,05 до 0,2 нМ, от 0,1 до 0,2 нМ, от 0,01 до 0,1 нМ, от 0,05 до 0,1 нМ или от 0,01 до 0,05 нМ.

В некоторых вариантах осуществления PD-1 млекопитающего выбран из группы, состоящей из PD-1 человека и PD-1 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления PD-1 млекопитающего является мышинным PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело специфично связывается с PD-1 человека и PD-1 яванского макака с константой диссоциации меньше или равной 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления PD-1 млекопитающего является человеческим PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации меньше или равной 0,01 нМ, меньше или равной 0,05 нМ, меньше или равной 0,1 нМ, меньше или равной 0,2 нМ, меньше или равной 0,3 нМ, меньше или равной 0,4 нМ, меньше или равной 0,5 нМ, меньше или равной 0,75 нМ и меньше или равной 1 нМ.

В некоторых вариантах осуществления антитело обладает одной или более характеристиками, выбранными из группы, состоящей из следующего: (a) АВ специфично связывает PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (b) АВ ингибирует связывание PDL1 человека и PDL2 человека с PD-1 человека; (c) АВ ингибирует связывание PDL1 яванского макака и PDL2 яванского макака с PD-1 яванского макака; (d) АВ специфично связывается с мышинным PD-1; и (e) АВ ингибирует связывание мышинового PDL1 и мышинового PDL2 с мышинным PD-1.

В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует способность природного лиганда связываться с PDL1 млекопитающего с  $EC_{50}$  от 0,1 до 10 нМ, от 0,1 до 5 нМ, от 0,1 до 3 нМ, от 0,1 до 2 нМ, от 0,1 до 1 нМ, от 0,1 до 0,5 нМ, от 0,1 до 0,25 нМ, от 0,25 до 10 нМ, от 0,25 до 5 нМ, от 0,25 до 3 нМ, от 0,25 до 2 нМ, от 0,25 до 1 нМ, от 0,25 до 0,5 нМ, от 0,5 до 10 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,5 до 3 нМ, от 0,5 до 2 нМ, от 0,5 до 1 нМ, от 1 до 10 нМ, от 1 до 5 нМ, от 1 до 3 нМ, от 1 до 2 нМ, от 2 до 10 нМ, от 2 до 5 нМ, от 2 до 3 нМ, от 3 до 10 нМ, от 3 до 5 нМ или от 5 до 10 нМ. В некоторых вариантах осуществления природным лигандом является PDL1 млекопитающего или PDL2 млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления природный лиганд выбран из группы, состоящей из: PDL1 человека, PDL2 человека, PDL1 яванского макака и PDL2 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления природным лигандом является мышинный PDL1 или мышинный PDL2.

В некоторых вариантах осуществления антитело блокирует способность природного лиганда связываться с PDL1 млекопитающего с  $EC_{50}$  меньше или равной 0,1 нМ, меньше или равной 0,25 нМ, меньше или равной 0,5 нМ, меньше или равной 1 нМ, меньше или равной 2 нМ, меньше или равной 3 нМ, меньше или равной 4 нМ, меньше или равной 5 нМ или меньше или равной 10 нМ.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 7, 11, 15, 19, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 и 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 и 59.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 включает легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 45. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 21, и лег-































В настоящем описании также предложены активируемые антитела, которые включают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают PD-1, соединенные с маскирующей частью (ММ), такой, что присоединение ММ уменьшает способность антитела или его антигенсвязывающего фрагмента связывать PD-1. В некоторых вариантах осуществления ММ присоединена через расщепляемую часть (СМ), которая включает последовательность, которая функционирует в качестве субстрата для протеазы. Активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию активируются при расщеплении расщепляемой части протеазой. Например, протеаза продуцирует опухоль, которая находится вблизи от Т-клеток, которые экспрессируют PD-1. В некоторых вариантах осуществления протеаза продуцирует опухоль, которая локализована с Т-клетками, которые экспрессируют PD-1.

Активируемые антитела против PD-1, предложенные в настоящем изобретении, также указанные в настоящем изобретении как активируемые антитела против PD-1 или активируемые антитела к PD-1, являются стабильными в кровотоке, активируются в предполагаемых участках терапии и/или диагностики, но не в нормальной, например, здоровой ткани или другой ткани, не предназначенной для лечения и/или диагностики, и, в случае активации, демонстрируют связывание с PD-1, которое, по меньшей мере, сопоставимо с соответствующим, немодифицированным антителом.

В изобретении также предложены способы лечения, предотвращения и/или задержки начала или прогрессии, или облегчения симптома, связанного с aberrантной экспрессией и/или активностью PD-1, у субъекта с применением антител или активируемых антител, которые связывают PD-1, в особенности активируемых антител, которые связывают и нейтрализуют или иным образом ингибируют по меньшей мере одну биологическую активность PD-1.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает активируемое антитело, которое в активированном состоянии специфично связывается с PD-1 млекопитающего, где указанное активируемое антитело включает: антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (АВ), которые специфично связываются с PD-1 млекопитающего; маскирующую часть (ММ), которая ингибирует связывание АВ с PD-1 млекопитающего, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии; и расщепляемую часть (СМ), соединенную с АВ, где СМ является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает активируемое антитело, которое в активированном состоянии: (а) специфично связывается с PD-1 млекопитающего; и (б) специфично блокирует связывание природного лиганда PD-1 с PD-1 млекопитающего, где активируемое антитело включает: антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (АВ), которые специфично связываются с PD-1 млекопитающего; маскирующую часть (ММ), которая ингибирует связывание АВ с PD-1 млекопитающего, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии; и расщепляемую часть (СМ), соединенную с АВ, где СМ является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в нерасщепленном состоянии специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации от 0,5 до 1 нМ, от 0,5 до 2 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,5 до 10 нМ, от 0,5 до 15 нМ, от 0,5 до 20 нМ, от 0,5 до 25 нМ, от 0,5 до 50 нМ, от 0,5 до 75 нМ, от 0,5 до 100 нМ, от 0,5 до 150 нМ, от 0,5 до 200 нМ, от 0,5 до 300 нМ, от 0,5 до 400 нМ, от 1 до 2 нМ, от 1 до 5 нМ, от 1 до 10 нМ, от 1 до 15 нМ, от 1 до 20 нМ, от 1 до 25 нМ, от 1 до 50 нМ, от 1 до 75 нМ, от 1 до 100 нМ, от 1 до 150 нМ, от 1 до 200 нМ, от 1 до 300 нМ, от 1 до 400 нМ, от 2 до 5 нМ, от 2 до 10 нМ, от 2 до 15 нМ, от 2 до 20 нМ, от 2 до 25 нМ, от 2 до 50 нМ, от 2 до 75 нМ, от 2 до 100 нМ, от 2 до 150 нМ, от 2 до 200 нМ, от 2 до 300 нМ, от 2 до 400 нМ, от 5 до 10 нМ, от 5 до 15 нМ, от 5 до 20 нМ, от 5 до 25 нМ, от 5 до 50 нМ, от 5 до 75 нМ, от 5 до 100 нМ, от 5 до 150 нМ, от 5 до 200 нМ, от 5 до 300 нМ, от 5 до 400 нМ, от 10 до 15 нМ, от 10 до 20 нМ, от 10 до 25 нМ, от 10 до 50 нМ, от 10 до 75 нМ, от 10 до 100 нМ, от 10 до 150 нМ, от 10 до 200 нМ, от 10 до 300 нМ, от 10 до 400 нМ, от 15 до 20 нМ, от 15 до 25 нМ, от 15 до 50 нМ, от 15 до 75 нМ, от 15 до 100 нМ, от 15 до 150 нМ, от 15 до 200 нМ, от 15 до 300 нМ, от 15 до 400 нМ, от 20 до 25 нМ, от 20 до 50 нМ, от 20 до 75 нМ, от 20 до 100 нМ, от 20 до 150 нМ, от 20 до 200 нМ, от 20 до 300 нМ, от 20 до 400 нМ, от 25 до 50 нМ, от 25 до 75 нМ, от 25 до 100 нМ, от 25 до 150 нМ, от 25 до 200 нМ, от 25 до 300 нМ, от 25 до 400 нМ, от 50 до 75 нМ, от 50 до 100 нМ, от 50 до 150 нМ, от 50 до 200 нМ, от 50 до 300 нМ, от 50 до 400 нМ, от 75 до 100 нМ, от 75 до 150 нМ, от 75 до 200 нМ, от 75 до 300 нМ, от 75 до 400 нМ, от 100 до 150 нМ, от 100 до 200 нМ, от 100 до 300 нМ, от 100 до 400 нМ, от 150 до 200 нМ, от 150 до 300 нМ, от 150 до 400 нМ, от 200 до 300 нМ, от 200 до 400 нМ или от 300 до 400 нМ.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в активированном состоянии специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации от 0,01 до 5 нМ, от 0,05 до 5 нМ, от 0,1 до 5 нМ, от 0,2 до 5 нМ, от 0,3 до 5 нМ, от 0,4 до 5 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,75 до 5 нМ, от 1 до 5 нМ, от 2 до 5 нМ, от 0,01 до 2 нМ, от 0,05 до 2 нМ, от 0,1 до 2 нМ, от 0,2 до 2 нМ, от 0,3 до 2 нМ, от 0,4 до 2 нМ, от 0,5 до 2 нМ, от 0,75 до 2 нМ, от 1 до 2 нМ, от 0,01 до 1 нМ, от 0,05 до 1 нМ, от 0,1 до 1 нМ, от 0,2 до 1 нМ, от 0,3 до 1 нМ, от 0,4 до 1 нМ, от 0,5 до 1 нМ, от 0,75 до 1 нМ, от 0,01 до 0,75 нМ, от 0,05 до 0,75 нМ, от 0,1 до 0,75 нМ, от 0,2 до 0,75 нМ, от 0,3 до 0,75 нМ, от 0,4 до 0,75 нМ, от 0,5 до 0,75 нМ, от

0,01 до 0,5 нМ, от 0,05 до 0,5 нМ, от 0,1 до 0,5 нМ, от 0,2 до 0,5 нМ, от 0,3 до 0,5 нМ, от 0,4 до 0,5 нМ, от 0,01 до 0,4 нМ, от 0,05 до 0,4 нМ, от 0,1 до 0,4 нМ, от 0,2 до 0,4 нМ, от 0,3 до 0,4 нМ, от 0,01 до 0,3 нМ, от 0,05 до 0,3 нМ, от 0,1 до 0,3 нМ, от 0,2 до 0,3 нМ, от 0,01 до 0,2 нМ, от 0,05 до 0,2 нМ, от 0,1 до 0,2 нМ, от 0,01 до 0,1 нМ, от 0,05 до 0,1 нМ или от 0,01 до 0,05 нМ.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает АВ, которое специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации от 0,01 до 5 нМ, от 0,05 до 5 нМ, от 0,1 до 5 нМ, от 0,2 до 5 нМ, от 0,3 до 5 нМ, от 0,4 до 5 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,75 до 5 нМ, от 1 до 5 нМ, от 2 до 5 нМ, от 0,01 до 2 нМ, от 0,05 до 2 нМ, от 0,1 до 2 нМ, от 0,2 до 2 нМ, от 0,3 до 2 нМ, от 0,4 до 2 нМ, от 0,5 до 2 нМ, от 0,75 до 1 нМ, от 1 до 2 нМ, от 0,01 до 1 нМ, от 0,05 до 1 нМ, от 0,1 до 1 нМ, от 0,2 до 1 нМ, от 0,3 до 1 нМ, от 0,4 до 1 нМ, от 0,5 до 1 нМ, от 0,75 до 1 нМ, от 0,01 до 0,75 нМ, от 0,05 до 0,75 нМ, от 0,1 до 0,75 нМ, от 0,2 до 0,75 нМ, от 0,3 до 0,75 нМ, от 0,4 до 0,75 нМ, от 0,5 до 0,75 нМ, от 0,01 до 0,5 нМ, от 0,05 до 0,5 нМ, от 0,1 до 0,5 нМ, от 0,2 до 0,5 нМ, от 0,3 до 0,5 нМ, от 0,4 до 0,5 нМ, от 0,01 до 0,4 нМ, от 0,05 до 0,4 нМ, от 0,1 до 0,4 нМ, от 0,2 до 0,4 нМ, от 0,3 до 0,4 нМ, от 0,01 до 0,3 нМ, от 0,05 до 0,3 нМ, от 0,1 до 0,3 нМ, от 0,2 до 0,3 нМ, от 0,01 до 0,2 нМ, от 0,05 до 0,2 нМ, от 0,1 до 0,2 нМ, от 0,01 до 0,1 нМ, от 0,05 до 0,1 нМ или от 0,01 до 0,05 нМ.

В некоторых вариантах осуществления PD-1 млекопитающего выбран из группы, состоящей из PD-1 человека и PD-1 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления АВ специфично связывается с PD-1 человека и PD-1 яванского макака с константой диссоциации меньше или равной 1 нМ. В некоторых вариантах осуществления PD-1 млекопитающего является человеческим PD-1. В некоторых вариантах осуществления АВ обладает одной или более характеристиками, выбранными из группы, состоящей из следующего: (а) АВ специфично связывает PD-1 человека и PD-1 яванского макака; (б) АВ ингибирует связывание человеческого PDL1 и человеческого PDL2 с PD-1 человека; и (с) АВ ингибирует связывание PDL1 яванского макака и PDL2 яванского макака с PD-1 яванского макака.

В некоторых вариантах осуществления PD-1 млекопитающего является мышинным PD-1. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает АВ, которое специфично связывает мышинный PD-1 или ингибирует связывание мышинного PDL1 и мышинного PDL2 с мышинным PD-1.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в нерасщепленном состоянии специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации больше или равной 0,5 нМ, больше или равной 1 нМ, больше или равной 2 нМ, больше или равной 3 нМ, больше или равной 4 нМ, больше или равной 5 нМ, больше или равной 10 нМ, больше или равной 15 нМ, больше или равной 20 нМ, больше или равной 25 нМ, больше или равной 50 нМ, больше или равной 75 нМ, больше или равной 100 нМ, больше или равной 150 нМ, больше или равной 200 нМ, больше или равной 300 нМ и/или больше или равной 400 нМ.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в активированном состоянии специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации меньше или равной 0,01 нМ, меньше или равной 0,05 нМ, меньше или равной 0,1 нМ, меньше или равной 0,2 нМ, меньше или равной 0,3 нМ, меньше или равной 0,4 нМ, меньше или равной 0,5 нМ, меньше или равной 0,75 нМ и меньше или равной 1 нМ.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает АВ, которое специфично связывается с PD-1 млекопитающего с константой диссоциации меньше или равной 0,01 нМ, меньше или равной 0,05 нМ, меньше или равной 0,1 нМ, меньше или равной 0,2 нМ, меньше или равной 0,3 нМ, меньше или равной 0,4 нМ, меньше или равной 0,5 нМ, меньше или равной 0,75 нМ и меньше или равной 1 нМ.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает АВ, которое блокирует способность природного лиганда связываться с PDL1 млекопитающего с  $EC_{50}$  от 0,1 до 10 нМ, от 0,1 до 5 нМ, от 0,1 до 3 нМ, от 0,1 до 2 нМ, от 0,1 до 1 нМ, от 0,1 до 0,5 нМ, от 0,1 до 0,25 нМ, от 0,25 до 10 нМ, от 0,25 до 5 нМ, от 0,25 до 3 нМ, от 0,25 до 2 нМ, от 0,25 до 1 нМ, от 0,25 до 0,5 нМ, от 0,5 до 10 нМ, от 0,5 до 5 нМ, от 0,5 до 3 нМ, от 0,5 до 2 нМ, от 0,5 до 1 нМ, от 1 до 10 нМ, от 1 до 5 нМ, от 1 до 3 нМ, от 1 до 2 нМ, от 2 до 10 нМ, от 2 до 5 нМ, от 2 до 3 нМ, от 3 до 10 нМ, от 3 до 5 нМ или от 5 до 10 нМ.

В некоторых вариантах осуществления природным лигандом является PDL1 млекопитающего или PDL2 млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления природный лиганд выбран из группы, состоящей из: PDL1 человека, PDL2 человека, PDL1 яванского макака и PDL2 яванского макака.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело обладает одной или более следующими характеристиками: (а) АВ вызывает диабет 1 типа у мыши с диабетом без ожирения (NOD); и (б) активируемое антитело в нерасщепленном состоянии ингибирует индукцию диабета 1 типа у NOD мыши.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело ингибирует индукцию диабета 1 типа у NOD мыши после введения активируемого антитела в однократной дозе от 0,5 до 15 мг/кг, от 1 до 15 мг/кг, от 2 до 15 мг/кг, от 3 до 15 мг/кг, от 5 до 15 мг/кг, от 10 до 15 мг/кг, от 0,5 до 10 мг/кг, от 1 до 10 мг/кг, от 2 до 10 мг/кг, от 3 до 10 мг/кг, от 5 до 10 мг/кг, от 0,5 до 5 мг/кг, от 1 до 5 мг/кг, от 2 до 5 мг/кг, от 3 до 5 мг/кг, от 0,5 до 3 мг/кг, от 1 до 3 мг/кг, от 2 до 3 мг/кг, от 0,5 до 2 мг/кг, от 1 до 2 мг/кг или от 0,5 до 1 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело ингибирует индукцию диа-





ции NOD мышей параллельно вводят дозу антитела против CTLA4.

В некоторых вариантах осуществления популяции NOD мышей вводят однократную дозу активируемого антитела в дозе от 2 до 15 мг/кг, от 3 до 15 мг/кг, от 5 до 15 мг/кг, от 10 до 15 мг/кг, от 2 до 10 мг/кг, от 3 до 10 мг/кг, от 5 до 10 мг/кг, от 2 до 5 мг/кг, от 3 до 5 мг/кг или от 2 до 3 мг/кг одновременно с дозой антитела против CTLA4. В некоторых вариантах осуществления популяции NOD мышей вводят однократную дозу активируемого антитела в дозе 10 мг/кг одновременно с дозой антитела против CTLA4.

В некоторых вариантах осуществления популяции NOD мышей вводят однократную дозу антитела против CTLA4 в дозе от 2 до 15 мг/кг, от 3 до 15 мг/кг, от 5 до 15 мг/кг или от 10 до 15 мг/кг одновременно с дозой активируемого антитела против PD-1. В некоторых вариантах осуществления популяции NOD мышей вводят однократную дозу антитела против CTLA4 в дозе 10 мг/кг одновременно с дозой активируемого антитела против PD-1.

В некоторых вариантах осуществления популяции NOD мышей вводят однократную дозу активируемого антитела в дозе от 5 до 15 мг/кг и однократную дозу антитела против CTLA4 в дозе от 5 до 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления популяции NOD мышей вводят однократную дозу активируемого антитела в дозе 10 мг/кг одновременно с однократной дозой антитела против CTLA4 в дозе 10 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления NOD мышья является самкой мыши сублинии NOD/ShiLtJ. В некоторых вариантах осуществления в популяции NOD мышей каждая мышь имеет возраст 5 недель на момент первого введения активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления в популяции NOD мышей каждая мышь имеет возраст 10 недель на момент первого введения активируемого антитела.

Активируемые антитела в активированном состоянии связывают PD-1 и включают: (i) антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB), которые специфично связываются с PD-1; (ii) маскирующую часть (MM), которая, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, ингибирует связывание AB с PD-1; и (c) расщепляемую часть (CM), соединенную с AB, где CM является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру, от N-конца к C-концу: MM-CM-AB или AB-CM-MM.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает соединительный пептид между MM и CM.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает соединительный пептид между CM и AB.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает первый соединительный пептид (LP1) и второй соединительный пептид (LP2), и где активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру, от N-конца к C-концу: MM-LP1-CM-LP2-AB или AB-LP2-CM-LP1-MM. В некоторых вариантах осуществления два соединительных пептида не должны обязательно быть идентичными друг другу. В некоторых вариантах осуществления каждый из LP1 и LP2 является пептидом длиной приблизительно 1-20 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из LP1 или LP2 включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из  $(GS)_n$ ,  $(GGS)_n$ ,  $(GSGGS)_n$  (SEQ ID NO: 363) и  $(GGGS)_n$  (SEQ ID NO: 364), где  $n$  является целым числом, равным по меньшей мере единице.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из LP1 или LP2 включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из GGSG (SEQ ID NO: 365), GGSGG (SEQ ID NO: 366), GSGSG (SEQ ID NO: 367), GSGGG (SEQ ID NO: 368), GGGSG (SEQ ID NO: 369) и GSSSG (SEQ ID NO: 370).

В некоторых вариантах осуществления LP1 включает аминокислотную последовательность GSSGGSGGSGG (SEQ ID NO: 371), GSSGGSGGSGG (SEQ ID NO: 372), GSSGGSGGSGGS (SEQ ID NO: 373), GSSGGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO: 374), GSSGGSGGSG (SEQ ID NO: 375), GSSGGSGGSGS (SEQ ID NO: 376), GGGSSGGS (SEQ ID NO: 65) или GGGSSGG (SEQ ID NO: 1040).

В некоторых вариантах осуществления LP2 включает аминокислотную последовательность GSS, GGS, GGGS (SEQ ID NO: 377), GSSGT (SEQ ID NO: 378) или GSSG (SEQ ID NO: 379).

В некоторых вариантах осуществления AB имеет константу диссоциации ( $K_d$ ) приблизительно 100 нМ или меньше в отношении связывания с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB), которые специфично связывают PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают PD-1, являются моноклональным антителом, доменным антителом, одноцепочечным, Fab-фрагментом, F(ab')<sub>2</sub>-фрагментом, scFv, scAb, dAb, однодоменным антителом из тяжелой цепи или однодоменным антителом из легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления такое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают PD-1, являются мышинным, другого грызуна, химерным, гуманизированным или полностью человеческим моноклональным антителом.





В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области легкой цепи 1 (VL CDR1, также указанной в настоящем изобретении как CDRL1), последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области легкой цепи 2 (VL CDR2, также указанной в настоящем изобретении как CDRL2) и последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области легкой цепи 3 (VL CDR3, также указанной в настоящем изобретении как CDRL3), где последовательность VL CDR1 включает QSVSSY (SEQ ID NO: 1708); последовательность VL CDR2 включает DAS (SEQ ID NO: 1709); и последовательность VL CDR3 включает QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательности VH CDR1, последовательности VH CDR2, последовательности VH CDR3, последовательности VL CDR1, последовательности VL CDR2 и последовательности VL CDR3, где последовательность VH CDR1 включает GITFSNSG (SEQ ID NO: 1705); последовательность VH CDR2 включает IWYDGSKR (SEQ ID NO: 1706); последовательность VH CDR3 включает TNDDY (SEQ ID NO: 1707); последовательность VL CDR1 включает QSVSSY (SEQ ID NO: 1708); последовательность VL CDR2 включает DAS (SEQ ID NO: 1709); и последовательность VL CDR3 включает QQSSNWPRT (SEQ ID NO: 1710).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательностей определяющих комплементарность областей (CDR) аминокислотной последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 1514. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию CDR последовательностей аминокислотной последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 638. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию CDR последовательностей аминокислотной последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 1514, и CDR последовательностей аминокислотной последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 638.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области тяжелой цепи 1 (VH CDR1, также указанной в настоящем изобретении как CDRH1), последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области тяжелой цепи 2 (VH CDR2, также указанной в настоящем изобретении как CDRH2) и последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области тяжелой цепи 3 (VH CDR3, также указанной в настоящем изобретении как CDRH3), где последовательность VH CDR1 включает GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711); последовательность VH CDR2 включает INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712); и последовательность VH CDR3 включает RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области легкой цепи 1 (VL CDR1, также указанной в настоящем изобретении как CDRL1), последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области легкой цепи 2 (VL CDR2, также указанной в настоящем изобретении как CDRL2) и последовательности определяющей комплементарность области вариабельной области легкой цепи 3 (VL CDR3, также указанной в настоящем изобретении как CDRL3), где последовательность VL CDR1 включает KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714); последовательность VL CDR2 включает LAS (SEQ ID NO: 1715); и последовательность VL CDR3 включает QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательности VH CDR1, последовательности VH CDR2, последовательности VH CDR3, последовательности VL CDR1, последовательности VL CDR2 и последовательности VL CDR3, где последовательность VH CDR1 включает GYTFTNYY (SEQ ID NO: 1711); последовательность VH CDR2 включает INPSNGGT (SEQ ID NO: 1712); последовательность VH CDR3 включает RRDYRFDMGFDY (SEQ ID NO: 1713); последовательность VL CDR1 включает KGVSTSGYSY (SEQ ID NO: 1714); последовательность VL CDR2 включает LAS (SEQ ID NO: 1715); и последовательность VL CDR3 включает QHSRDLPLT (SEQ ID NO: 1716).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает аминокислотную последовательность тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает аминокислотную последовательность легкой цепи, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 3, 7, 11, 15, 19, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 и 59. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает аминокислотную последовательность тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37, и аминокислотную последовательность легкой цепи, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93,

















































новой кислоты легкой цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 4, 8, 12, 16, 20, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 и 60. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело кодируется последовательностью нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности нуклеиновой кислоты тяжелой цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36 и 38, и последовательностью нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична последовательности нуклеиновой кислоты легкой цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58 и 60.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет константу диссоциации, т.е. константа диссоциации в состоянии равновесия,  $K_d$  для связывания с АВ, которая превышает  $K_d$  для связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая не превышает  $K_d$  для связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая не меньше  $K_d$  для связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая приблизительно равна  $K_d$  для связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая меньше  $K_d$  для связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая не более чем в 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 или 1000 раз превышает  $K_d$  для связывания АВ с PD-1. В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая в пределах 1-5, 2-5, 2-10, 5-10, 5-20, 5-50, 5-100, 10-100, 10-1000, 20-100, 20-1000 или 100-1000 раз превышает  $K_d$  для связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая меньше аффинности связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая не превышает аффинность связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая приблизительно равна аффинности связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая не меньше аффинности связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая превышает аффинность связывания АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая в 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 или 1000 раз меньше аффинности связывания АВ с PD-1. В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая в пределах 1-5, 2-5, 2-10, 5-10, 5-20, 5-50, 5-100, 10-100, 10-1000, 20-100, 20-1000 или 100-1000 раз меньше аффинности связывания АВ с PD-1. В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая в 2-20 раз меньше аффинности связывания АВ с PD-1. В некоторых вариантах осуществления ММ нековалентно связана с АВ и при эквимоллярной концентрации к АВ не ингибирует связывание АВ с PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ не препятствует или не конкурирует с АВ за связывание с PD-1, когда активируемое антитело находится в расщепленном состоянии.

В некоторых вариантах осуществления ММ является полипептидом длиной приблизительно 2-40 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления ММ является полипептидом длиной до приблизительно 40 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления ММ является полипептидом длиной не больше 40 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления последовательность полипептида ММ отличается от последовательности PD-1. В некоторых вариантах осуществления последовательность полипептида ММ отличается от последовательности человеческого PD-1. В некоторых вариантах осуществления последовательность полипептида ММ не больше чем на 50% идентична любому природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления последовательность полипептида ММ отличается от последовательности PD-1 и не больше чем на 40%, 30%, 25%, 20%, 15% или 10% идентична любому природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления последовательность полипептида ММ не больше чем на 50% идентична человеческому PD-1. В некоторых вариантах осуществления последовательность полипептида ММ отличается от последовательности PD-1 и не больше чем на 40%, 30%, 25%, 20%, 15% или 10% идентична человеческому PD-1.

В некоторых вариантах осуществления ММ включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 66-213, 384-514, 548-571, 1206-1295 и 1351-1465. В некоторых вариантах осуществления ММ включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 66-213, 384-514, 548-571, 1206-1295 и 1351-1465. В некоторых вариантах осуществления ММ включает аминокислотную последовательность, выбранную из



В некоторых вариантах осуществления соединение ММ с АВ уменьшает способность АВ связывать PD-1 таким образом, что константа диссоциации ( $K_d$ ) АВ, при соединении с ММ, в отношении PD-1 по меньшей мере в 10000 раз больше, чем  $K_d$  АВ, если оно не соединено с ММ, в отношении PD-1.

В некоторых вариантах осуществления, в присутствии PD-1, ММ уменьшает способность АВ связывать PD-1 по меньшей мере на 90%, когда СМ не расщеплен, по сравнению с тем, когда СМ расщеплен, при анализе *in vitro* с помощью анализа с вытеснением мишени, такого как, например, анализ, описанный в публикации PCT WO 2010/081173, содержание которой настоящим полностью включено посредством отсылки.

В некоторых вариантах осуществления протеаза, которая расщепляет СМ, активна, например агрегуирована, в пораженной ткани, при этом протеаза расщепляет СМ в активируемом антителе, когда активируемое антитело подвергается воздействию протеазы.

В некоторых вариантах осуществления протеазу продуцирует опухоль, которая находится вблизи от Т-клеток, которые экспрессируют PD-1, и протеаза расщепляет СМ в активируемом антителе, когда активируемое антитело подвергается воздействию протеазы. В некоторых вариантах осуществления протеазу продуцирует опухоль, которая колокализирована с Т-клетками, которые экспрессируют PD-1, и протеаза расщепляет СМ в активируемом антителе, когда активируемое антитело подвергается воздействию протеазы.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в два раза больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии (т.е. когда активируемое антитело находится в расщепленном состоянии) АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в пять раз больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии (т.е. когда активируемое антитело находится в расщепленном состоянии) АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в 10 раз больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии (т.е. когда активируемое антитело находится в расщепленном состоянии) АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в 20 раз больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии (т.е. когда активируемое антитело находится в расщепленном состоянии) АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в 40 раз больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в 50 раз больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в 100 раз больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ помещают в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание активируемого антитела с PD-1 уменьшается с константой диссоциации, которая по меньшей мере в 200 раз больше, чем константа диссоциации для связывания немодифицированного АВ с PD-1, тогда как в расщепленном состоянии АВ связывает PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ является полипептидом длиной до 15 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления СМ является полипептидом, который включает первую расщепляемую часть (СМ1), которая является субстратом по меньшей мере для одной матричной металлопротеиназы (ММР), и вторую расщепляемую часть (СМ2), которая является субстратом по меньшей мере для одной сериновой протеазы (SP). В некоторых вариантах осуществления каждая субстрат-

ная последовательность СМ1 и субстратная последовательность СМ2 СМ1-СМ2 субстрата независимо представляет собой полипептид длиной до 15 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом по меньшей мере для одной протеазы, которая апрегулирована или предположительно апрегулирована при раке. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом по меньшей мере для одной протеазы, которая апрегулирована или предположительно апрегулирована при воспалении. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом по меньшей мере для одной протеазы, которая апрегулирована или предположительно апрегулирована при аутоиммунной реакции.

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом по меньшей мере для одной протеазы, выбранной из группы, состоящей из матриксной металлопротеиназы (ММР), тромбина, эластазы нейтрофилов, цистеиновой протеазы, лемуина и сериновой протеазы, такой как матриптаза (МТ-SP1) и урокиназа (uPA). Без ограничения теорией, считается, что такие протеазы апрегулированы по меньшей мере при одном из рака, воспаления и/или аутоиммунной реакции.

Примеры субстратов включают, без ограничения перечисленными, субстраты, расщепляемые один или более следующими ферментами или протеазами, перечисленными в табл. 3.

В некоторых вариантах осуществления СМ выбрана для применения с определенной протеазой, например протеазой, которая, как известно, колокализирована с мишенью активируемого антитела. Например, протеаза продуцирует опухоль, которая находится вблизи от Т-клеток, которые экспрессируют PD-1. В некоторых вариантах осуществления протеаза продуцирует опухоль, которая колокализирована с Т-клетками, которые экспрессируют PD-1.

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом по меньшей мере для одной ММР. Примеры ММР включают ММР, перечисленные в табл. 3. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для протеазы, выбранной из группы, состоящей из ММР9, ММР14, ММР1, ММР3, ММР13, ММР17, ММР11 и ММР19. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для ММР9. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для ММР14.

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом, который включает последовательность

TGRGPSWV (SEQ ID NO: 295); SARGPSRW (SEQ ID NO: 319); TARGPSEK (SEQ ID NO: 297); LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294); GGWHTGRN (SEQ ID NO: 320); HTGRSGAL (SEQ ID NO: 321); PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296); AARGPAIH (SEQ ID NO: 322); RGPAPNPM (SEQ ID NO: 323); SSRGPAYL (SEQ ID NO: 324); RGPATPIM (SEQ ID NO: 325); RGPA (SEQ ID NO: 326); GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 327); FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 328); VHMPGLFLGP (SEQ ID NO: 302); SPLTGRSG (SEQ ID NO: 329); SAGFSLPA (SEQ ID NO: 330); LAPLGLQRR (SEQ ID NO: 331); SGGPLGVR (SEQ ID NO: 332); PLGL (SEQ ID NO: 333); LSGRSGNH (SEQ ID NO: 1157); SGRSANPRG (SEQ ID NO: 1158); LSGRSDDH (SEQ ID NO: 1161); LSGRSDIH (SEQ ID NO: 1162); LSGRSDQH (SEQ ID NO: 1165); LSGRSDTH (SEQ ID NO: 1166); LSGRSDYH (SEQ ID NO: 1169); LSGRSDNP (SEQ ID NO: 1520); LSGRSANP (SEQ ID NO: 1695); LSGRSANI (SEQ ID NO: 1696); и/или LSGRSDNI (SEQ ID NO: 1697).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность TGRGPSWV (SEQ ID NO: 295).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 327).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 328).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность VHMPGLFLGP (SEQ ID NO: 302).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность PLGL (SEQ ID NO: 333).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность SARGPSRW (SEQ ID NO: 319).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность

TARGPSFK (SEQ ID NO: 297).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность GGWHTGRN (SEQ ID NO: 320).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность HTGRSGAL (SEQ ID NO: 321).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность AARGPAIH (SEQ ID NO: 322).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность RGPANPM (SEQ ID NO: 323).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность SSRGPAYL (SEQ ID NO: 324).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность RGPATPIM (SEQ ID NO: 325).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность RGPA (SEQ ID NO: 326).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSGNH (SEQ ID NO: 1157).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность SGRSANPRG (SEQ ID NO: 1158).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDDH (SEQ ID NO: 1161).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDIH (SEQ ID NO: 1162).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDQH (SEQ ID NO: 1165).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDTH (SEQ ID NO: 1166).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDYH (SEQ ID NO: 1169).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDNP (SEQ ID NO: 1520).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSANP (SEQ ID NO: 1695).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSANI (SEQ ID NO: 1696).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LSGRSDNI (SEQ ID NO: 1697).

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для MMP и включает последовательность

ISSGLSS (SEQ ID NO: 334); QNQALRMA (SEQ ID NO: 305); AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304); STFPFGMF (SEQ ID NO: 307); PVGYTSSL (SEQ ID NO: 335); DWLYWPGI (SEQ ID NO: 336); ISSGLSS (SEQ ID NO: 308); LKAAPRWA (SEQ ID NO: 337); GPSHLVLT (SEQ ID NO: 338); LPPGLSPW (SEQ ID NO: 339); MGLFSEAG (SEQ ID NO: 340); SPLPLRVP (SEQ ID NO: 341); RMHLRSLG (SEQ ID NO: 342); LAAPLGLL (SEQ ID NO: 306); AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303); LLAPSHRA (SEQ ID NO: 343); PAGLWLDL (SEQ ID NO: 309); MIAPVAYR (SEQ ID NO: 1698); RPSMWAY (SEQ ID NO: 1699); WATPREMR (SEQ ID NO: 1700); FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701); ISSGL (SEQ ID NO: 1702); ISSGLS (SEQ ID NO: 1703); и/или ISSGLL (SEQ ID NO: 1704).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность ISSGLSS (SEQ ID NO: 334).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность QNQALRMA (SEQ ID NO: 305).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность STFPFGMF (SEQ ID NO: 307).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность PVGYTSSL (SEQ ID NO: 335).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность DWLYWPGI (SEQ ID NO: 336).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность ISSGLLSS (SEQ ID NO: 308).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LKAAPRWA (SEQ ID NO: 337).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность GPSHLVLT (SEQ ID NO: 338).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LPG-GLSPW (SEQ ID NO: 339).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность MGLF-SEAG (SEQ ID NO: 340).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность SPLPLRVP (SEQ ID NO: 341).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность RMHL-RSLG (SEQ ID NO: 342).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LAAPLGLL (SEQ ID NO: 306).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность LLAP-SHRA (SEQ ID NO: 343).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность PAGLWLDP (SEQ ID NO: 309).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность MIAP-VAYR (SEQ ID NO: 1698).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность RPSPMWAY (SEQ ID NO: 1699).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность WATPRPMR (SEQ ID NO: 1700).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность ISSGL (SEQ ID NO: 1702).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность ISSGLLS (SEQ ID NO: 1703).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность ISSGLL (SEQ ID NO: 1704).

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для тромбина.

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для тромбина и включает последовательность GPRSFGL (SEQ ID NO: 344) или GPRSFG (SEQ ID NO: 345).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность GPRSFGL (SEQ ID NO: 344).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность GPRSFG (SEQ ID NO: 345).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из

NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 298); NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299); TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300); TSGRSANP (SEQ ID NO: 301); VAGRSMRP (SEQ ID NO: 310); VVPEGRRS (SEQ ID NO: 311); ILPRSPAF (SEQ ID NO: 312); MVLGRSLL (SEQ ID NO: 313); QGRAITFI (SEQ ID NO: 314); SPRSIMLA (SEQ ID NO: 315); и SMLRSMPL (SEQ ID NO: 316).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 298).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность

TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность TSGRSANP (SEQ ID NO: 301).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность VAGRSMRP (SEQ ID NO: 310).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность WPEGRRS (SEQ ID NO: 311).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность ILPRSPAF (SEQ ID NO: 312).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность MVLGRSLL (SEQ ID NO: 313).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность QGRAITFI (SEQ ID NO: 314).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность SPRSIMLA (SEQ ID NO: 315).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность SMLRSMPL (SEQ ID NO: 316).

В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 214, 294-361, 1092-1112, 1157, 1158, 1161, 1162, 1165, 1166, 1169, 1520 и 1695-1704. В некоторых вариантах осуществления СМ включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 214, 294, 300, 302, 303, 305, 308, 318, 347, 361, 1092-1102, 1111 и 1157.

В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для эластазы нейтрофилов. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для сериновой протеазы. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для uPA. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для легумина. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для матрипазы. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для цистеиновой протеазы. В некоторых вариантах осуществления СМ является субстратом для цистеиновой протеазы, такой как катепсин.

В некоторых вариантах осуществления СМ является СМ1-СМ2 субстратом и включает последовательность

ISSGLLSGRSDNH

(SEQ ID NO: 214); ISSGLLSGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 346);  
 AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 347); TSTSGRSANPRGGAVGLLAPP  
 (SEQ ID NO: 348); VHMPLGFLPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 349);  
 TSTSGRSANPRGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 350); AVGLLAPPGLSGRSDNH  
 (SEQ ID NO: 318); LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 351);  
 VHMPLGFLPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 352); LSGRSDNHGGVHMPLGFLGP (SEQ  
 ID NO: 353); LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 354);  
 LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 355); ISSGLLSGGSGGSLSGRSGNH  
 (SEQ ID NO: 356); LSGRSDNHGGSGGQNALRMA (SEQ ID NO: 357);  
 QNALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 358); LSGRSGNHGGSGGQNALRMA  
 (SEQ ID NO: 359); QNALRMAGGSGGSLSGRSGNII (SEQ ID NO: 360);  
 ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361); ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO:  
 1092); AVGLLAPPSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1093); AVGLLAPPSTSGRSANPRG  
 (SEQ ID NO: 1094); ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095);  
 ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096); ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO:  
 1097); ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098); ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID  
 NO: 1099); ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100); ISSGLLSGRSANP (SEQ  
 ID NO: 1101); ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102);  
 AVGLLAPPGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1103); AVGLLAPPGLSGRSDIH (SEQ ID  
 NO: 1104); AVGLLAPPGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1105);  
 AVGLLAPPGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1106); AVGLLAPPGLSGRSDYH (SEQ ID  
 NO: 1107); AVGLLAPPGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1108);





субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2003. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1093), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2004. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1094), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2005. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2006. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2007. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2008. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2009. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2010. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2011. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2012. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2013. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1103), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3006. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1104), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3007. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1105), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3008. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1106), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3009. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSYH (SEQ ID NO: 1107), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3010. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSNP (SEQ ID NO: 1108), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3011. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSANP (SEQ ID NO: 1109), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3012. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSANI (SEQ ID NO: 1110), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3013. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 2014. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность и/или AVGLLAPPGGLSGRSNDI (SEQ ID NO: 1112), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 3014. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность GLSGRSNDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 1970), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 0001/LP'/1004, где LP' при использовании в данном CM1-CM2 субстрате является аминокислотной последовательностью GG. В некоторых вариантах осуществления CM1-CM2 субстрат включает последовательность GLSGRSNDNHGGVHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 1971), которая также указана в настоящем изобретении как субстрат 0001/LP'/1003, где LP' при использовании в данном CM1-CM2 субстрате является аминокислотной последовательностью GG.

В некоторых вариантах осуществления CM является субстратом по меньшей мере для двух протеаз. В некоторых вариантах осуществления каждая протеаза выбрана из группы, состоящей из протеаз, показанных в табл. 3. В некоторых вариантах осуществления CM является субстратом по меньшей мере для двух протеаз, где одна из протеаз выбрана из группы, состоящей из MMP, тромбина, эластазы нейтрофилов, цистеиновой протеазы, uPA, лугумаина и матриптазы, и другая протеаза выбрана из группы, состоящей из протеаз, показанных в табл. 3. В некоторых вариантах осуществления CM является субстратом по меньшей мере для двух протеаз, выбранных из группы, состоящей из MMP, тромбина, эластазы нейтрофилов, цистеиновой протеазы, uPA, лугумаина и матриптазы.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает, по меньшей мере, первую CM и вторую CM. В некоторых вариантах осуществления первая CM и вторая CM представляют собой полипептиды длиной не больше 15 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления первая CM и вторая CM в активируемом антителе в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру, от N-конца к C-концу: MM-CM1-CM2-AB или AB-CM2-CM1-MM. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна из первой CM и второй CM является полипептидом, который функционирует как

субстрат для протеазы, выбранной из группы, состоящей из MMP, тромбина, эластазы нейтрофилов, цистеиновой протеазы, uPA, лугумаина и матриптазы. В некоторых вариантах осуществления первую СМ расщепляет первое расщепляющее средство, выбранное из группы, состоящей из MMP, тромбина, эластазы нейтрофилов, цистеиновой протеазы, uPA, лугумаина и матриптазы, в целевой ткани, и вторую СМ расщепляет второе расщепляющее средство в целевой ткани. В некоторых вариантах осуществления другая протеаза выбрана из группы, состоящей из протеаз, показанных в табл. 3. В некоторых вариантах осуществления первое расщепляющее средство и второе расщепляющее средство являются одной и той же протеазой, выбранной из группы, состоящей из MMP, тромбина, эластазы нейтрофилов, цистеиновой протеазы, uPA, лугумаина и матриптазы, а первая СМ и вторая СМ являются разными субстратами для фермента. В некоторых вариантах осуществления первое расщепляющее средство и второе расщепляющее средство являются одной и той же протеазой, выбранной из группы, состоящей из протеаз, показанных в табл. 3. В некоторых вариантах осуществления первое расщепляющее средство и второе расщепляющее средство являются разными протеазами. В некоторых вариантах осуществления первое расщепляющее средство и второе расщепляющее средство локализованы в целевой ткани. В некоторых вариантах осуществления первую СМ и вторую СМ расщепляет по меньшей мере одно расщепляющее средство в целевой ткани.

В некоторых вариантах осуществления активируемые антитела подвергаются воздействию и расщепляются протеазой таким образом, что в активированном или расщепленном состоянии активированное антитело включает аминокислотную последовательность легкой цепи, которая включает, по меньшей мере, часть последовательности LP2 и/или СМ после расщепления СМ протеазой.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело также включает средство, конъюгированное с АВ. В некоторых вариантах осуществления средство, конъюгированное с АВ или АВ активируемого антитела, является терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления средство конъюгировано с АВ через расщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления средство конъюгировано с АВ через линкер, который включает по меньшей мере одну последовательность СМ1-СМ2 субстрата. В некоторых вариантах осуществления средство конъюгировано с АВ через нерасщепляемый линкер.

В некоторых вариантах осуществления средство является противовоспалительным средством.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело также включает детектируемую часть. В некоторых вариантах осуществления детектируемая часть является диагностическим средством.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело также включает сигнальный пептид. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид конъюгирован с активируемым антителом через спейсер. В некоторых вариантах осуществления спейсер конъюгирован с активируемым антителом без сигнального пептида. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с ММ активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с ММ активируемого антитела в следующей структуре, от N-конца к С-концу: спейсер-ММ-СМ-АВ. Пример спейсера, соединенного непосредственно с N-концом ММ активируемого антитела, выбран из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. Дополнительные примеры спейсеров включают GQSGQG (SEQ ID NO: 2042), QSGQG (SEQ ID NO: 2043), SGQG (SEQ ID NO: 2044), GQG (SEQ ID NO: 2045), QG (SEQ ID NO: 2046) и G. В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQG (SEQ ID NO: 362). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQ (SEQ ID NO: 913). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSG (SEQ ID NO: 914). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQS (SEQ ID NO: 915). В некоторых вариантах осуществления, спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQ (SEQ ID NO: 916). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QG (SEQ ID NO: 917). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотный остаток Q. В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность GQSGQG (SEQ ID NO: 2042). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QSGQG (SEQ ID NO: 2043). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность SGQG (SEQ ID NO: 2044). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность GQG (SEQ ID NO: 2045). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QG (SEQ ID NO: 2046). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность G. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не включает спейсерную последовательность.

В некоторых вариантах осуществления АВ активируемого антитела обычно содержит одну или более дисульфидных связей. В некоторых вариантах осуществления АВ может быть сконструировано таким образом, что оно включает одну или более дисульфидных связей.















средствами или комбинацией дополнительных средств. Подходящие дополнительные средства включают другие экспериментальные противоопухолевые средства, разрабатываемые для определенных применений, существующие фармацевтические и/или хирургические терапии для предполагаемого применения, такого как, например, при раке. Например, антитела против PD-1 и/или активируемые антитела против PD-1 могут применяться в сочетании с дополнительным химиотерапевтическим или противоопухолевым средством.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает по меньшей мере одно экспериментальное противоопухолевое средство, разрабатываемое для определенных применений. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает по меньшей мере одно вещество, которое уже одобрено для одного показания, но проходит исследование для другого. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает по меньшей мере одно вещество, которое в настоящее время не одобрено для применения ни по одному показанию, но проходит исследование для применения по одному или более показаниям в целях получения разрешения регулирующего органа. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает по меньшей мере одно средство, которое является фармацевтической терапией для предполагаемого применения. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство включает по меньшей мере одно средство, которое является хирургической терапией рака. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство является химиотерапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство является противоопухолевым средством. В некоторых вариантах осуществления дополнительные средства являются комбинацией любых двух или более таких средств.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство(а) является химиотерапевтическим средством, таким как химиотерапевтическое средство, выбранное из группы, состоящей из доцетаксела, паклитаксела, абраксана (т.е. альбумин-конъюгированного паклитаксела), доксорубина, оксалиплатина, карбоплатина, цисплатина, иринотекана и гемцитабина.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство(а) является ингибитором контрольной точки, ингибитором киназы, средством, направляющим ингибиторы в микроокружение опухоли, и/или агонистом Т-клеток или НК-клеток. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство(а) является лучевой терапией, отдельно или в комбинации с другим дополнительным средством(ами), таким как химиотерапевтическое или противоопухолевое средство. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство(а) является вакциной, онковирусом и/или ДК-активирующим средством, таким как, в качестве неограничивающего примера, агонист toll-подобного рецептора (TLR) и/или  $\alpha$ -CD40. В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство(а) является опухолеспецифичным антителом, созданным для уничтожения опухоли посредством ADCC или посредством прямого конъюгирования с токсином (например, конъюгатом антитела-лекарственного средства (ADC)).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки является ингибитором мишеней, выбранной из группы, состоящей из CTLA-4, LAG-3, PD-1, PD-1, TIGIT, TIM-3, B7H4, BTLA и Vista. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы выбран из группы, состоящей из ингибиторов B-RAFi, MEKi и Vtk, таких как ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор киназы является кризотиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитором B-RAF является вемурафиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор микроокружения опухоли выбран из группы, состоящей из ингибитора ИДО, ингибитора  $\alpha$ -CSF1R, ингибитора  $\alpha$ -CCR4, TGF-бета, супрессорной клетки миелоидного происхождения или Т-регуляторной клетки. В некоторых вариантах осуществления агонист выбран из группы, состоящей из Oх40, GITR, CD137, ICOS, CD27 и HVEM.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором LAG-3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором PD-1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором TIGIT. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором TIM-3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором B7H4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором Vista. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором B-RAFi. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором MEKi. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором Vtk. В некоторых вариантах осуществления ингибитором является ибрутиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитором является кризотиниб. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором ИДО. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором  $\alpha$ -CSF1R. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является ингибитором  $\alpha$ -CCR4. В некоторых вариантах осуществления ингибитором является TGF-бета. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является супрессорной клеткой

миелоидного происхождения. В некоторых вариантах осуществления ингибитор является Т-регуляторной клеткой.

В некоторых вариантах осуществления агонистом является Oх40. В некоторых вариантах осуществления агонистом является GITR. В некоторых вариантах осуществления агонистом является CD137. В некоторых вариантах осуществления агонистом является ICOS. В некоторых вариантах осуществления агонистом является CD27. В некоторых вариантах осуществления агонистом является HVEM.

В некоторых вариантах осуществления антитело и/или активируемое антитело против PD-1 вводят в течение и/или после лечения в комбинации с одним или более дополнительными средствами, такими как, например, химиотерапевтическое средство, противовоспалительное средство и/или иммунодепрессант. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство входят в состав одной терапевтической композиции, и антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство вводят одновременно. В альтернативе антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство отделены друг от друга, например, каждое входит в состав отдельной терапевтической композиции, и антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство вводят одновременно, или антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство вводят в разное время в течение курса лечения. Например, антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 вводят до введения дополнительного средства, антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 вводят после введения дополнительного средства или антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство вводят поочередно. Как описано в настоящем изобретении, антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство вводят в однократных дозах или в многократных дозах.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство(а) вводят одновременно. Например, антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство(а) могут входить в состав одной композиции или введены в двух или более отдельных композициях. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство(а) вводят последовательно, или антитело против PD-1, и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство вводят в разное время в течение курса лечения.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 вводят в течение и/или после лечения в комбинации с одним или более дополнительными средствами, такими как, в качестве неограничивающего примера, химиотерапевтическое средство, противовоспалительное средство и/или иммунодепрессант, такие как алкилирующее средство, антимаболит, антимикуротубулиновое средство, ингибитор топоизомеразы, цитотоксический антибиотик и/или любое другое средство, повреждающее нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является таксан, такой как паклитаксел (например, Абраксан®). В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является антимаболит, такой как гемцитабин. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является алкилирующее средство, такое как химиотерапевтическое средство на основе платины, такое как карбоплатин или цисплатин. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является средство направленного воздействия, такое как ингибитор киназы, например, сорафениб или эрлотиниб. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является средство направленного воздействия, такое как другое антитело, например, моноклональное антитело (например, бевацизумаб), биспецифичное антитело или мультиспецифичное антитело. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является ингибитор протеасом, такой как бортезомиб или карфилзомиб. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является иммуномодулирующее средство, такое как ленолидомид или IL-2. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является радиация. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является средство, которое специалисты в данной области считают стандартом лечения. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является химиотерапевтическое средство, известное специалистам в данной области.

В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является другое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или другое активируемое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является другое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или другое активируемое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент против той же мишени, что и первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или активируемое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, например, против PD-1. В некоторых вариантах осуществления дополнительным средством является другое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или другое активируемое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент против мишени, отличающейся от мишени первого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, первого конъюгированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или активируемого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

В качестве неограничивающего примера, антитело или антигенсвязывающий фрагмент и/или АВ

активируемого антитела является партнером по связыванию с любой мишенью, перечисленной в табл. 1.

Таблица 1  
Примеры мишеней

1-92-LFA-3	CD52	DL44	HVEM	LIF-R	STEAP1
Альфа-4 интегрин	CD56	DLK1	Гиалуронидаза	Льюис X	STEAP2
Альфа-V интегрин	CD64	DLL4	ICOS	LIGHT	TAG-72
альфа4бета1 интегрин	CD70	DPP-4	IFNальфа	LRP4	TAPA1
альфа4бета7 интегрин	CD71	DSG1	IFNбета	LRRC26	TGFбета
AGR2	CD74	EGFR	IFNгамма	MCSP	TIGIT
Анти-Льюис-Y		EGFRviii	IgE	Мезотелин	TIM-3
Апелина J рецептор	CD80	Эндотелина B рецептор (ETBR)	Рецептор IgE (FcεRI)	MRP4	TLR2
APRIL	CD81	ENPP3	IGF	MUC1	TLR4
B7-H4	CD86	ЕpCAM	IGF1R	Муцин-16 (MUC16, CA-125)	TLR6
BAFF	CD95	EPHA2	IL1B	Na/K АТФаза	TLR7
BTLA	CD117	EPHB2	IL1R	Эластаза нейтрофилов	TLR8
C5 комплемента	CD125	ERBB3	IL2	NGF	TLR9
C-242	CD132 (IL-2RG)	F-белок PCB	IL11	Никастрин	TMEM31
CA9	CD133	FAP	IL12	Notch-рецепторы	ФНОальфа
CA19-9 (Льюис a)	CD137	FGF-2	IL12p40	Notch 1	TNFR
Карбоангидраза 9	CD138	FGF8	IL-12R, IL-12Rбета1	Notch 2	TNFRS12A
CD2	CD166	FGFR1	IL13	Notch 3	TRAIL-R1
CD3	CD172A	FGFR2	IL13R	Notch 4	TRAIL-R2
CD6	CD248	FGFR3	IL15	NOV	Трансферрин
CD9	CDH6	FGFR4	IL17	OSM-R	Рецептор трансферрина
CD11a	CEACAM5 (CEA)	Рецептор фолата	IL18	OX-40	TRK-A
CD19	CEACAM6 (NCA-90)	GAL3ST1	IL21	PAR2	TRK-B
CD20	Клаудин-3	G-CSF	IL23	PDGF-AA	uPAR
CD22	Клаудин-4	G-CSFR	IL23R	PDGF-BB	VAP1
CD24	cMet	GD2	IL27/IL27R (wsx1)	PDGFRальфа	VCAM-1
CD25	Коллаген	GITR	IL29	PDGFRбета	VEGF
CD27	Cripto	GLUT1	IL-31R	PD-1	VEGF-A
CD28	CSFR	GLUT4	IL31/IL31R	PD-L1	VEGF-B
CD30	CSFR-1	GM-CSF	IL2R	PD-L2	VEGF-C
CD33	CTLA-4	GM-CSFR	IL4	Фосфатидил-серин	VEGF-D
CD38	CTGF	GP IIb/IIIa рецепторы	IL4R	P1GF	VEGFR1
CD40	CXCL10	Gp130	IL6, IL6R	PSCA	VEGFR2
CD40L	CXCL13	GPIIb/IIIa	Инсулиновый рецептор	PSMA	VEGFR3
CD41	CXCR1	GNMB	Jagged лиганды	RAAG12	VISTA
CD44	CXCR2	GRP78	Jagged 1	RAGE	WISP-1
CD44v6		HER2/neu	Jagged 2	SLC44A4	WISP-2
CD47	CXCR4	HGF	LAG-3	Сфингозин-1-фосфат	WISP-3
CD51	CYR61	hGH			

В качестве неограничивающего примера, антитело или антигенсвязывающий фрагмент и/или АВ активируемого антитела является или получено из антитела, перечисленного в табл. 2.

Таблица 2  
Примеры источников антител

Торговое наименование антитела (название антитела)	Мишень
Авастин™ (бевацизумаб)	VEGF
Луцентис™ (ранибизумаб)	VEGF
Эрбитукс™ (цетуксимаб)	EGFR
Вектибикс™ (панитумумаб)	EGFR
Ремикейд™ (инфликсимаб)	ФНО $\alpha$
Хумира™ (адалимумаб)	ФНО $\alpha$
Тизабри™ (натализумаб)	Интегрин $\alpha 4$
Симулект™ (базиликсимаб)	IL2R
Солирис™ (экулизумаб)	Комплемент C5
Раптива™ (эфализумаб)	CD11a
Веххар™ (тозитумомаб)	CD20
Zevalin™ (ибритумомаб тиуксетан)	CD20
Rituxan™ (ритуксимаб)	CD20
Окрелизумаб	CD20
Арзерра™ (офатумумаб)	CD20
Газива™ (обинитузумаб)	CD20
Зенапакс™ (даклизумаб)	CD25
Адцетрис™ (брентуксимаб ведотин)	CD30
Милотарг™ (гемтузумаб)	CD33
Милотарг™ (гемтузумаб озогамидин)	CD33
Кэмпас™ (алемтузумаб)	CD52
РеоПро™ (абциксимаб)	Гликопротеиновый рецептор IIb/IIIa
Ксолар™ (омализумаб)	IgE
Герцептин™ (трастузумаб)	Her2
Кадсила™ (трастузумаб эмтанзин)	Her2
Синагис™ (паливизумаб)	F-белок РСВ
(ипилимумаб)	CTLA-4
(тремелимумаб)	CTLA-4
Hu5c8	CD40L
(пертузумаб)	Her2-neu
(эртумаксумаб)	CD3/Her2-neu
Оренсия™ (абатацепт)	CTLA-4
(танезумаб)	NGF
(бавитуксимаб)	Фосфатидилсерин
(залутумумаб)	EGFR
(мапатумумаб)	EGFR
(матузумаб)	EGFR
(нимотузумаб)	EGFR
ICR62	EGFR
МАт 528	EGFR
СН806	EGFR
MDX-447	EGFR/CD64
(эдреколомаб)	ЕрСAM
RAV12	RAAG12
huJ591	PSMA
Enbrel™ (этанерцепт)	ФНО-R
Amevive™ (алефацепт)	1-92-LFA-3
Antril™, Kineret™ (анакинра)	IL-1Ra
GC1008	TGFбета
	Notch, например, Notch 1
	Jagged 1 или Jagged 2
(адекватумумаб)	ЕрСAM
(фигитумумаб)	IGF1R
(тоцилизумаб)	Рецептор IL-6
Стелара™ (устекинумаб)	IL-12/IL-23
Пролиа™ (деносумаб)	RANKL

В некоторых вариантах осуществления дополнительное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или активируемое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент являются моноклональным антителом, доменным антителом, одноцепочечным, Fab-фрагментом, F(ab')<sub>2</sub>-фрагментом, scFv, scAb, dAb, однодоменным антителом из тяжелой цепи или однодоменным антителом из легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления дополнительное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и/или активируемое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент являются мышинным, другого гры-

зуна, химерным, гуманизированным или полностью человеческим моноклональным антителом.

В настоящем описании также предложены способы получения полипептида антитела против PD-1 и/или активируемого антитела против PD-1 при культивировании клетки при условиях, которые приводят к экспрессии такого полипептида, где клетка включает выделенную молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело и/или активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении, и/или векторы, которые включают такие выделенные последовательности нуклеиновых кислот. В настоящем описании предложены способы получения антитела и/или активируемого антитела при культивировании клетки при условиях, которые приводят к экспрессии антитела и/или активируемого антитела, где клетка включает выделенную молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую антитело и/или активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении, и/или векторы, которые включают такие выделенные последовательности нуклеиновых кислот.

В изобретении также предложен способ получения активируемых антител, которые в активированном состоянии связывают PD-1, путем: (а) культивирования клетки, включающей конструкцию нуклеиновой кислоты, которая кодирует активируемое антитело, при условиях, которые приводят к экспрессии активируемого антитела, где активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ) и антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (АВ), которые специфично связывают PD-1, (i) где СМ является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы; и (ii) где СМ помещен в активируемое антитело таким образом, что, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, ММ препятствует специфичному связыванию АВ с PD-1, а в расщепленном состоянии ММ не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с PD-1; и (b) выделения активируемого антитела. Подходящие АВ, ММ и/или СМ включают любые из АВ, ММ и/или СМ, раскрытых в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру, от N-конца к C-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает соединительный пептид между ММ и СМ. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает соединительный пептид между СМ и АВ. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает первый соединительный пептид (LP1) и второй соединительный пептид (LP2), и где активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру, от N-конца к C-концу: ММ-LP1-СМ-LP2-АВ или АВ-LP2-СМ-LP1-ММ. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру, от N-конца к C-концу: спейсер-ММ-LP1-СМ-LP2-АВ или АВ-LP2-СМ-LP1-ММ-спейсер.

В некоторых вариантах осуществления два соединительных пептида не должны быть обязательно идентичными друг другу.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из LP1 или LP2 включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из (GS)<sub>n</sub>, (GGS)<sub>n</sub>, (GSGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 363) и (GGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 364), где n является целым числом, равным по меньшей мере единице.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из LP1 или LP2 включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из GGSG (SEQ ID NO: 365), GGSGG (SEQ ID NO: 366), GSGSG (SEQ ID NO: 367), GSGGG (SEQ ID NO: 368), GGGSG (SEQ ID NO: 369) и GSSSG (SEQ ID NO: 370).

В некоторых вариантах осуществления LP1 включает аминокислотную последовательность

GSSGGSGGSGGSG (SEQ ID NO:

371), GSSGGSGGSGG (SEQ ID NO: 372), GSSGGSGGSGGS (SEQ ID NO:

373), GSSGGSGGSGGSGGGS (SEQ ID NO: 374), GSSGGSGGSG (SEQ ID NO:

375), GSSGGSGGSGS (SEQ ID NO: 376), GGGSSGGS (SEQ ID NO: 65) или

GGGSSGG (SEQ ID NO: 1040).

В некоторых вариантах осуществления LP2 включает аминокислотную последовательность GSS, GGS, GGGS (SEQ ID NO: 377), GSSGT (SEQ ID NO: 378) или GSSG (SEQ ID NO: 379).

В изобретении предложены способы предотвращения, задержки прогрессирования, лечения, облегчения симптома или иного уменьшения тяжести нарушения или заболевания у субъекта посредством введения нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела против PD-1, конъюгированного антитела против PD-1, активируемого антитела против PD-1 и/или конъюгированного активируемого антитела против PD-1, описанного в настоящем изобретении.

В изобретении также предложен способ уменьшения иммунной супрессии, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 и/или активируемого антитела против PD-1, описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления иммунная супрессия является супрессией активности Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления иммунная супрессия опосредована связыванием PD-1 на Т-клетках с PD-L1 или PD-L2 на опухолевых клетках или других иммунных клетках. В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложен способ уменьшения или ингибирования связывания PD-L1 (также указанного в настоя-

шем изобретении как PDL1) и/или PD-L2 (также указанного в настоящем изобретении как PDL2) с PD-1 на Т-клетках. Лиганды PD-L1 и/или PD-L2 часто присутствуют на опухолевых клетках или других иммунных клетках.

В изобретении также предложены способы предотвращения, задержки прогрессирования, лечения, облегчения симптома или иного уменьшения тяжести рака у субъекта посредством введения терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 и/или активируемого антитела против PD-1, описанного в настоящем изобретении, нуждающемуся в этом субъекту. PD-1, как известно, экспрессируется на иммунных клетках, таких как Т-клетки, в различных раковых опухолях, таких как, в качестве неограничивающего примера, меланома, немелкоклеточный рак легкого, рак носоглотки, глиобластома/смешанная глиома, аденокарцинома толстой кишки, печеночноклеточный рак, уротелиальный рак, множественная миелома, рак яичника, рак желудка, рак пищевода, рак поджелудочной железы, почечно-клеточная карцинома (RCC), рак молочной железы, лимфомы, такие как лимфома Ходжкина, и лейкозы. См., например, Chen et al., "Molecular Pathways: Next-Generation Immunotherapy - Inhibiting Programmed Death-Ligand 1 and Programmed Death-1", Clin. Can. Res., vol. 18: 6580-6587 (2012), содержание которого настоящим полностью включено посредством отсылки.

В некоторых вариантах осуществления раком является рак мочевого пузыря, рак кости, рак молочной железы, карциноид, рак шейки матки, холангиокарцинома, рак толстой кишки, рак эндометрия, глиома, рак головы и шеи, рак печени, рак легкого, лимфома, такая как лимфома Ходжкина, меланома, рак яичника, рак поджелудочной железы, рак предстательной железы, рак почки, саркома, рак кожи, рак желудка, рак яичка, рак тимуса, рак щитовидной железы, рак мочеполовой системы и/или уротелиальный рак.

В некоторых вариантах осуществления рак выбран из группы, состоящей из меланомы (MEL), почечно-клеточной карциномы (RCC), плоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), неплазмоклеточного NSCLC, рака толстой и прямой кишки (CRC), кастрационно-резистентного рака предстательной железы (CRPC), печеночноклеточной карциномы (HCC), плоскоклеточной карциномы головы и шеи, тимомы, карцином пищевода, яичника, желудочно-кишечного тракта и молочной железы, или гематобластома, такого как множественная миелома, В-клеточная лимфома, Т-клеточная лимфома, лимфома Ходжкина, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома и хронический миелогенный лейкоз.

В изобретении также предложены способы лечения больных раком с аутоиммунным заболеванием или воспалительным заболеванием, посредством введения терапевтически эффективного количества антитела против PD-1 и/или активируемого антитела против PD-1, описанного в настоящем изобретении, нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых вариантах осуществления аутоиммунным заболеванием является колит, РА, панкреатит, диабет или пневмонит.

Антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1, применяемые в любом из вариантов осуществления указанных способов и применений, можно вводить на любой стадии заболевания. Например, такое антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 можно вводить страдающему раком больному на любой стадии, от ранней до метастатической. Термины субъект и больной используются в настоящем изобретении попеременно.

В некоторых вариантах осуществления субъект является млекопитающим, таким как человек, не относящийся к человеку примат, домашнее животное (например, кошка, собака, лошадь), сельскохозяйственное животное, рабочее животное или животное зоопарка. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком. В некоторых вариантах осуществления субъект является домашним животным. В некоторых вариантах осуществления субъект является животным, лечение которого проводит ветеринар.

Антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и их терапевтические формы вводят субъекту, страдающему или подверженному риску возникновения заболевания или нарушения, связанного с иммунной супрессией, такой как иммунная супрессия, опосредованная связыванием PD-1 на Т-клетках с PD-L1 или PD-L2 на опухолевых клетках или других иммунных клетках. В некоторых вариантах осуществления иммунная супрессия является супрессией активности Т-клеток. Субъекта, страдающего или подверженного риску возникновения заболевания или нарушения, связанного с такой иммунной супрессией, идентифицируют с применением различных способов, известных в уровне техники. Например, субъектов, страдающих раком или другим неопластическим заболеванием, идентифицируют при использовании различных клинических и/или лабораторных исследований, таких как физикальное обследование и анализ крови, мочи и/или стула для оценки состояния здоровья. Например, субъектов, страдающих воспалением и/или воспалительным заболеванием, идентифицируют при использовании различных клинических и/или лабораторных исследований, таких как физикальное обследование и/или анализ физиологических жидкостей, например анализ крови, мочи и/или стула, для оценки состояния здоровья.

Введение антитела против PD-1 и/или активируемого антитела против PD-1 больному, страдающему заболеванием или нарушением, связанным с иммунной супрессией, такой как иммунная супрессия, опосредованная связыванием PD-1 на Т-клетках с PD-L1 или PD-L2 на опухолевых клетках или других иммунных клетках, считают успешным, если достигнута какая-либо из множества лабораторных или

клинических целей. Например, введение антитела против PD-1 и/или активируемого антитела против PD-1 больному, страдающему заболеванием или нарушением, связанным с такой иммунной супрессией, считают успешным, если один или больше симптомов, связанных с заболеванием или нарушением, облегчается, уменьшается, ингибируется или не прогрессирует до следующего, т.е. более тяжелого, состояния. Введение антитела против PD-1 и/или конъюгированного активируемого антитела против PD-1 больному, страдающему заболеванием или нарушением, связанным с иммунной супрессией, такой как иммунная супрессия, опосредованная связыванием PD-1 на Т-клетках с PD-L1 или PD-L2 на опухолевых клетках или других иммунных клетках, считают успешным, если заболевание или нарушение переходят в стадию ремиссии или не прогрессируют до следующего, т.е. более тяжелого, состояния.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 и/или конъюгированное активируемое антитело против PD-1 вводят в течение и/или после лечения в комбинации с одним или более дополнительными средствами, такими как, например, химиотерапевтическое средство, противовоспалительное средство и/или иммунодепрессант. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство(а) вводят одновременно. Например, антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство(а) могут входить в состав одной композиции или введены в двух или более отдельных композициях. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1 и дополнительное средство(а) вводят последовательно.

В изобретении также предложены способы и наборы для применения активируемых антител против PD-1 при различных диагностических и/или профилактических показаниях. Например, в изобретении предложены способы и наборы для обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства и представляющей интерес мишени у субъекта или в образце посредством: (i) контакта субъекта или образца с активируемым антителом против PD-1, где активируемое антитело против PD-1 включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которую расщепляет расщепляющее средство, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает представляющую интерес мишень, где активируемое антитело против PD-1 в нерасщепленном, неактивированном состоянии включает следующую структуру, от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; (а) где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с PD-1, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию и не является модифицированной формой природного партнера АВ по связыванию; и (b) где в том случае, когда АВ находится в нерасщепленном, неактивированном состоянии, ММ препятствует специфичному связыванию АВ с PD-1, и когда АВ находится в расщепленном, активированном состоянии, ММ не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с PD-1; и (ii) измерения уровня активированного активируемого антитела против PD-1 у субъекта или в образце, где детектируемый уровень активированного активируемого антитела против PD-1 у субъекта или в образце указывает на то, что расщепляющее средство и PD-1 присутствуют у субъекта или в образце, и где недетектируемый уровень активированного активируемого антитела против PD-1 у субъекта или в образце указывает на то, что расщепляющее средство, PD-1 или расщепляющее средство и PD-1 отсутствуют у субъекта или в образце.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 является активируемым антителом против PD-1, которое конъюгировано с терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка помещена на АВ. В некоторых вариантах осуществления измерение уровня активируемого антитела против PD-1 у субъекта или в образце выполняют с применением вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления вторичный реагент является антителом, включающим детектируемую метку.

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов активируемое антитело против PD-1 включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов детектируемая метка включает визуализирующее средство, контрастирующее средство, фермент, флуоресцентную метку, хромофор, краситель, ионы одного или более металлов или метку на основе лиганда. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов визуализирующее средство включает радиоизотоп. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов радиоизотопом является индий или технеций. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов контрастирующее средство включает иод, гадолиний или оксид железа. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов фермент включает пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу или  $\beta$ -галактозидазу. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов флуоресцентная метка включает желтый флуоресцентный белок (YFP), сине-зеленый флуоресцентный белок (CFP), зеленый флуоресцентный белок (GFP), модифицированный красный флуоресцентный белок (mRFP), красный флуоресцентный белок tdimer2 (RFP tdimer2), HCREd или производное европия. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов люминесцентная метка включает производное N-метилакридиния. В некоторых вариантах осуществления указанных способов метка включает



ет метку Alexa Fluor®, такую как Alex Fluor® 680 или Alexa Fluor® 750. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов метка на основе лиганда включает биотин, авидин, стрептавидин или один или несколько гаптенов.

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов субъект является млекопитающим. В некоторых вариантах осуществления указанных способов субъект является человеком. В некоторых вариантах осуществления субъект является не относящимся к человеку млекопитающим, таким как не относящийся к человеку примат, домашнее животное (например, кошка, собака, лошадь), сельскохозяйственное животное, рабочее животное или животное зоопарка. В некоторых вариантах осуществления субъект является грызуном.

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов способ является способом *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления указанных способов способ является способом *in situ*. В некоторых вариантах осуществления указанных способов способ является способом *ex vivo*. В некоторых вариантах осуществления указанных способов способ является способом *in vitro*.

В некоторых вариантах осуществления способов и наборов способ применяется для идентификации или иного определения популяции пациентов, подходящей для лечения активируемым антителом против PD-1 согласно настоящему описанию, с последующим лечением путем введения активируемого антитела против PD-1 нуждающемуся в этом субъекту. Например, больных, которые показывают положительный результат на мишень (например, PD-1) и протеазу, которая расщепляет субстрат по расщепляемой части (СМ) активируемого антитела против PD-1, при исследовании в данных способах, идентифицируют как подходящих кандидатов на лечение таким активируемым антителом против PD-1, включающим такую СМ, после чего больному вводят терапевтически эффективное количество активируемого антитела против PD-1, которое было протестировано. Аналогичным образом, больные, которые показывают отрицательный результат на мишень (например, PD-1) и/или протеазу, которая расщепляет субстрат по СМ в активируемом антителе, при исследовании с применением данных способов, могут быть идентифицированы как подходящие кандидаты для другой формы терапии. В некоторых вариантах осуществления такие больные могут проходить исследование с другими активируемыми антителами против PD-1, пока не будет определено подходящее для лечения активируемое антитело против PD-1 (например, активируемое антитело против PD-1, включающее СМ, которая расщепляется в пораженном участке в организме больного). В некоторых вариантах осуществления больному затем вводят терапевтически эффективное количество активируемого антитела против PD-1, на которое больной показал положительный результат. Подходящие АВ, ММ и/или СМ включают любой из АВ, ММ и/или СМ, раскрытых в настоящем изобретении.

Фармацевтические композиции согласно изобретению могут включать антитело согласно изобретению и носитель. Такие фармацевтические композиции могут быть включены в наборы, такие как, например, диагностические наборы.

#### Краткое описание чертежей

Фиг. 1 - график, на котором показаны результаты анализа связывания ELISA с использованием разных мышинных антител, которые связывают человеческий PD-1 (т.е. антител против hPD-1), указанных в настоящем изобретении как 245-M3, также указанного в настоящем изобретении как M3 (VH: SEQ ID NO: 9; VL: SEQ ID NO: 11), 245-M5, также указанного в настоящем изобретении как M5 (VH: SEQ ID NO: 13; VL: SEQ ID NO: 15), 136-M13, также указанного в настоящем изобретении как M13 (VH: SEQ ID NO: 1; VL: SEQ ID NO: 3), 136-M19, также указанного в настоящем изобретении как M19 (VH: SEQ ID NO: 5; VL: SEQ ID NO: 7), и 136-M14, также указанного в настоящем изобретении как M14 (VH: SEQ ID NO: 17; VL: SEQ ID NO: 19). Антитела против PD-1 ниволумаб (также указанный в настоящем изобретении как "ниво" или "NV1") и пембролизумаб (также указанный в настоящем изобретении как "пембро" или "PM1", или "PM1 АВ") использовали в качестве положительного контроля.

Фиг. 2 - серия графиков, на которых продемонстрировано, что разные мышинные антитела против hPD-1 блокируют связывание лигандов PD-L1 человека (hPD-L1) и PD-L2 человека (hPD-L2) с PD-1 человека.

Фиг. 3 - серия графиков, на которых продемонстрировано, что разные мышинные антитела против hPD-1 блокируют связывание лигандов PD-L1 человека (hPD-L1) и PD-L2 человека (hPD-L2) с PD-1 человека.

Фиг. 4 - график, на котором показано связывание с человеческим PD-1 различных антител против hPD-1 согласно настоящему описанию, указанных в настоящем изобретении как A1.0 (VH: SEQ ID NO: 21; VL: SEQ ID NO: 39), A1.2 (VH: SEQ ID NO: 21; VL: SEQ ID NO: 43) и A1.4 (VH: SEQ ID NO: 21; VL: SEQ ID NO: 45), как определяли с помощью ELISA. Антитело против PD-1 пембролизумаб ("PM1") использовали в качестве положительного контроля.

Фиг. 5 - график, на котором показано связывание с человеческим PD-1 различных антител против hPD-1 согласно настоящему описанию, указанных в настоящем изобретении как A1.5 (VH: SEQ ID NO: 21; VL: SEQ ID NO: 47), A1.6 (VH: SEQ ID NO: 21; VL: SEQ ID NO: 49), Ba2 (VH: SEQ ID NO: 29; VL: SEQ ID NO: 57), Bb2 (VH: SEQ ID NO: 31; VL: SEQ ID NO: 57), C1.1 (VH: SEQ ID NO: 33; VL: SEQ ID NO: 41) и D4 (VH: SEQ ID NO: 37; VL: SEQ ID NO: 59), как определяли с помощью ELISA. Антитела

против PD-1 ниволумаб ("NV1") и пембролизумаб ("PM1") использовали в качестве положительного контроля.

Фиг. 6 - серия графиков, на которых показана способность различных антител против hPD-1 согласно настоящему описанию, указанных в настоящем изобретении как A1.0, A1.2 и A1.4, ингибировать связывание между человеческим PD-1 (hPD-1) и человеческими PDL-1 (hPDL-1) и PDL-2 (hPDL-2), как определяли с помощью ELISA. Антитело против PD-1 пембролизумаб ("PM1") использовали в качестве положительного контроля.

Фиг. 7 - серия графиков, на которых показана способность различных антител против hPD-1 согласно настоящему описанию, указанных в настоящем изобретении как A1.5 и C1.1, ингибировать связывание между hPD-1 и hPDL-1 и hPDL-2, как определяли с помощью ELISA. Антитела против PD-1 ниволумаб ("NV1") и пембролизумаб ("PM1") использовали в качестве положительного контроля.

Фиг. 8 - график, на котором показана способность различных антител против hPD-1 согласно настоящему описанию, указанных в настоящем изобретении как A1.5, Ba2, Bb2, C1.1 и D4, ингибировать связывание между hPD-1 и hPDL-1, как определяли с помощью ELISA. Антитела против PD-1 ниволумаб ("NV1") и пембролизумаб ("PM1") использовали в качестве положительного контроля.

Фиг. 9 - график, на котором показана способность различных антител против hPD-1 согласно настоящему описанию, указанных в настоящем изобретении как A1.5, Ba2, Bb2, C1.1 и D4, ингибировать связывание между hPD-1 и hPDL-2, как определяли с помощью ELISA. Антитела против PD-1 ниволумаб ("NV1") и пембролизумаб ("PM1") использовали в качестве положительного контроля.

Фиг. 10 - график, на котором показано, что антитело против PD-1, указанное в настоящем изобретении как A1.5, специфично связывает hPD-1, как определяли с помощью ELISA. Антитело A1.5 против PD-1 тестировали в отношении панели человеческих и мышиных белков.

Фиг. 11A и 11B - серия графиков, на которых показана способность антитела против PD-1, A1.5, блокировать связывание Fab-фрагментов антител против PD-1, ниволумаба ("NV1") и пембролизумаба ("PM1"), с PD-1. На этих графиках также продемонстрировано, что антитело против PD-1, A1.5, связывает другой эпитоп в отличие от NV1 и/или PM1.

Фиг. 12 - график, на котором показано, что антитело против PD-1, A1.5, обладает активностью, аналогичной активности ниволумаба ("NV1") и пембролизумаба ("PM1"), при измерении в тесте с повторной стимуляцией Т-клеток. На фиг. 12 МКПК обрабатывали следующим образом: МКПК: ЦМВ+ НетаСаре донор С сеяли в количестве  $2 \times 10^5$  клеток/лунка; стимулированные 5 мкг/мл ЦМВ лизата +/- антитело против PD-1 или изотипический контроль; IFN- $\gamma$  ELISA анализ проводили на супернатанте, собранном в день 4.

Фиг. 13 - серия графиков, на которых продемонстрировано, что антитела против PD-1, A1.5 и Ba2, связывают мономерный человеческий PD-1 (hPD1) с подобной или более высокой аффинностью, чем антитела против PD-1 ниволумаб ("Nivo") и пембролизумаб ("Pembro").

Фиг. 14 - серия графиков, на которых показано связывание с человеческим PD-1 антитела против PD-1, A1.4, и различных активируемых антител против PD-1, которые включают разные маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как 0PD-1 (SEQ ID NO: 66), PD02 (SEQ ID NO: 67), PD03 (SEQ ID NO: 68), PD08 (SEQ ID NO: 73), PD09 (SEQ ID NO: 74), и PD10 (SEQ ID NO: 75), как определяли с помощью ELISA.

Фиг. 15 - серия графиков, на которых показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1, A1.5, и различных активируемых антител против PD-1, которые включают антитело против PD-1, A1.5, и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как 0PD-1

(SEQ ID NO: 66), PD02 (SEQ ID NO: 67), PD03 (SEQ ID NO: 68), PD05 (SEQ ID NO: 70), PD06 (SEQ ID NO: 71) (Планшет 1); PD08 (SEQ ID NO: 73), PD09 (SEQ ID NO: 74), PD10 (SEQ ID NO: 75), PD11 (SEQ ID NO: 76), PD12 (SEQ ID NO: 77) (Планшет 2); PD13 (SEQ ID NO: 78), PD14 (SEQ ID NO: 79), PD15 (SEQ ID NO: 80), PD16 (SEQ ID NO: 81), PD17 (SEQ ID NO: 82) (Планшет 3); PD18 (SEQ ID NO: 83), PD19 (SEQ ID NO: 84), PD20 (SEQ ID NO: 85), PD21 (SEQ ID NO: 86), PD22 (SEQ ID NO: 87) (Планшет 4); и PD23 (SEQ ID NO: 88), PD24 (SEQ ID NO: 89) (Планшет 5).

Фиг. 16 - график, на котором показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1, A1.5, и различных активируемых антител против PD-1, которые включают антитело против PD-1, A1.5, расщепляемую часть, указанную в настоящем изобретении как 3001, которая включает последовательность AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318), и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как PD02, PD12 и PD16.

Фиг. 17 - серия графиков, на которых показано связывание с hPD-1 антителом против PD-1, A1.5, и

различными активируемыми антителами против PD-1, которые включают антитело против PD-1 A1.5, расщепляемую часть, указанную в настоящем изобретении как 2001, которая включает последовательность ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214), и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как PD05 (SEQ ID NO: 70), PD06 (SEQ ID NO: 71), PD09 (SEQ ID NO: 74) (верхняя левая панель); PD12 (SEQ ID NO: 77), PD23 (SEQ ID NO: 88), PD25 (SEQ ID NO: 90) (верхняя правая панель); PD26 (SEQ ID NO: 91), PD27 (SEQ ID NO: 92), PD28 (SEQ ID NO: 93) (нижняя левая панель); и PD30 (SEQ ID NO: 95), PD33 (SEQ ID NO: 98), PD35 (SEQ ID NO: 100) (нижняя правая панель).

Фиг. 18 - серия графиков, на которых показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1, A1.5, и различных активируемых антител против PD-1, которые включают антитело против PD-1, A1.5, и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как PD34 (SEQ ID NO: 99), PD06 (SEQ ID NO: 71), PD09 (SEQ ID NO: 74) (верхняя левая панель); PD34 (SEQ ID NO: 99), PD12 (SEQ ID NO: 77), PD17 (SEQ ID NO: 82) (верхняя правая панель); PD34 (SEQ ID NO: 99), PD19 (SEQ ID NO: 84), PD25 (SEQ ID NO: 90) (нижняя левая панель); и PD34 (SEQ ID NO: 99), PD26 (SEQ ID NO: 91), PD28 (SEQ ID NO: 93) (нижняя правая панель).

Фиг. 19 - график, на котором показана способность активируемых A1.5 антител против PD1 согласно настоящему описанию, увеличивать ЦМВ-стимулируемую секрецию IFN-гамма по сравнению с контрольным hIgG4, но с пониженной активностью по сравнению с исходным антителом против PD1, A1.5. Протестированные активируемые антитела включают антитело против PD-1, A1.5, расщепляемую часть, указанную в настоящем изобретении как 2001, и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как PD06, PD05, PD11, PD12, PD14 и PD19. На фиг. 19 МКПК обрабатывали следующим образом: МКПК: ЦМВ+ НемаCare донор С сеяли в количестве  $2 \times 10^5$  клеток/лунка; стимулированные 5мкг/мл ЦМВ лизата +/- антитело против PD-1 или изотипический контроль; IFN- $\gamma$  ELISA анализ проводили на супернатанте, собранном в день 4.

Фиг. 20А и 20В - серия графиков, на которых показана способность антитела против PD-1, указанного в настоящем изобретении как J43v2 (Тяжелая цепь (ТЦ) : SEQ ID NO: 546; Легкая цепь (ЛЦ): SEQ ID NO: 543), блокировать связывание мышинового PD-L1 (mPD-L1) и мышинового PD-L2 (mPD-L2) с клетками, экспрессирующими мышинный PD-1 (mPD-1) с одноразрядными нМ значениями EC<sub>50</sub>.

Фиг. 21 - график, на котором показана дозозависимая индукция диабета у NOD мышей антителом, указанным в настоящем изобретении как J43v2 m2a (ТЦ: SEQ ID NO: 546; ЛЦ: SEQ ID NO: 543).

Фиг. 22 - серия графиков, на которых показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1, J43v2 m2a, и различных активируемых антител против PD-1, которые включают антитело против PD-1, J43v2 m2a, и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как MP01 (SEQ ID NO: 384), MP02 (SEQ ID NO: 385), MP03 (SEQ ID NO: 386), MP04 (SEQ ID NO: 387), MP05 (SEQ ID NO: 388) (верхняя левая панель); MP06 (SEQ ID NO: 389), MP07 (SEQ ID NO: 390), MP08 (SEQ ID NO: 391), MP09 (SEQ ID NO: 392), MP10, также указанную в настоящем изобретении как MP010 (SEQ ID NO: 393) (верхняя правая панель); MP11, также указанную в настоящем изобретении как MP011 (SEQ ID NO: 394), MP12, также указанную в настоящем изобретении как MP012 (SEQ ID NO: 395), MP13, также указанную в настоящем изобретении как MP013 (SEQ ID NO: 396), MP14, также указанную в настоящем изобретении как MP014 (SEQ ID NO: 397) (нижняя панель).

Фиг. 23 - график, на котором показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1, J43v2 m2a, и различных активируемых антител против PD-1, которые включают антитело против PD-1, J43v2 m2a, расщепляемую часть, указанную в настоящем изобретении как 2001, и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как MP5-2 (SEQ ID NO: 565), MP7-1 (SEQ ID NO: 558), MP7-5 (SEQ ID NO: 562), MP8-2 (SEQ ID NO: 549) (верхняя панель); и MP7-1 (SEQ ID NO: 558), MP8-9 (SEQ ID NO: 556), MP8-8 (SEQ ID NO: 555) (нижняя панель).

Фиг. 24 - график, на котором показано, что антитело против PD-1, J43v2, вызывало диабет у NOD мышей с повышением частоты при увеличении дозы, и что активируемые J43v2 антитела против PD-1 демонстрировали уменьшение диабета по сравнению с антителами в подобных дозах.

Фиг. 25А и 25В - серия графиков, на которых показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1, A1.5, и различных активируемых антител согласно настоящему описанию, включающих антитело против PD1, A1.5, маскирующую часть, указанную в настоящем изобретении как PD34 (SEQ ID NO: 99), и, на фиг. 25А, субстраты, указанные в настоящем изобретении как 2006 (SEQ ID NO: 1095), 2007 (SEQ ID NO: 1096), 2008 (SEQ ID NO: 1097), 2009 (SEQ ID NO: 1098) и 2001 (SEQ ID NO: 214), и, на фиг. 25В, субстраты, указанные в настоящем изобретении как 2001 (SEQ ID NO: 214), 2008 (SEQ ID NO: 1097), 2012 (SEQ ID NO: 1101), 2011 (SEQ ID NO: 1100) и 2003 (SEQ ID NO: 1092).

Фиг. 26А, 26В и 26С - серия графиков, на которых показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1 ниволумаба (NV1) и различных активируемых антител согласно настоящему описанию, включающих антитело против PD1, NV1, субстрат, указанный в настоящем изобретении как 2001 (SEQ ID NO: 214), и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как

NV01 (SEQ ID NO: 1206), NV02 (SEQ ID NO: 1207), NV03 (SEQ ID NO: 1208), NV04 (SEQ ID NO: 1209), NV05 (SEQ ID NO: 1210), NV06 (SEQ ID NO: 1211), NV07 (SEQ ID NO: 1212), NV08 (SEQ ID NO: 1213), NV09 (SEQ ID NO: 1214), NV10 (SEQ ID NO: 1215), NV11 (SEQ ID NO: 1216) и NV12 (SEQ ID NO: 1217).

Фиг. 27А, 27В, и 27С - серия графиков, на которых показано связывание с hPD-1 антитела против PD-1 пембролизумаба (PM1) и различных активируемых антител согласно настоящему описанию, включающих антитело против PD1, PM1, субстрат, указанный в настоящем изобретении как 2001 (SEQ ID NO: 214), и маскирующие части, указанные в настоящем изобретении как

PM01 (SEQ ID NO: 1351), PM02 (SEQ ID NO: 1352), PM03 (SEQ ID NO: 1353), PM04 (SEQ ID NO: 1354), PM05 (SEQ ID NO: 1355), PM06 (SEQ ID NO: 1356), PM07 (SEQ ID NO: 1357), PM08 (SEQ ID NO: 1358), PM09 (SEQ ID NO: 1359), PM10 (SEQ ID NO: 1360), PM11 (SEQ ID NO: 1361) и PM12 (SEQ ID NO: 1362).

Фиг. 28 - график, на котором показана специфичность маскирующих частей для различных активируемых антител согласно настоящему описанию, которые включают антитело против PD-1, A1.5 (PD), антитело против PD-1, NV1 (NV), и антитело против PD-1, PM1 (PM), и различные комбинации маски и субстрата.

Фиг. 29А и 29В - серия графиков, на которых показано связывание с PD-1 IgG2а эффекторно-негативного (EN) антитела против PD1, J43 (J43 m2а EN), и различных активируемых антител согласно настоящему описанию, включающих IgG2а эффекторно-негативное (EN) J43 антитело против PD1 (J43 m2а EN) и различные комбинации субстрата и маски.

Фиг. 30 - график, на котором показано, что EN антитело против PD-1, J43m2а, вызывало диабет у NOD мышей с повышением частоты при увеличении дозы, и что EN активируемые J43m2а антитела против PD-1 демонстрировали уменьшенный диабет по сравнению с антителами в подобных дозах.

Фиг. 31А и 31В - серия графиков, на которых показано, что активируемые антитела против PD1 согласно настоящему описанию, MP7-12001 m2а EN и MP8-22001 m2а EN, ингибируют рост сингенных опухолей MC38 аналогично положительному контрольному антителу против PD1, J43 m2а EN, как в качестве отдельных средств (фиг. 31А), так и в комбинации с коммерчески доступным антителом против CTLA4, 9D9 mIgG2b (фиг. 31В).

Фиг. 32А, 32В, 32С, 32D и 32Е - серия графиков, на которых показано, что антитело против человеческого PD-1, указанное в настоящем изобретении как Ab A1.5 (т.е. VH SEQ ID NO: 21 и VL SEQ ID NO: 47), блокирует PD-L1/PD-L2 связывание с PD-1 и сильно активирует Т-клетки в тесте с вторичной активацией антигенами.

На фиг. 31А показано связывание антитела A1.5 против человеческого PD-1 с иммобилизованным человеческим PD-1, при обнаружении с помощью стандартного ELISA на планшетах, и на фиг. 31В показано связывание антитела A1.5 с PD1 яванского макака, при обнаружении с помощью ELISA.

На фиг. 32С показано ингибирование биотинилированного человеческого PD-L1 с иммобилизованным PD1 антителом A1.5, при определении с помощью ELISA, и на фиг. 32D показано ингибирование биотинилированного человеческого PD-L2 с иммобилизованным PD-1, при определении с помощью ELISA.

На фиг. 32Е продемонстрировано, что антитело A1.5 увеличивает продукцию IFN-γ в анализе с повторной стимуляцией Т-клеток ЦМВ.

Фиг. 33А и 33В - серия графиков, на которых показано, что активируемое антитело против PD1, указанное в настоящем изобретении как A1.5 PD34 2001 (т.е. VH SEQ ID NO: 21, VL SEQ ID NO: 47, маскирующая часть SEQ ID NO: 99 и расщепляемая часть SEQ ID NO: 214), связывает человеческий PD-1 с пониженной аффинностью по сравнению с исходным антителом к PD-1, т.е. антителом A1.5 (фиг. 33А), при этом активируемое антитело A1.5 PD34 2001 показывает функциональное маскирование в тесте с вторичной активацией Т-клеток антигеном ЦМВ (фиг. 33В).

Фиг. 34 - график и таблица, в которых показаны результаты фармакокинетического (ФК) анализа образцов плазмы яванских макаков после болюсного введения однократной в/в дозы антитела A1.5 или активируемого A1.5 антитела, указанного в настоящем изобретении как A1.5 PD34 2001, в количестве 1 мг/кг или 5 мг/кг. Средние ФК параметры, показанные для A1.5 и для A1.5 PD34 2001.

Фиг. 35 - график, на котором показано, что комбинация 10 мг/кг антитела против PD-1, J43, плюс 10 мг/кг антитела против CTLA-4, вводимая в дни 0, 4 и 7, вызывала диабет у 50% NOD мышей на день одиннадцать, тогда как такая же схема дозирования активируемых J43 антител против PD-1 с антителом к CTLA-4 не приводила к индукции диабета до дня восемнадцать.

Фиг. 36 - график, на котором показано, что активируемые антитела против PD1, MP8-2 2012 m2a EN и MP8-22011 m2a EN, ингибируют рост сингенных опухолей MC38 аналогично положительному контрольному антителу против PD1, J43 m2a EN, как в качестве отдельных средств, так и в комбинации с антителом против CTLA4, 9D9 mIgG2b.

Фиг. 37 - серия графиков, на которых показано, что комбинированная обработка антителом CTLA4 и активируемым антителом J43 защищает мышей при повторном введении опухолевых клеток MC38.

Фиг. 38 - график, на котором показано, что антитело против PD-1, вводимое отдельно или в комбинации с антителом против CTLA4, вызывало диабет у NOD мышей, тогда как активируемое антитело против PD-1 в качестве единственного средства или в комбинации с антителом против CTLA4 не приводило к индукции диабета до дня пятнадцать.

Фиг. 39 - график, на котором продемонстрировано, что активируемое A1.5 против PD-1 и активируемые антитела на основе ниволумаба согласно вариантам осуществления повышают продукцию IFN- $\gamma$  в тесте повторной стимуляции Т-клеток ЦМВ по сравнению с контрольным антителом, но не до такой степени, как антитело против PD-1 A1.5 или ниволумаб.

Фиг. 40 - график, на котором продемонстрировано, что активируемое антитело против PD-1 на основе пембролизумаба согласно вариантам осуществления повышает продукцию IFN- $\gamma$  в тесте повторной стимуляции Т-клеток ЦМВ по сравнению с контрольным антителом, но не до такой степени, как антитело против PD-1 A1.5 или пембролизумаб.

### Подробное описание изобретения

В настоящем изобретении предложены моноклональные антитела (mAb), активируемые антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфично связывают белок программируемой смерти клеток 1 (PD-1), также известный как CD279. Предполагается, что использование термина "PD-1" охватывает любую его вариацию, такую как, в качестве неограничивающего примера, PD1 и/или PD1, при этом все вариации используются в настоящем изобретении попеременно. Аберрантная экспрессия и/или активность PD-1 и PD-1-связанная сигнализация участвуют в патогенезе многих заболеваний и нарушений, таких как рак.

PD-1, рецептор клеточной поверхности, который относится к суперсемейству иммуноглобулинов, экспрессируется на Т-клетках и про-В-клетках. Как известно, PD-1 связывает два лиганда, PD-L1 и PD-L2. PD-1 экспрессируется на поверхности активированных Т-клеток, при этом взаимодействие между PD-1 и PD-L1 и/или PD-L2 действует как иммунная контрольная точка, так как связывание PD-L1 или PD-L2 с PD-1 инактивирует Т-клетку. Таким образом, PD-1 играет роль в даунрегуляции иммунной системы, предотвращении активации Т-клеток, которая, в свою очередь, уменьшает аутоиммунные реакции и способствует аутоагрессии.

Моноклональные антитела против PD-1 и активированные активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию связывают и нейтрализуют или иным образом ингибируют способность PD-1 связывать или иным образом взаимодействовать с PD-L1 и/или PD-L2. Моноклональные антитела против PD-1 и активированные активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию связывают и нейтрализуют или иным образом ингибируют по меньшей мере одну биологическую активность PD-1. Например, моноклональные антитела против PD-1 и активированные активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию связывают PD-1 и блокируют или иным образом ингибируют активацию PD-1 лигандом на активированных Т-клетках. В отличие от традиционных химиотерапии и других направленных противоопухолевых терапий, которые проявляют свое действие посредством прямой цитотоксичности или ингибирования роста опухоли, моноклональные антитела и активируемые антитела согласно настоящему описанию блокируют негативный регулятор Т-клеточной активации и ответа, что позволяет иммунной системе атаковать опухоль.

Активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию включают антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают PD-1, соединенные с маскирующей частью (ММ), такой, что присоединение ММ уменьшает способность антитела или его антигенсвязывающего фрагмента связывать PD-1. ММ присоединяют через расщепляемую часть (СМ), которая включает последовательность, которая функционирует как субстрат для протеазы.

Активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию активируются при расщеплении расщепляемой части протеазой. Например, протеазу продуцирует опухоль, которая находится вблизи от Т-клеток, которые экспрессируют PD-1. В некоторых вариантах осуществления протеазу продуцирует опухоль, которая локализована с Т-клетками, которые экспрессируют PD-1. В активированном, т.е. расщепленном, состоянии активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию связывают PD-1, экспрессируемый на поверхности Т-клеток.

Активируемые антитела против PD-1 применяются в способах лечения, предотвращения, задержки прогрессирования, улучшения и/или облегчения симптома заболевания или нарушения, ассоциируемого со связыванием лиганда, выбранного из группы, состоящей из PD-L1 и PD-L2, с PD-1 на Т-клетке. Такие лиганды часто присутствуют на опухолевых клетках и других иммунных клетках. Связывание таких лигандов с PD-1 может приводить к иммунной супрессии, такой как супрессия активности Т-клеток, кото-

рую уменьшают антитела против PD1 и активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию. Например, активируемые антитела против PD-1 применяются в способах лечения, предотвращения, задержки прогрессирования, улучшения и/или облегчения симптома рака или другого неопластического заболевания.

Примеры активируемых антител против PD-1 согласно изобретению включают, например, активируемые антитела, которые включают тяжелую цепь и легкую цепь, которые являются или получены из антител, описанных в примерах, например в примерах 1, 2, 8, 9, 14 и 15.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 5, 9, 13, 17, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 3, 7, 11, 15, 19, 39, 41, 43,

45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 515, 517, 519, 521, 523, 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 539, 541, 572, 574, 576, 578, 580, 582, 919, 921, 923, 925, 927, 929, 931, 933, 935, 937, 939, 941, 943, 945, 947, 949, 951, 953, 955, 957, 959, 961, 963, 965, 967, 969, 971, 973, 975, 977, 979, 981, 983, 985, 987, 989, 991, 993, 995, 997, 999, 1001, 1003, 1005, 1007, 1009, 1011, 1013, 1015, 1017, 1019, 1021, 1023, 1025, 1027, 1030, 1032, 1034, 1036, 1039, 1041-1090, 1113-1120, 1123, 1124, 1127, 1128, 1131, 1132, 1134, 1135, 1138, 1139, 1143, 1144, 1147, 1148, 1151, 1152, 1155, 1156, 1159, 1160, 1163, 1164, 1167, 1168, 1170, 1171, 1174, 1175, 1178, 1179, 1182, 1183, 1186, 1187, 1190, 1191, 1194, 1195, 1198, 1199, 1202, 1203, 2055, 2054, 2057, 2056, 2059 и 2058.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57,

59, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 515, 517, 519, 521, 523, 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 539, 541, 572, 574, 576, 578, 580, 582, 584, 919, 921, 923, 925, 927, 929, 931, 933, 935, 937, 939, 941, 943, 945, 947, 949, 951, 953, 955, 957, 959, 961, 963, 965, 967, 969, 971, 973, 975, 977, 979, 981, 983, 985, 987, 989, 991, 993, 995, 997, 999, 1001, 1003, 1005, 1007, 1009, 1011, 1013, 1015, 1017, 1019, 1021, 1023, 1025, 1027, 1029, 1030, 1032, 1034, 1036, 1039, 1041-1090, 1113-1120, 1123, 1127, 1131, 1134, 1138, 1144, 1148, 1152, 1156, 1160, 1164, 1168, 1170, 1174, 1178, 1182, 1186, 1190, 1194, 1198, 1203, 2055, 2054, 2057, 2056, 2059 и 2058.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 и 59. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

SEQ ID NO:

215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239,  
 241, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267,  
 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293,  
 584, 919, 921, 923, 925, 927, 929, 931, 933, 935, 937, 939, 941,  
 943, 945, 947, 949, 951, 953, 955, 957, 959, 961, 963, 965, 967,  
 969, 971, 973, 975, 977, 979, 981, 983, 985, 987, 989, 991, 993,  
 995 и 997.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233,  
 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259,  
 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285,  
 287, 289, 291, 293, 572, 574, 576, 578, 580, 582, 1029, 1120,  
 1124, 1128, 1132, 1135, 1139, 1143, 1147, 1151, 1155, 1159,  
 1163, 1167, 1171, 1175, 1179, 1183, 1187, 1191, 1195, 1199,  
 1203, 2055, 2054, 2057, 2056, 2059 и 2058.

В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 515, 517, 519, 521,  
 523, 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 539, 541, 572, 574, 576,  
 578, 580, 582, 999, 1001, 1003, 1005, 1007, 1009, 1011, 1013,  
 1015, 1017, 1019, 1021, 1023, 1025, 1027, 1029, 1030, 1032,  
 1034, 1036, 1039, 1041-1090, 1113-1120, 1123, 1127, 1131, 1134,  
 1138, 1144, 1148, 1152, 1156, 1160, 1164, 1168, 1170, 1174,  
 1178, 1182, 1186, 1190, 1194, 1198, 1203, 2055, 2054, 2057,  
 2056, 2059 и 2058.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 215, 217, 219, 221, 223, 225,  
 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251,  
 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277,  
 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 515, 517, 519, 521, 523,  
 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 539, 541, 572, 574, 576, 578,  
 580, 582, 919, 921, 923, 925, 927, 929, 931, 933, 935, 937, 939,  
 941, 943, 945, 947, 949, 951, 953, 955, 957, 959, 961, 963, 965,  
 967, 969, 971, 973, 975, 977, 979, 981, 983, 985, 987, 989, 991,  
 993, 995, 997, 1027, 1028, 1029, 1030, 1032, 1034, 1036, 1039,  
 1041-1076, 1113-1120, 1123, 1124, 1127, 1128, 1131, 1132, 1134,  
 1135, 1138, 1139, 1143, 1144, 1147, 1148, 1151, 1152, 1155,  
 1156, 1159, 1160, 1163, 1164, 1167, 1168, 1170, 1171, 1174,  
 1175, 1178, 1179, 1182, 1183, 1186, 1187, 1190, 1191, 1194,  
 1195, 1198, 1199, 1202, 1203, 2055, 2054, 2057, 2056, 2059 и 2058.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 919, 921, 923, 925, 927, 929, 931, 933, 935, 937, 939, 941, 943, 945, 947, 949, 951, 953, 955, 957, 959, 961, 963, 965, 967, 969, 971, 973, 975, 977, 979, 981, 983, 985, 987, 989, 991, 993, 995, 997, 1028, 1029, 1041-1076, 1138, 1139, 1143, 1144, 1147, 1148, 1151, 1152, 1155, 1156, 1159, 1160, 1163, 1164, 1167, 1168, 1170, 1171, 1174, 1175, 1178, 1179, 1182, 1183, 1186, 1187, 1190, 1191, 1194, 1195, 1198, 1199, 1202, 1203, 2055, 2054, 2057, 2056, 2059 и 2058.

**В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из**

SEQ ID NO: 919, 921, 923, 925, 927, 929, 931, 933, 935, 937, 939, 941, 943, 945, 947, 949, 951, 953, 955, 957, 959, 961, 963, 965, 967, 969, 971, 973, 975, 977, 979, 981, 983, 985, 987, 989, 991, 993, 995, 997, 1028, 1041-1076, 1138, 1144, 1148, 1152, 1156, 1160, 1164, 1168, 1170, 1174, 1178, 1182, 1186, 1190, 1194, 1198, 1202, 2055, 2057 и 2059.

**В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из**

SEQ ID NO: 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 1029, 1139, 1143, 1147, 1151, 1155, 1159, 1163, 1167, 1171, 1175, 1179, 1183, 1187, 1191, 1195, 1199, 1203, 2054, 2056 и 2058.

**В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 546, и легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из**

SEQ ID NO: 515, 517, 519, 521, 523, 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 539, 541, 572, 574, 576, 578, 580, 582, 999, 1001, 1003, 1005, 1007, 1009, 1011, 1013, 1015, 1017, 1019, 1021, 1023, 1025, 1027, 1030, 1032, 1034, 1036, 1039, 1077-1090, 1113-1120, 1123, 1124, 1127, 1128, 1131, 1132, 1134 и 1135.

**В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из**

SEQ ID NO: 999, 1001, 1003, 1005, 1007, 1009, 1011, 1013, 1015, 1017, 1019, 1021, 1023, 1025, 1027, 1030, 1032, 1034, 1036, 1039, 1070-1090, 1119, 1123, 1127, 1131 и 1134.

**В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает легкую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из**

SEQ ID NO: 515, 517, 519, 521, 523, 525, 527, 529, 531, 533, 535, 537, 539, 541, 572, 574, 576, 578, 580, 582, 1120, 1124, 1128, 1132 и 1135.

**В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает тяжелую цепь, которая включает или получена из аминокислотной последовательности тяжелой цепи, показанной**















табл. 7.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию CDR-областей последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 1854 и комбинацию CDR-областей последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 737, как показано в группе V в табл. 7. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 1854 и последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 737, как показано в группе V в табл. 7.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию CDR-областей последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 1855 и комбинацию CDR-областей последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 737, как показано в группе V в табл. 7. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию последовательности тяжелой цепи SEQ ID NO: 1855 и последовательности легкой цепи SEQ ID NO: 737, как показано в группе V в табл. 7.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию CDR-областей последовательности тяжелой цепи из последовательностей тяжелой цепи, показанных в группе W в табл. 7. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию CDR-областей последовательности легкой цепи из последовательностей легкой цепи, показанных в группе W в табл. 7. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает комбинацию CDR-областей последовательности тяжелой цепи из последовательностей тяжелой цепи, показанных в группе W в табл. 7, и CDR-областей последовательности легкой цепи из последовательностей тяжелой цепи, показанных в группе W в табл. 7.

Таблица 7

Последовательности вариабельной области тяжелой цепи (VH) и вариабельной области легкой цепи (VL) для активируемых антител, которые связывают PD-1

Группа A	
VH	QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAASGVAFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNMLYLQMNSLRAEDTAMYYCARNDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 615)
VH	QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGLTFTNYGFHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNLRADTAVYYCATGDDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 617)
VH	QVYLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPGKGLEWVALIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMTSLRVEDTAVYYCASNVDPHWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 618)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1346)
VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSLRSFFFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRTVTSVDT SKNQFSLKLSVTAADTAVYYCVRDYDILTGDEDEYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 620)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTTSGITFSSYGFHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKKYYADSVKGRFTLSRDD SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVTGDDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 621)
VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCVSGGSLRSYFWGWIRQPPGKGLEWIASIFYSGETYFNPSLKSRTVTSVDT SRNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDYDILTGDEDEYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 623)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 624)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYDTSNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 625)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 626)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVRSITCRASQGISWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASNLRSQVPSRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFAVYYCQYYSYPRTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 628)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 629)

VL	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTIISSLQPEDFATYYCQQYYSYPRTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 630)
Ipyinna B	
VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYLYWVKQRPQGQLEWIGGVNPSNGGTNFSEKFKS KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRDRSDNYDGGFDYWGQGTTLTVSSAK (SEQ ID NO: 631)
VH	QVQLQQPGAELVKPGTSVKLSCKASGYTFTNYMYWVKQRPQGQLEWIGGINPSNGGTNFNEKFKN KATLTVDSSSSTTYMQLSSLTSEDSAVYYCTRDRYRFDMGFDYWGQGTTLTVSSAK (SEQ ID NO: 632)
VH	MDWTWSILFLVAAPTGAHSQVLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYMYWVRQAPQGQLEW MGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQG TTVTVSS (SEQ ID NO: 633)
VH	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYMYWVRQAPQGQLEWMMGINPSNGGTNFNEKFKN RVTLTDSSTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTLTVTVSS (SEQ ID NO: 634)
VH	EVQLVLSGGGFVQPGGSLKLSAASGFTFSSYAMSWVRQNPERRLVVWVATITGGGRNTYYPDSVKG RFTISRDNAKNTLYLQMSLSRSEDAMYYCTRQGYDGYTWFAYWGQGTTLTVS (627)
VL	DIVLTQSPSTLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGFSYLHWYQQKPGQPPKLLIIFLASNLESGVPAF SGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSWELPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 635)
VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRAAISCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQSPKLLIYLASYLESVPAF SGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRDLPLTFGTGTKELEK (SEQ ID NO: 636)
VL	MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQA PRLLIYLASYLESVPAFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKEIK (SEQ ID NO: 637)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVPAF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKEIK (SEQ ID NO: 638)
VL	MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPSLPVTPEPASPISCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQS PQLLIYLASYLESVPAFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHSRDLPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 639)
VL	EIVLTQSPSLPVTPEPASPISCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQSPQLLIYLASYLESVPAF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHSRDLPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 640)
VL	MAPVQLLGLLVFLPAMRCDIVMTQTPSLPVTPEPASPISCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQS PQLLIYLASYLESVPAFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 641)
VL	DI VMTQTPISL PVTPEPASPISCRASKGVSTSGSYLHWYQQKPGQSPQTIYI ASYL ESGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 642)
VL	DIVLTQSPSTLAVSLGQRATISCRASEVDNSGISFMNWFQQKPGQPPKLLIYAASNPGSGVPAF SGSGSGTDFSLNIHPMEEDTAMFCQQSKEVPWTFGGGTELEIKR (SEQ ID NO: 725)
TI	MAVLGLLFCLVTFPSCVLSQVLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYMYWVRQAPQGQLEW MGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTLTDSSTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK (SEQ ID NO: 643)
TI	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYMYWVRQAPQGQLEWMMGINPSNGGTNFNEKFKN RVTLTDSSTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTLTVTVSSASTKGPSVFLP PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SIEKTKSKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:



	644)
ТЦ	MAVLGLLFCLVTFPSCVLSQVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYMYWVRQAPGQGLEW MGGINPNSGGTGFNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQG TTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQS SGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 645)
ТЦ	QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYMYWVRQAPGQGLEWMMGGINPNSGGTGFNEKFKN RVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 646)
ЛЦ	MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQA PRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSDTFTLTISSELEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 647)
ЛЦ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARF SGSGSDTFTLTISSELEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 648)
ЛЦ	MAPVQLLGLLVFLPAMRCEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQA PRLLIYLASYLESGVPARFSGSGSDTFTLTISSELEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 649)
ЛЦ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARF SGSGSDTFTLTISSELEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 650)
ЛЦ	MAPVQLLGLLVFLPAMRCDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQS PQLLIYLASYLESGVDRFSGSGSDTFTLTKISRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGGGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 651)
ЛЦ	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRASKGVSTSGYSYLHWYQKPGQSPQLLIYLASYLESGVDRF SGSGSDTFTLTKISRVEAEDVGLYYCQHSRDLPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 652)
Группа C	
VH	DVQLQESGPGVLKPKSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIQFPGNKLEWGMGYINYSGSTSYNPSLKS RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARWIGSSAWYFDVWGAGTTVTV (SEQ ID NO: 726)
VL	DVLMQTPLSLPVSLGDAQASISCRSGQNIHVSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFFGVPDR ISGSGSDTFTLTKISRVEAEDLGVYFCFQGSHPVFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 727)
VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTTYLYWVRQRPQGLEWIGGINPNSGGTGFNEKFKS KATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSSEDSAVYYCTRDRYRDRGFDYWGQGTSTVTV (SEQ ID NO: 728)
VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGFNVIHWYQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARF SGSGSDTFTLNIHVEDEDAATYYCQHSRELPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 729)
VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKMSCKAFGYTFTTYPIEWMKQNHGKSLIEWIGNFHPYNDDTKYNEKFKG KAKLTVEKSSSTVYLELSRLTSDDSAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGTTLTV (SEQ ID NO: 730)

	730)
VL	ENVLTVQSPAIMASASPGKVTMTCRASSSVISSYLHWYQQKSGASPKLWIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTYSYSLTISSVEAEDAATYYCQQYNGYPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 731)
Група D	
	LFTVTVPKELYIEHGSNVTLECNFDTGSHVNLGAITASLQKVENDTSPHRERATLLEEQLPLGKA SFHIPQVQVRDEGQYQCIIYGVAWDYKYLTLKVKASYRKINTHILKVPETDEVELTCQATGYPLA EVSWPNVSVPAANTSHSRTPEGLYQVTSVLRKPPPGRNFSVFWNTHVRELTASIDLQSQMEPRT HPTWEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYVTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 732)
Група E	
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYRFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLKLG RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDADYSSGSGYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 733)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVVRVCKASGYTTLTSYIHWVRQAPGQGLEWMGIINPRGATISYAQKFG RVTMTTRDTSTSTVYMELRNLKSEDTALYYCATAGIYGFDFDYWGRGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 734)
VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLCTVSGGSISSGAYYWSWIRQHPGKLEWIGYIYYNGNTYINPSLR SLVTVISVDASKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARADYVWGGYRYMDAFDIWGRGTLITVSS (SEQ ID NO: 735)
VH	GAHSEVQLVQSGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYWCDRMSWVRQAPGKLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKENWGSYFDLWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 736)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQQKPGQAPVMVVIYKDTERPSPGIPERFSGSS GTKVTLTISGVQAEDEADYCYQADNSITYRVFVGGGKTVTVL (SEQ ID NO: 737)
VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSDVGGYNYVSWYQHHPGKAPKLIIDVTNRPSGVSDRFSG SKSGNTASLTISGLLADEGDYCYSSYITVNFVFLFGGGTKLTV (SEQ ID NO: 738)
VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGNSNIGSNVSNWYQQLPGTAPKLLIYGNQRPSPGVPDRFSGS KSGTSLASLAIISGLQSENEADYCAAWDDSLNGPVFGRGKTVTVLGE (SEQ ID NO: 739)
VL	GVHSDIVMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQGISSWLAWYQQKPGRAPKVLIIYKASTLESVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKEIKR (SEQ ID NO: 740)
Група F	
VH	QVQLVQSGHEVKKPGASVKMCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPSTGFTEYNQKFKD RATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRDSSGYHAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 741)
VH	QVQLVQSGHEVKKPGASVKMCKASGYSFTSSWIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPSTGFTEYNQKFKD RATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRDSSGYHAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 742)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHWYQQKPDQSPKLLIKFGSNLESIPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQHSWEIPTYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 743)
VL	DIVLTQSPATLSLSPGQRLTISCRASQSVSTSGYSYMHWYQQKPDQSPKLLIKFGSNLESIPARF SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHSWEIPTYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 744)
Група H	
VH	QQQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTDYEMHWVRQAPIHGLEWIGVIESETGGTAYNQKFKG RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGITTVATYYWYFDVWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 745)
VL	DVVMVTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQSIHNSNGNTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSVGPDR FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCFQGSVPLTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 746)
Група I	
VH	MGLGLQWVFFVALLKGVHCEVRLLESGGGLVKPEGLKLSVASGFTFSDYFMSWVRQAPGKLEW

	VAHIYTKSYNYATYYSGSVKGRFTISRDDSRSMVYLQMNLRTEDTATYYCTRDGSGYPSLDFWQGTQVTVSSATTTAPSVYPLAPACDSTTKS (SEQ ID NO: 747)
VH	YELTQPSPASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLIRDVRAEDEGDYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPSPPELRTNKATLVCLVNDFYPGSATVTTWKANGATINDGVKTTKPSKQGGQNYMTSSYLSLTDADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAECLE (SEQ ID NO: 748)
Ec At	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAAQPARRARRTKLGTELGSPLQEFVRLLESGGGLVKPEGSKLKSCVASGFTFSDYFMSWVRQAPGKGLEWVAHIYTKSYNYATYYSGSVKGRFTISRDDSRSMVYLQMNLRTEDTATYYCTRDGSGYPSLDFWQGTQVTVSSGGGGSDIQMTQSPSSLPASLGDRVTINCQASQDISNYLNWYQKPKGAPKLLIYYTNKLADGVPSRFSGSGSRDSSFTISSLESEDIGSYCQQYYNYPWTFPGPTKLEIKGGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGKSLKLSCEASGFTFSGYGMHWVRQAPGRGLESVAYITSSSINIKYADAVKGRFTVSRDANKLLFLQMNILKSEDTAMYCARFDWDKNYWGQGTMTVTVSSGGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLIRDVRAEDEGDYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGPGRGPEQKLISEEDLNSAVDHHHHHH (SEQ ID NO: 749)
Група J	
VH	QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTTDTSTSTATMELRSLRSDDTAVYYCARGRGYSYGIDAFDIWQGTMTV (SEQ ID NO: 750)
VH	LSYVLTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQKPKGAPVLVIYKDSERPSPGIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQSADSSGTYVVFVGGGKTLTVLQGP (SEQ ID NO: 751)
Група K	
VH	QVQLQSGPGLVLRPSQTLSLSCDISGDSVSNSSATWNWIRQSPSRGLEWLGRTFYRSKWYHDYALS VKSRITINPDTSKNQLNSVSPGDTAVYFCVREDIDGRLDYWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 752)
VH	QVQLVQSGSELKPKGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQQFTGRFVFSLDTSVSTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYHYGMDVWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 753)
VH	MAEVQLLESAGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSHYMHWVRQAPGQGLEWMGVINPSSGGSYQAQKFGGRVTMTRDTSTSTVYMDLSSLRSEDTAVYYCARRSEAYYHGMDVWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 754)
VH	EVQLVQSGSELKPKGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQQFTGRFVFSLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYHYGMDVWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 755)
VH	QVQLVESGGGLVQPGSLRLSCEATGFTFSRYWMHWVRQAPGKLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCARDTLEYGSGILENAMGYGMDVWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 756)
VH	EVQLVESGGGLVLRPGSLRLACAASGFSFSDYMTWIRQAPGRGLEWIAIYISDSGQTVHYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCAREDLGYYLQSWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 757)
VH	EVQLVESGGGVVQPRSLRLSACAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKLEWVANIKQDGESEKYYVDSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNLSRAEDTAVYYCAREGEHDAFDIWDGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 758)
VH	QVQLVQSGSELKPKGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQQFTGRFVFSLDTSVSTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYHYGMDVWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 759)
VH	QVQLVQSGSELKPKGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQQFTGRFVFSLDTSVSTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYHYGMDVWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 760)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYTMHWVRQAPQRLEWMGWINAGNGNTKYSQKFGGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAKVSAGTESWFDWQGTTLTVVSS (SEQ ID NO: 761)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQLQGG

	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGLYGDEDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 762)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKIGNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 763)
VH	QMQLVQSGAEVKKPGESLKI SCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQG QVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYC ASGVTRKRYSSSWPPFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 764)
VH	QVQLQQWAGLLKSSSETLSLSCAVYGGTFRDDHWSWIRQPPGKGLEWIGESHHTGRTIYNPSLRSR VTMSIDTSKNEFSLILRSVTAADTATYFCARGNNYVWGNQEDFWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 765)
VH	QVQLQQSGPGLVLRPSQTL SLSCDISGDSVSSNSATWNWIRQSPSRGLEWLGRTFYRSKWYHDYALS VKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVSPGDTAVYFCVREDIDGRLDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 766)
VH	EVQLVESGGALVQPGGSLRLSCAVSGFTFSDHYMDWVRQAPGKGLEWVARSRNKGN SYTTEYAASV RGRFTISRDDSKNSLYLQMNLSLKTEDTAVYYCVRVGVVVPALDGMVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 767)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKG RFTISRDNKNSLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARDTLEYGSGILENAMGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 768)
VH	EVQLLESGGGVVQTGRSLRLSCSDSGSTFRSQAMHWVRQTPGKGLEWLAVTSHDGSKTYIYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNLSLRGEDTAVYYCARGGRGYTYDHSFFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 769)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKDNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 770)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYIFSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 771)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYT FSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKDNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 772)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYT FSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVS (SEQ ID NO: 773)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYKFS DNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKSGNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 774)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYT FSDNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKSGNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 775)
VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYKFS DNGVNWVRQAPGQGLEWMGWINTKDNPTYAQQFTG RFVFLDTSISTTYLQISSLQAGDTAVYYCAREHDYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 776)
VL	LPVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPDRFSG SKSGNTASLTVSGLQAEDEADYCSAWDDSLNADVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 777)
VL	QPVLTPPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGTNTVNWYQVPGTAPKLLIHGNDQRPSGVPDRFSGS KSDTSASLAITGLQSDDDADYCSAWDDSLNADVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 778)
VL	QAVLTQPPSASATPGQRVTISCSGSDSNIGTNYVYQVPGTAPQPLIYRDNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEDEATYFCSTWDDSLNGWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 779)
VL	QPVLTPQRSVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSNRPSGVS NRFSG SKSGNTASLTVSGLQAEDEADYCSSYTSSTLEVFGTGTVTVL (SEQ ID NO: 780)

VL	YELMQPPSVSGAPGQRTVTSCTGSSSNIGAAAYDVHWYQQLPGKAPKLVMFANSNRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAIITGLQAEDEADYYCQSYDISLRAVYVFGTGTKLTVL (SEQ ID NO: 781)
VL	SYELMQPPSASGTPGQRTVTSCTGSSSNIGTNTVNWYQHLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAIISGLQSEDEADYYCATWDDSPNGWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 782)
VL	QAVLTQPPSVSAAAPGQRTVTSCTGSSSNIGADTYVSWYQQLPGTAPRLLIYDNDQRPSGIPDRFSGS KSGTSATLGTITGLQTEADYYCGTWSSLSGVFGTGKTVL (SEQ ID NO: 783)
VL	QSVLTQFPASVSGSPGQSVTTSCTGSSSDVGAYNFVSWYRQYPGKAPKLLIYEVNKRPSDVPDRFSG SKFGNTASLTVSGLQADDEADYYCSSYAGSTDVFGTGKTVL (SEQ ID NO: 784)
VL	LPVLTQPPSVSGTPGQRTVTSCTGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAIISGLQSEDEADYYCAAWDESLNGDVFGTGKTVL (SEQ ID NO: 785)
VL	AIRMTQSPSFLSASVGDRTVITCRTSQNIYNYLNWYQKPKGKAPPELLIFVASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYFCLQDHSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 786)
VL	LPVLTQPPSVSEVPGQRTVTSCTGSSSNIGSNAVNWYQHFPKAPKLLIYNDLLPSGVSDRFSAS KSGTSASLAIISGLRSEDEADYYCAAWDDNLSAYVFATGKTVL (SEQ ID NO: 787)
VL	QSALTQPPSASGSPGQSVTTSCTGTSSDVGGYNYVSWYQHHPGKAPKLLIYEVSKRPSGVPDRFSG SKSAITASLTIISGLTEDEADYYCSAWDDSLNADVFGGGTKTVL (SEQ ID NO: 788)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSIYNYLNWYQKPKGKAPKLLITDASSLETGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDTATYFCQYDDLPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 789)
VL	QAGLTQPRSVSGSPGQSVTTSCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLLIYDVTKRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTIISGLQAEDEADYYCSSYTSSTYVFGTGKTVL (SEQ ID NO: 790)
VL	QPVLTQFPASVSGSPGQSITTSCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLLIYDVSNRPSGVSNRFSG SKSGNTASLAIITGLQSDDDADYYCSAWDDSLNADVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 791)
VL	QAGLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGNSNIGDQGAAWLQHQHPPRLLSYRNNRPSGIERLSAS RSGNIASLTIITGLQPEDEADYYCSAWDDSLSVVWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 792)
VL	QAVLTQPPSASGTPGQRTVTSCTGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAIISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKTVL (SEQ ID NO: 793)
VL	AIRMTQSPSTLSASVGDRTVITCRASENIRNLLAWYQKPKGKAPPELLIHGASTLGTGVPSRFSGGG SGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQYQYESYFNTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 794)
Група L	
VH	QVQLVESGPGVKKPGSSSLKLSCTVSGFTFSSYDYMHVWRQAPNGLEWMAVIWYSGSNTYYNDSL KSRFSITRDNKNTAYMQLNSLRAEDTAVYYCARAYFGVDVWVGQGLTVTVS (SEQ ID NO: 795)
VL	DIVMTQSPASLSVSVGDRATISCRASQIGNTLAWYQKPKGQAPKRLLIYRASQIGNTLAGVPAR FSGDGDGTDFTLTIDLEEPEDFATYYCQYDHPVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 796)
Група M	
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKAFGYTFPTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDTKYNEKFKG RVTMTVDKSTTTVYMESSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTVS (SEQ ID NO: 797)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKAFGYTFPTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDTKYNEKFKG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTVS (SEQ ID NO: 798)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKAFGYTFPTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDTKYNEKFKG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTVS (SEQ ID NO: 799)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFPTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDTKYNEKFKG RVTITADKSTSTAYMESSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTVS (SEQ ID NO: 800)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAFGYTFPTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDTKYNEKFKG RVTITVDKSTTTVYMESSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTVS (SEQ ID NO: 801)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAFGYTFPTYPIEWMRQAHGQGLEWIGNFHPYNDTKYNEKFKG

	RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARENYGSHGGFVYWGQGLTVTVS (SEQ ID NO: 802)
VL	ENVLTQSPFSLASASVGDRVTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLWIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTSYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 803)
VL	ENVLTQSPFSLASASVGDRVTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 804)
VL	ENVLTQSPFSLASASVGDRVTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLWIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTSYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 805)
VL	ENVMTQSPFSLASASVGDRVTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 806)
VL	ENVMTQSPFSLASASVGDRVTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 807)
VL	ENVLTQSPFSLASASVGDRVTITCRASSSVISSYLHWYQQKPAKAPKLFIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 808)
VL	ENVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASSSVISSYLHWYQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTSYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNGYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 809)
VL	ENVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASSSVISSYLHWYQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPDRFSGS GSGTSYTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO: 810)
Група N	
VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYLYWMKQRPQGGLWIGGVNPSNGGTNFSEKFKS KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRDSNYDGGFDYWGQGTTLTVSSAK (SEQ ID NO: 631)
VL	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVISSYLHWYQQKPGQPPKLLIFLASNLESGVPAF SGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSWELPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 635)
Група O	
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLWVAYISSGYSYTIYADSVMK RFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARRGYGSFYEYFDYWGQGTTVTVS (SEQ ID NO: 1521)
VL	QIVLTQSPATLSLSPGERATLSCASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIYLTNRATGIPARFSGSGS GTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSSNPFYFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1522)
Група P	
VH	EVQLVQSGAEVKKPGEESLRISCKGSGYFTFTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKN RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1523)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGEESLRISCKGSGYFTFTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKN RFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1524)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGEESLRISCKGSGYFTFTYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPGTGGSNFDEKFKN RFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1525)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1526)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPP RFGSGGYGTDFTLTIINIESEDAAYFCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1527)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1528)
VL	DIVMTQTPSLPVTPEGPASISCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1529)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFGSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1530)
VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS

	RFSGSGSGTDFFTTSSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1531)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFFTTSSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1532)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFFTTSSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1533)
VL	DVVMTQSPSLSPVTLGQPASISCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFFTTSSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1534)
TI	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKKSGSYTFTTYWMHWVRQATGQGLEWGMNIYPGTGGSNFDEKFKN RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1535)
TI	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKN RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1536)
TI	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKKSGSYTFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKN RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1537)
TI	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKKSGSYTFTTYWMHWVRQAPGQGLEWGMNIYPGTGGSNFDEKFKN RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1538)
TI	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKKSGSYTFTTYWMHWVRQATGQGLEWGMNIYPGTGGSNFDEKFKN RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1539)
TI	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKKSGSYTFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNFDEKFKN RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTFTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTY TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1540)
III	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTEFTLTISLQDDFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVEIFPPPSDEQLK SGTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1541)
III	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTWYQQKPGQAPRLLIYWASTRESGIPK RFSGSGYGTDFLTINNI ESEDAAYFCQNDYSYPYTFGQGTKEIKRTVAAPSVEIFPPPSDEQLK

	SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1542)
ЛЦ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTQYQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1543)
ЛЦ	DIVMTQTPSLPLPVTGPGEPAISCKSSQSLDSDGNQKNFLTQYQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1544)
ЛЦ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTQYQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1545)
ЛЦ	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTQYQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1546)
ЛЦ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSSQSLDSDGNQKNFLTQYQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1547)
ЛЦ	DVMTQSPSLPLPVTLQGPASISCKSSQSLDSDGNQKNFLTQYQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1548)
ЛЦ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCCKSSQSLDSDGNQKNFLTQYQKPGQAPRLLIYWASTRESGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1834)
Группа Q	
VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCASGFTFSSYTMNWRQAPGKGLEWVSGISDTGGNTYYTDSVKG RFTVSRDNSKNTLSLQMNSLRAEDTAVYYCAKDQGGSPYFYFHYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1549)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNMYMSWVRQAPGKGLEWVSVIYSGGFTYYTDSVKG FTISRHSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYYDTSDYWTFEDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1550)
VH	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGNSNIYYSDSVKG RFTISRANSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGHWNFFFEYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1551)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCGASGFTFRNYDMHWVRQITGKGLEWVSAIGSAGDTYYPDSVKG FTISRANAKNSLYLQMNSLRVGDTAVYYCTRDIHCSSTRCYGMDVWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1552)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFKFSNEWMSWVRQAPGKGLEWVGRISKTDGGTTDYAAPV KGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDQDFWGSYTYGADYYGMDVWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1553)
VH	QMQLQQWAGLLKPSSETLSLTCVVYGGSLNGYYSWIRQSPGKGLEWIGEIDHSGSTNYNPSLKNR VTMSVDTSKIQFSLKLTSTVADTAVYYCAREGLLPFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1554)
VH	QLQLQESGPDLVKPSDTLSLTCVSDSISSTTYWAWIRQPPGKGLEWIGMSYNGNNYYNPSLK SRVAISAGTSQKQFSLKLTSTVTAADTAVYHCARHLGYNGNWPFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1555)
VH	EVQVVEGGGLVEPGRSLRLSCKASGFTFDYAMHWVRQTPGKALEWVSGINWGSNNIGYADSVKG



	RFTISKDDAKNSLYLQMNSLRPEDTALYYCTKDISITGTLDAFDVWGQGMVTVSS (SEQ ID NO: 1556)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAI <u>I</u> WSDGDSEYNLDSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRVEDSAVYYC <u>ARDRDL</u> EDIWGQGMVTVSS (SEQ ID NO: 1557)
VH	EVQLLESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMTWVRQAPGKGLEWVSG <u>I</u> SGGGRDTYFADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYC <u>VK</u> WGNLYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1558)
VH	EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQVPGKGLEWVSG <u>I</u> SWNDGKTVYAESVKG RFTISRDN AKNSLYLEMNSLRAEDTALYYC <u>ARDWQY</u> LIERYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1559)
VH	EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCTASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWISG <u>I</u> GWTGGRSSYADSVRG RFTISRDN AKNSLYLQMNSLGAEDTALYYC <u>ARDRQW</u> LVQWYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1560)
VH	EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQLPGKGLEWVAG <u>I</u> SWNDGKTVYAESVKG RFTISRDN AKNSLHLEMNSLRAEDTALYYC <u>ARDWQY</u> LIDRYFDFWQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1561)
VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG <u>I</u> GWSSGSIGYADSVKG RFTISRDN AKNSLYLQMNSLRPEDSALYYC <u>AKAYT</u> FMITLYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1562)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYDMHWVRQAPGKGLEWVSGSGWNRGSLGYADSVKG RFTISRDN AKKSLYLQMN SVRVEDTALYYC <u>AK</u> GFVVVSAAYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1563)
VH	QVQLVQSGAEVKRPGSSVKVCSKVSGVTFRNFAI I WVRQAPGQGLEWMMGGI <u>I</u> PPFSAANYAQSFQG RVTITPDESTSTAFMELASLRSEDTAVYYC <u>AREGERGHTY</u> GFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1564)
VH	EVQLVESGGGLVQSGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQPPGKGLEWVSG <u>I</u> NWNRGRTGYADSVKG RFTISRDN AKNSLYLQMN DL RVEDTALYYC <u>AKAEQW</u> LDEGYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1565)
VH	EVQLVESGGGLVQRGGSLRLSCAASGFSSYAMN WVRQAPGKGLEWVST <u>I</u> SDSGGSTYYADSVKG RFTISRDN SKNTLSLQMN SLRAEDTAVYYC <u>AKDQ</u> GSYPYFHYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1566)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFEDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG <u>I</u> GWSNVKIGYADSVKG RFTISRDN VRNSLYLQMN SLRTEDTAFYYC <u>VKAYT</u> SMLTLYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1567)
VH	QVQLVQSGAEVKRPGASVKVCSKASGYTFTSFYMYWVRQAPGQGLEWMMGI <u>I</u> NPSDGSTSNAQKFG RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYC <u>ARRVAGDI</u> FDI WGQGMVTVSS (SEQ ID NO: 1568)
VH	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISYHWNWIRQSPGKGLEWIGY <u>I</u> YYIGSTDYNPSLESR VTI SVDT SKNQFSLKLLSSVTAADTAVYYC <u>ARV</u> PV GATGASDVWGQGMVTVSS (SEQ ID NO: 1569)
VH	EVQLVESGGSVVRPGGSLRLSCVVS GFTFEDYGLSWVRQIPGKGLEWVSG <u>I</u> SWTGGNTGYADSVKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALYHCTRDQWLMQWYFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1570)
VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSAYAMHWVRQAPGKGLEWVA <u>I</u> SYGGSDKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRTDDTAVYYC <u>AKSAHWN</u> FFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1571)
VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCVASG <u>FAL</u> HDYAMHWVRQVPGKGLEWVSS <u>I</u> SWNSGVIGYADSLKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTALYYC <u>AKG</u> SGSYVSWFDPWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1572)
VH	QLQLQESGPGLVQPSSETLSLTCTVSGDSISSTAYHWDWIRQPPGKGLEWIGT <u>I</u> TYNGNTYFNPSLK SRVTISVDT SKNQFSLKLLSMTAAETA VFYCARHLGYNSDFPFDFWQGLVTVSS (SEQ ID NO: 1573)

VH	EVQLVESGGGLVLRPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMAWVRQTPGKGLEGVSAIGGSGDSTYYVDSVKG RFTISRDNKSTLFLQMNSLRAEDTAVYYCYKVRNYDGSFDIWGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 1574)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLIWYQQKPGTAPKFLIYAASSLQSGVPSRFSGCG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQTRLEIK (SEQ ID NO: 1575)
VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSGDFAVYYCQYNNWPLTFGGGTKVEIN (SEQ ID NO: 1576)
VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSG SGTEFTLTISSLQSGDFAVYYCQYNNWPLTFGGGTKVEIN (SEQ ID NO: 1577)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQTRLEIK (SEQ ID NO: 1581)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQTRLEIK (SEQ ID NO: 1579)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQTRLEIK (SEQ ID NO: 1580)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQSVSNYLNWYQQNPGQAPRLLIYAASNRATGIPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCHQYATSPWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1581)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLNWYQQKPGQAPRLLIYGASSRTGIPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPPWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1582)
VL	DIQMTQSPISVSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGIAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTIGSLQPEDFATYYCQQAHSFPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1583)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGIKNDLWYQQKPGKAPKLLIYAASNLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQYHNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1584)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTIRTLQPEDFATYYCQSSNTPFTFGPGTVVDFR (SEQ ID NO: 1585)
VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLNWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSPPWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1586)
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSYSTPPITFGQTRLEIK (SEQ ID NO: 1587)
TI	EVQLVESGGGLVLRPGGSLRLSCAASGFTFSNFGMTWVRQAPGKGLEWVSGISGGGRDITYFADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLKGEDTAVYYCYKWNIGYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTY TCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1588)
TI	EVQVVESGGGLVEPGRSLRLSCKASGFTFDDYAMHWVRQTPGKALEWVSGISWSGNNIGYADSVKG RFTISKDDAKNSLYLQMNSLRPEDTALYYCTKDISITGTLDAFDVWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPL LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV VVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1589)
TI	EVQLVESGGGLVLRPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMAWVRQTPGKGLEGVSAIGGSGDSTYYVDSVKG RFTISRDNKSTLFLQMNSLRAEDTAVYYCYKVRNYDGSFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGK TYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVD VDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSS IEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGLK (SEQ ID NO: 1590)
TI	QVQLVQSGAEVVKRPGSSVKVCSKVSQVTFRRNFATIIWVRQAPGQGLEWMGGIIPFFSAANYAQSFGQ

	RVTITPDESTSTAFMELASLRSED <del>TAVYYCAREGERGHTYGF</del> <u>WDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPL</u> APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS <del>GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVVPSSSLG</del> TKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI <del>SRTPEVTCVV</del> VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK <del>TTP</del> PVLDSGSGFFLYSRLTVDKSRWQEGN <del>VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK</del> (SEQ ID NO: 1591)
III	DIQMTQSPSSLSASVGD <del>SITITCRASLSINTFLN</del> <u>WYQQKPKGAPNLLIYAASSLHGGVPSRFSGSG</u> SGTDFTLTIRTLQPEDFATYYCQSS <del>NTPTTF</del> <u>FGPGTVVDFRRTVAAPS<del>VFI</del>FPPSDEQLKSGTASV</u> VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK <del>DSTYLSLSTLTL</del> SKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1592)
III	DIQMTQSPISVSASVGD <del>RVTITCRASQGISN</del> <u>LAWYQQKPGIAPKLLIYASASSLQSGVPSRFRGSG</u> SGTDFTLTIGSLQPEDFATYYCQAH <del>SEPLT</del> <u>FGGGTKVEIKRTVAAPS<del>VFI</del>FPPSDEQLKSGTASV</u> VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK <del>DSTYLSLSTLTL</del> SKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1593)
III	EIVLTQSPGTL <del>SLSPGERATLSCRASQSVSSSY</del> <u>LAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGS</u> GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQY <del>GSSPWT</del> <u>FGQGTKEIKRTVAAPS<del>VFI</del>FPPSDEQLKSGTAS</u> VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK <del>DSTYLSLSTLTL</del> SKADYEKHKVYACEVTH HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1594)
III	DIQMTQSPSSLSASVGD <del>RVTITCRASQISSYLN</del> <u>WYQQKPKGAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG</u> SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSY <del>STPTIT</del> <u>FGQGTREIKRTVAAPS<del>VFI</del>FPPSDEQLKSGTAS</u> VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK <del>DSTYLSLSTLTL</del> SKADYEKHKVYACEVTH HQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1595)
Група R	
VH	EVKLVE <del>SGGGLVKPGGSLKLS</del> <u>CAASGFTFSSYGM</u> <del>SWLRQTPEKRLEWVATMSGGGRDIYYPDSMKG</del> RFTISRDN <del>AKNNLYLQMS</del> <u>SLRSED</u> TALYYCAR <del>QYDDWFAY</del> <u>WGQGLTVTVSA</u> (SEQ ID NO: 1719)
VH	QVQLKQSGPGLVQPSQ <del>NLSVTCTVSGFSLTY</del> <u>GVHWRQSPGKLEWLGVIWGGSTDYNAAFISR</u> LTISKDNARSQVFFK <del>MNSLQVNDTAMY</del> <u>CAREKSVYGNVYGAMDYWGQGT</u> SVTVSS (SEQ ID NO: 1720)
VH	EVKLVE <del>SGGGLVKPGGSLKLS</del> <u>CGASGFTFSSYGM</u> <del>SWVRQTPEKRLEWVATISGGGRDIYYPDSVKG</del> RLTISRDN <del>AKNNLYLQMS</del> <u>SLRSED</u> TALYYCVR <del>QYDDWFAY</del> <u>WGQGLTVTVSA</u> (SEQ ID NO: 1721)
VH	DVQLQESGPGLVKPSQ <del>SLSLTCTVTGYSIT</del> <u>SDYAWN</u> WIRQFPGN <del>QLEWMAI</del> <u>ISYSGYTSYNP</u> SLKS RISITRDT <del>SKNQFFLQLNSVT</del> <u>TEDTATYYCARSLDYDYGTMDYWGQGT</u> SVTVSS (SEQ ID NO: 1722)
VH	EVKLVE <del>SGGGLVKPGGSLKLS</del> <u>CAASGFAFRSYDMS</u> WVRQTPEKILEWVATISGGGSYTY <del>YQDSVKG</del> RFTISRDNARNTLYLQ <del>MS</del> <u>SLRSED</u> TALYYCAS <del>PYGPFY</del> <u>FDYWGQGT</u> TLTVSS (SEQ ID NO: 1723)
VH	DVQLQESGPGLVKPSQ <del>SLSLTCTVTGYSIT</del> <u>SDYAWN</u> WIRQFPGN <del>QLEWMAI</del> <u>ISYSGYTSYNP</u> SLKS RISITRDT <del>SRNQFFLQLNSVT</del> <u>TEDTATYYCARSLDYDYGTMDYWGQGT</u> SVTVSS (SEQ ID NO: 1724)
VH	EVKLVE <del>SGGGLVKPGGSLKLS</del> <u>CSASGFSFYDMS</u> WVRQTPEKGLEWVATISGGGRNTY <del>FIDSVKG</del> RFTISRDNV <del>KNNLYLLM</del> <u>SSLRSED</u> TALYYCAS <del>PYEGAVDF</del> <u>YWGQGT</u> SVTVSS (SEQ ID NO: 1725)
VH	EVKLVE <del>SGGGLVKPGGSLKLS</del> <u>CAASGFTFSSYGM</u> <del>SWVRQTPEKRLEWATISGGGRDIYYLDSVKG</del> FTISRDN <del>AKNNLYLQMS</del> <u>SLRSED</u> TALYYCVR <del>QYDDWFAY</del> <u>WGQGLTVS</u> NSA (SEQ ID NO: 1726)
VH	QVQLQQSGDELVRPGT <del>SVKMSCKAAGYFT</del> <u>NNWIGVVKQRP</u> HGLEWIGDFY <del>PGGGYTNYNEKFKG</del> KATLTADTSSSTAYMQL <del>SSLTSEDSAIYYCARGYGTNYWY</del> <u>FDVWGAGT</u> TVTVSS (SEQ ID NO: 1727)
VH	QIHLVQSGPELKKPG <del>ETVKISCKASGYFT</del> <u>NFGMN</u> WVKQAPGKGLK <del>WGWISGYTREPTYAADFKG</del> RFAISLET <del>SASTAYLQINDL</del> <u>KNEDMATYFCARDV</u> FDYWGQGT <del>TLTVSS</del> (SEQ ID NO: 1728)

VH	QIQLVQSGSELKPKGASVKVSCASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLKWMGWISGYTREPTYAADFKG RFVLSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDVFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1729)
VH	QVQLQESGPELVKPSQTLSTCTVSGYSISSDYAWNWRQPPGKGLEWMAIYISYSGYTSYNPSLKS RITISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARSLDYDYGTMGYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1730)
VL	DIVLTQTPATLSVTPGDSVLSLSCRASQISNNLHWYQOKSHESPRLLIKYASQISISGIPSRFSGSG SGTDFTLNINSVETEDFGMYFCQQNSWPLTFGAGTKLELKR (SEQ ID NO: 1731)
VL	SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVSDVAVYQOKPGQSPKLLIYYAFNRYTGVPDRFTGSG YGTDFTFITISTVQSEDLAVYFCQDYRSPWTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO: 1732)
VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVLSLSCRASQISNDLHWYQOKSHESPRLLIKYVSQISISGIPSRFSGSG SGTDFTLNINSVETEDFGMYFCQQSDSWPLTFGAGTKLELKR (SEQ ID NO: 1733)
VL	QIVLSQSPAILASAPGKVTMTCRANSSVSMHWYQOKPGSSPEPWIYAIISNLAFGVPTRFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYFCQQWSSRPPTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO: 1734)
VL	DIQMNQSPSSLSASLGDITITCHASQISINVWLSWYQOKPGNIPKLLIYRASNLHTGVPDRFSGSG SGTGFTLTISSLQPDIIATYFCQQGQSPWTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO: 1735)
VL	QIVLSQSPAILASAPGKVTMTCRANSSVSMHWYQOKPGSSPEPWIYAIISNLAFGVPTRFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYFCQQWNSRPPTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO: 1736)
VL	DIVMTQSHKVMSTSVGDRVITCKASQDNDVAVYQONPGQSPKLLIKWASTRHHGVPDRFTGSG SGTDFTLTISTVQSEDLADFCQQYSTFPYTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO: 1737)
VL	DIVLTQTPATLSVTPGDSVLSLSCRASQSLNNLHWYQOKSHESPRLLIKYASQISISGIPSRFSGSG SGTDFTLNINSVETEDFGMYFCQQNSWPLTFGAGTKLEMKR (SEQ ID NO: 1738)
VL	NIVMTQTPKILFISAGDRVTITCKASQSVSNDVAVYQOKPGQSPKLLIYYAFTRYIGVPDRFTGSG YGTDFTFITISTVQAEIDLAVYFCQDYSSPYTFGGGKLEIKR (SEQ ID NO: 1739)
VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASEVDNYGYFMMNWFQOKPGQPPKLLIYRASNLESIGIPARF SGSGSRTNFTLTINPVEADDVATYFCQQSNADPTFGGGTNLEIKR (SEQ ID NO: 1740)
VL	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASEVDNYGYFMMNWFQOKPGQPPKLLIYRASNLESIGVPARF SGSGSRTDFTLTINPVEANDTANYFCQQSNADPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1741)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRANSSVSMHWYQOKPGQSPPEPWIYAIISNLAFGVPTRFSGSGS GTDYTLTISSELEPEDFVAVYYCQQWSSRPPTFGQGTKEIK (SEQ ID NO: 1742)
Группа S	
VH	QVQLVQSGSEVKKSGSSVKVSKCTSGGTFITNYAINWVRQAPGQGLEWGGILPIFGAAKYAQKF QDRVTITADESTNTAYLELSSLTSEDTAMYCARGKRWLQSDLQYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1743)
VL	QPVLTPQASVSGSPGQSITISCTGSSSDVGSYDLVSWYQQSPGKVPKLLIYEGVKRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADYCYSSYAGTRNFVFGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 1744)
Группа T	
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYMYVVKQAPGQGLEWIGGINPSNGGTNYNEKFKN KATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRRDYRYDMGFYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1745)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYMYVVRQAPGQGLEWGGVNPNGGTNFNEKFKS RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRDYRYDMGFYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1746)
VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTNYMYVVKQSHGKSLWIGGINPSNGGTNYNEKFKN KATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARRDYRYDMGFYWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO: 1747)
VH	EVQLQQSGPVLVVKPGASVKMSCKASGYTFTSYMYVVKQSHGKSLWIGGINPSNGGTNFNEKFKS KATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARRDYRYDMGFYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1748)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATISCRASKGVSTSGYSYLHWYQOKPGQAPRLLIYLASYLESGVPARF SGSGSGTDFTLTISSELEPEDFATYCYQHSRELPLTFGTGTKEIK (SEQ ID NO: 1749)
VL	QIVLTQSPAIMSAPGKVTMTCRASKGVSTSGYSYLHWYQOKPGSSPRLLIYLASYLESGVPTRF

	SGSGSGTSYSLSLTISRMEAEDAATYYCQHSRELPLTFGTGTRLEIK (SEQ ID NO: 1750)
Група U	
VH	QVQLVQSGAELMKPGASVKMSCKT <u>TGYIFSSY</u> WIGWVKRQPGHGLEWIGK <u>IFPGSGSADY</u> NENFKG KATFTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGY <u>GNLYFDV</u> WGAGTTVTVSS (SEQ ID NO: 619)
VH	DVQLQESGPGGLVKPSQSLSLTCTVTGHSITSDYAWN <u>WIRQFPGNKLEWMGYISYSGRTSYN</u> PSLTS RISITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTAVYYCARGY <u>ALDYWGQGT</u> SVTVSS (SEQ ID NO: 1835)
VH	EVKLVESSGGGLVSPGGSLKLSAASG <u>FTFSTFGMSWVRQTPEKRL</u> EWVATISGGGSDTYYPDSVQ <u>G</u> RFIISRYNAKNNLYLQMNSLRPEDTALYYCARGY <u>DVYSWFAY</u> WGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 1836)
VH	EVKLVESSGGGLVSPGGSLKLSAASG <u>FTFSTFGMSWVRQTPEKRLQ</u> WVATISGGGSDTYYPDSVQ <u>G</u> RFTISRDNKNNLYLQMNSLRSEDALYYCARGY <u>QDSAWFAS</u> WGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 1837)
VH	EVQLVESGGGLVSPGGSLRLSAA <u>S</u> GFTFSTFGMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGGSDTYYPDSVQ <u>G</u> RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGY <u>DVYSWFAY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1838)
VH	EVQLVESGGGLVSPGGSLRLSAA <u>S</u> GFTFSTFGMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSDTYYPDSVQ <u>G</u> RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGY <u>DVYSWFAY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1839)
VH	EVQLVESGGGLVSPGGSLRLSAA <u>S</u> GFTFSTFGMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSDTYYPDSVQ <u>G</u> RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARGY <u>QDSAWFAS</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1840)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFPHY</u> GISWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DVYGTGSGY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1841)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFRQGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DVYDYGSGSY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1842)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFSTFGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DVYSSGSGY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1843)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFTRYGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAHNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DADYDYGSGSY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1844)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFPHY</u> GISWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DAEYDYGSGSY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1845)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFTWYGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DSEYSSGSGY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1846)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFETYGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DAEYSLGSGY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1847)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFRQYGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DAEYDYGSGSY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1848)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFTWYGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DSEYRSGSGY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1849)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC <u>KASGYRFRQYGI</u> SWVRQAPGQGLEW <u>MGI</u> SAYNGNTNYAQKLQ <u>G</u> RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGY <u>DAEYRSGSGY</u> WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1850)

VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFRTRYGISWVRQAPGQGLEWMGWVSAHNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDADYRSGSGYWGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1851)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFPHYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVDYRTGSGYWGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1852)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFTSTFGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVDYRSGSGYWGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1853)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFRTRQGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDVDYRSGSGYWGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1854)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFPHYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAEYRSGSGYWGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1855)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYRFETYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAEYRLGSGYWGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1869)
VL	NI <del>V</del> MTQTPKFL <del>L</del> VSAGDRITITCKASQSVSD <del>D</del> VAWYQKPGQSPKLLISYAFKRYIGV <del>P</del> DRFTGSG YGTDFTFITISTVQAE <del>L</del> LAVYFCQ <del>Q</del> NYNSPYTFGGG <del>T</del> KLELKR (SEQ ID NO: 1856)
VL	QIVLSQSPAIL <del>S</del> SASPGKVTMT <del>C</del> RTSSSVNYM <del>H</del> WFQKPGSSPKPIYATSKLASGVPARFSGSGS GTSYSLTISRVEAEDAATYFCQ <del>Q</del> WISDPWTFGGG <del>T</del> KLEIK (SEQ ID NO: 1857)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDAL <del>T</del> TOYAYWYQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSS GKVTTLTISGVQAEDEADY <del>C</del> Q <del>S</del> ADNSITYRVFGGG <del>T</del> KVTVL (SEQ ID NO: 1858)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDAL <del>S</del> EQYAYWYQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSS GKVTTLTISGVQAEDEADY <del>C</del> Q <del>S</del> ADNSITYRVFGGG <del>T</del> KVTVL (SEQ ID NO: 1859)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSS GKVTTLTISGVQAEDEADY <del>C</del> Q <del>S</del> ADNSITYRVFGGG <del>T</del> KVTVL (SEQ ID NO: 737)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKQYAYWYQKPGQAPVMVLYKDTERPSGIPERFSGSSS GKVTTLTISGVQAEDEADY <del>C</del> Q <del>S</del> ADNSITYRVFGGG <del>T</del> KVTVL (SEQ ID NO: 1860)
VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPMQYGYWYQKPGQAPVMVIYKDTERPSGIPERFSGSSS GKVTTLTISGVQAEDEADY <del>C</del> Q <del>S</del> ADNSITYRVFGGG <del>T</del> KVTVL (SEQ ID NO: 1861)
VL	DIIL <del>T</del> QSPASLAVSLGQRAAISCRASESDNSGISFMSWFQKPGQPPKLLIYTASNQSGSVPARF SGSGSGTEFSLNIHPMEEDDTAMYFCQ <del>Q</del> SKEVPWTFGGG <del>T</del> KLEIR (SEQ ID NO: 1862)
VL	DIVL <del>T</del> QSPASLAVSLGQRATISCRASENVDDYGV <del>S</del> FMNWFQKPGQPPKLLIYPASNQSGSVPARF SGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQ <del>Q</del> SKEVPWTFGGG <del>T</del> KLEIK (SEQ ID NO: 1863)
VL	DIQL <del>T</del> QSPSFLSASVGD <del>R</del> VTITCRASESDNSGISFMSWYQKPGKAPKLLIYTASNQSGSVPSRF SGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY <del>C</del> Q <del>S</del> SKEVPWTFGQGT <del>K</del> VEIK (SEQ ID NO: 1864)
VL	EIVL <del>T</del> QSPATLSLSPGERATLSCRASESDNSGISFMSWYQKPGQAPRLLIYTASNQSGSIPARF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVY <del>C</del> Q <del>S</del> SKEVPWTFGQGT <del>K</del> VEIK (SEQ ID NO: 1865)
VL	EIVL <del>T</del> QSPATLSLSPGERATLSCRASENVDDYGV <del>S</del> FMNWFQKPGQAPRLLIYPASNQSGSIPARF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVY <del>C</del> Q <del>S</del> SKEVPWTFGQGT <del>K</del> VEIK (SEQ ID NO: 1866)
VL	EIVL <del>T</del> QSPGTL <del>S</del> LSPGERATLSCRASENVDDYGV <del>S</del> FMNWFQKPGQAPRLLIYPASNQSGSIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY <del>C</del> Q <del>S</del> SKEVPWTFGQGT <del>K</del> VEIK (SEQ ID NO: 1867)
VL	DIVM <del>T</del> QSPDSLAVSLGERATINCRASENVDDYGV <del>S</del> FMNWFQKPGQPPKLLIYPASNQSGSV <del>P</del> DRF SGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVY <del>C</del> Q <del>S</del> SKEVPWTFGGG <del>T</del> KLEIK (SEQ ID NO: 1868)
Группа V	
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKN RVTMTRDTSTSTVYME <del>L</del> SSLRSEDTAVYYCARLLTGTFA <del>Y</del> WGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1870)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKN RVTMTRDTSTSTVYME <del>L</del> SSLRSEDTAVYYCARLSTGTFA <del>Y</del> WGQGLVTVSSS (SEQ ID NO: 1870)

	1871)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSITNYNEKFKN RVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARLTTGTFAFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 1872)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIWPGSSLTNYNEKFKN RVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARLLTGTFAFWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 1873)
VH	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQNDYFYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1874)
VL	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSYRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQNDYFYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1875)
VL	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSYRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQNDYFYPHTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1876)
VL	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQNDYFYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1877)
TI	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKN RVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARLSTGTFAFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTKTY TCNVDRHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPPEVTCVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 1878)
TI	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWINWVRQAPGQGLEWMGNIYPGSSLTNYNEKFKN RVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARLSTGTFAFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTKTY TCNVDRHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPPEVTCVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE KTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 1879)
III	DIVMTQSPDLSAVSLGERATINCKSSQSLWDSGNQKNFLTWYQQKPGQPPKLLIYWTSYRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQNDYFYPHTFGGGTKVEIKRGTVAAPSVFI FPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 1880)
Група W	
VH	EVQLQESGPELVLRPGASVKMSCKASGYTFTSYMMHWVKQRPGQGLEWIGMIDPSNSETSLNQKFKD KATLNVKSTNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSRGNAYAYEMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1972)
VH	EVQLQESGPELVLRPGASVKMSCKASGYTFTSYMMHWVKQRPGQGLEWIGMIEPSSSETSLNQKFKD KATLNVKSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSRGNAYAYEMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1973)
VH	EVQLQESGPELVLRPGASVKMSCKASGYTFTSYMMHWVKQRPGQGLEWIGMIDPYSSETSLNQKFKD KATLNVKISNTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARSRGNAYAYDMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1974)
VH	EVQLQESGPELVLRPGASVKMSCKASGYTFTSYMMHWVKQRPGQGLEWIGMIDPSNSETSLNQKFKD KATLNVKSSKTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSRGNAYAYDMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1975)
VH	EVQLQESGAEIVMPGASVKMSCKASGYTFTDYMMHWVKQRPGQGLEWIGAITSDSYTSYHQNFKG KATLTFDESSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCARRDYGGFGYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1976)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKSHGKSLWIGDIDPNNGGTIYNQKFKG KATLTVKSSRTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 1977)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCRASGYIFTDYNMDWVKSHGKSLWIGDIDPNNGGTIYNQKFKD

	KTTLTVDKSSRTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1978)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQNHGKSLEWIGDIDPNNNGDTIYNQKFKG KATLTVDKSSRTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1979)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNSGGSIYNQKFKG KATLTVDKSSRTVYEMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1980)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKITCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKG KATLTVDKSSNTAYMELRSLASEDTAVYYCARWRSSMDYWGQGTSVSVSS (SEQ ID NO: 1981)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKG KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1982)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGI IYNQKFKG KAALTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1983)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNGGI IYNQKFKG KAALTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCTRWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1984)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNNNGTIYNQKFKG KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCTKWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1985)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVMQSHGKSLEWIGDIDPNNGGTIYNQKFKG KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCTRWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1986)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNVDWVKQSHCKSLEWIGDIDPNNGCTFYNQKFKG KATLTVDKSSSTAHMELRSLTSEDVAVYYCVRWRSSMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 1987)
VH	EVQLQESGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDIDPNTGTTFYNQDFKG KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDVAVYYCARWRSSMDYWGQGTSLTVSS (SEQ ID NO: 1988)
VH	EVQLQESGAELVVRPGASVTLSCKASGYTFTDYEMHWVKQTPVHGLEWIGVIDPPTGGTAYNQKFKV KALLTADKSSNTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1989)
VH	EVQLQESGAELVVRPGASVTLSCKASGYTFTDYELIHWVKQTPVIIGLEWIGVIDPETGGTAYNQKFKG KAILTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTSEKFGSSYYFDYWGQGTTFVTVSS (SEQ ID NO: 1990)
VH	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNKLEWIMGYITYSGSPTYNPSLKS QFSITRDTSKNQFFLQLNSLTEDTATYYCARGLGGHYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1991)
VH	EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNKLEWIMGYITYSGSPTYNPSLKS QFSITRDTSKNQFFLQLNSVTEDTATYYCARGLGGHYFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1992)
VH	EVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHWRQFPGNKLEWIMGFIHYSGDTNYNPSLKS RFSITRDTSKNQFFLHLNSVTPEDTATYYCASPSRLLFDYWGHTTLTVSS (SEQ ID NO: 1993)
VH	EVQLQESGPGLVAPSQSLSLTCTVSGFSLTNYGVDWVRQSPGKGLEWLGVIWVGSTNYNSALKSR LSISKDNSKQVFLKMNSLQDDTAMYYCASDGFVYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1994)
VH	EVQLQESGPGLVAPSQSLSLTCTVSGFSLTNYGVDWVRQSPGKGLEWLGVIWVGSTNYNSALKSR LSISKDNSKQVFLKMNSLQSDDTAMYYCASDGFVYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1995)
VH	EVQLQESGPSLVQPSQSLSLTCTVSGFSLTNYGVHWRQSPGKGLEWLGVIWRGGNTDYNAAFMSR LSITKDNSKQVFFKMNSLQADDTAIYYCAASMIIGYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 1996)



VH	EVQLQESGSLVQPSQSLSTICTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWRGNTDYNAAFMSR LSITKDNSKQVFFKFHSLQDDTAIYYCAASMIIGGYWGQTTLVSS (SEQ ID NO: 1997)
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMMIDPSNSETSLNPKFQG RVTMTVDKSTNTVYMESSLRSEDVAVYYCARSRGNAYAYEMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1998)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMMIDPSNSETSLNPKFQG RVTTLNVDKSTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARSRGNAYAYEMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 1999)
VH	EVQLVQSGTEVTKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWLGMDPSNSETTLNPKFQG RVTMTVDKSTNTVYMELTSLRSEDVAVYYCARSRGNAYAYEMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 2000)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWMMGIDPGTGGTAYNPKFQG RVTMTADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 2001)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYEMHWVRQAPGQGLEWMMGIDPGTGGTAYNPKFQG RVTMTADKSTNTVYMESSLRSEDVAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 2002)
VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYEMHWVRQAPGQRLWMMGIDPGTGGTAYNPKFQG RVTITADKSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCTSEKFGSNYYFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 2003)
VL	DIVLTQTPAIMSASPGKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISSMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2004)
VL	DIVITQTTAIMSASPGKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISSMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2005)
VL	DIVMTQTPATMSASPGKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKVWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISSMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2006)
VL	DIVMTQTTATMSASPGKVTLTCSASSSVSNLYWYQQRPGSSPKVWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISSMEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2007)
VL	DIVLTQSTAIMSASPGKVTLTCSASSGVNSNLYWYQQRPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISSVEAEADAASYFCHQWSSYPPTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 2008)
VL	DIVLTQTPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSKLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2009)
VL	DIVLTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSKLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2010)
VL	DIVITQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2011)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQRPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSNLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2012)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2013)
VL	DIVMTQSTSSLSASLGDRVTISCSASQGISHYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTIRNLEPEDIATYYCQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2014)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISHYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTIRNLEPEDIATYYCQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2015)
VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQDISYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2016)
VL	DIVMTQTPSSLSASLGDRVTISCSASQGISYLNWYQKPDGTIKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSELPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2017)
VL	DIVMTQTPSSMSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSYLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2018)
VL	DIVMTQTPSSLSASLGDRVTISCSASQIGNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSGSG SGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSNLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2019)

VL	DIVMTQSPSSLSASLGDRVTISCSASQGISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISDLAPEDIATYYCQQYSYLPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2020)
VL	DIVITQSPSLSPVSLGDQASISCRSSQSLVHSDGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCFQGSHTVHPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 2021)
VL	DIVLTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2022)
VL	DIVLTQSPSLSPVSLGDQASISCRSSQSIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2023)
VL	DIVITQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQTIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2024)
VL	DIVMTQSTLSLPVSLGDQVSIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPNLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2025)
VL	DIVLTQDELSPVTSGESVSIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPQVLIYFMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2026)
VL	DIVMTQDELINPVTSGESVSIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPQVLIYFMSTRASGVSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2027)
VL	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGTQKNTLWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISVQAEEDLAVYCYQNDYSYPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2028)
VL	DIVLTQTATLSVTPGDRVSLSCRASQSIHSDGNTYLEWYLQKSHESPRLLIYKVSNRFSGSGSGSDFTLTVNSVEPEDVGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2029)
VL	DIVLTQSPDLSVTPGDRVSLSCRASQSIHSDGNTYLEWYLQKSHESPRLLIYKVSNRFSGSGSGSDFTLTVNSVEPEDVGVYCFQGSHTVPLTFGAGTKLEIK (SEQ ID NO: 2030)
VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSNLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNRATGIPARFSGSGSGTDYTLTISISLEPEDFAVYFCHQWSSYPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2031)
VL	DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVSNLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNLATGIPARFSGSGSGTDYTLTISISLEPEDFAVYFCHQWSSYPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2032)
VL	DIVLTQSPGTLSPGKVTLSLRASSVSNLYWYQQKPGQAPRLLIYSTSNLATGIPDRFSGSGSGTDYTLTISRLEPEDFAVYFCHQWSSYPPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2034)
VL	DIVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQTIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2035)
VL	DIVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSSQTIHSDGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2036)
VL	DIVMTQTPLSPVTLGQPASISCRSSQTIHSDGNTYLEWYLQKPGQPPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDLGVYCFQGSHTVPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 2037)

Следует обратить внимание на то, что:

(i) последовательности, представленные в группе В, группе Р, группе Q и группе V и обозначенные "ТЦ" и "ЛЦ", являются аминокислотными последовательностями тяжелой цепи и легкой цепи; все другие последовательности, представленные в табл. 7, являются последовательностями варибельной области тяжелой цепи и варибельной области легкой цепи;

(ii) последовательность, представленная в группе D, является слитым белком, включающим полипептид В7-DC и полипептид иммуноглобулина; и

(iii) в группе I последняя последовательность является последовательностью биспецифичного антитела (БсАт).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает CDR последовательность, показанную в табл. 8, комбинацию VL CDR последовательностей (VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3), выбранную из группы, состоящей из тех комбинаций, показанных в одной строке табл. 8, комбинацию VH CDR последовательностей (VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3), выбранную из группы, состоящей из тех комбинаций, показанных в табл. 8, или комбинацию VL CDR и VH CDR последовательностей (VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3), выбранную из группы, состоящей из тех комбинаций, показанных в табл. 8. CDR области были определены согласно определению AbM, как описано в таблице определения CDR на веб-сайте группы биоинформатики Andrew C.R. Martin, в UCL.

Таблица 8

CDR последовательности антител и активируемых антител, которые связывают PD-1

Название Ант	VH			VL		
	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
M13	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNAH (658)	EDYGTSPFVY (664)	RASESVDNYGIS FMN (669)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
M19	GYTFTDYMD (654)	YIYPKNGGSS (659)	KVVATDY (665)	KSSQSLLYSSNQ KNYL (670)	WASIRES (679)	QQCDSYPWT (684)
M3	GFTFSNYAMS (655)	YISNGGGDTH (660)	ENYGTSPFVY (666)	RASESVDNYGIS FMN (669)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
M5	GFSFSSYDMS (656)	TISGGGRYTY (661)	NYYGFDY (667)	KASQDVGTAVA (671)	WASTRHT (680)	QQYSSYPWT (685)
M14	GFTFSSYGMS (657)	TISGGGRDIY (662)	LYLGFY (668)	LASQTIGTWLA (672)	AATSLAD (681)	QQLYSIPWT (686)
A	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNAH (658)	EDYGTSPFVY (664)			
Ab	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNAH (658)	EDYGTSPFVY (664)			
Ae	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNTH (663)	EDYGTSPFVY (664)			
Af	GFTFSGYAMS (653)	YISNSGGNTH (663)	EDYGTSPFVY (664)			
Ba	GYTFTDYMD (654)	YIYPKNGGSS (659)	KVVATDY (665)			
Bb	GYTFTDYMD (654)	YIYPKNGGSS (659)	KVVATDY (665)			
c	GFTFSNYAMS (655)	YISNGGGDTH (660)	ENYGTSPFVY (666)			
Ca	GFTFSNYAMS (655)	AYISNQGGDTH (2041)	ENYGTSPFVY (666)			
D	GFSFSSYDMS (656)	TISGGGRYTY (661)	NYYGFDY (667)			
1.0				RASESVDNYGIS FMN (673)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
1.1				RASESVDNYGIS FMN (673)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
1.2				RASESVDQYGIS FMN (674)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
1.4				RASESVDSYGIS FMN (675)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
1.5				RASESVDAYGIS FMN (676)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
1.6				RASESVDNYGIS FMN (673)	AASDQGS (682)	QQSKDVPWT (683)
c1 1.7				RASESVDAYGIS FMN (676)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
1.9				RASESVDAY (676)GISFMN	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
1.10				RASESVDAYGIS FMN (676)	AASNQGS (678)	QQSKDVPWT (683)
2				KSSQSLLYSSNQ KNYLA (677)	WASIRES (679)	QQSDSYPWT (687)
4				KASQDVGTAVA (671)	WASTRHT (680)	QQYSSYPWT (685)

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает или получено из антитела, которое произведено, секретировано или иным образом продуцировано гибридомой, такой как, например, гибридома(ы), раскрытая в патенте США 8,927,697 и публикациях заявок на патент США US 2011-0171215 и US 2015-0152180, и депонированная в Европейской коллекции клеточных культур (ECACC) под регистрационным номером 08090902; 08090903; и 08090901.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает или получено из антитела, которое произведено, секретировано или иным образом продуцировано гибридомой, такой как, например, гибридома(ы), раскрытая в публикации заявки на патент США US 2014-0335093, и депонированная в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) под депозитарным номером 1-4122.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает или получено из антитела, которое произведено, секретировано или иным образом продуцировано гибридомой, такой как, например, гибридома(ы), раскрытая в номере публикации PCT WO 2015/058573 или WO 2014/206107, и депонированная в Китайской коллекции культур Комитета Центра общей микробиологии под регистрационным номером 8351.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 включает или получено из антитела, которое произведено, секретировано или иным образом продуцировано гибридомой, такой как, например, гибридома(ы), раскрытая в публикации заявки на патент США US2011177088, и депонированная в Национальной коллекции культур микроорганизмов (CNCM) под депозитарным номером 1-3745.







Таблица 9  
Дополнительные CDR последовательности для антител и  
активируемых антител, которые связывают PD-1

Группа А					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
NYGMH (688)	VIWYDGSNKYYAD SVKG (694)	NDDY (700)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQRSNWPLT (710)
NYGFH (689)	VIWYDGSKKYYAD SVKG (695)	GDDY (701)	RASQSVSSYLA (704)	DTSNRAT (707)	QQRSNWPLT (710)
NYGMH (688)	LIWYDGSNKYYAD SVKG (696)	NVDH (702)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQSSNWPRP (711)
NSGMH (690)	VIWYDGSKRYAD SVKG (697)	NDDY (700)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQSSNWPRP (711)
RSSFVWG (691)	SIYYSGSTYYNPS LKS (698)	DYDILTGDDEDY (703)	RASQGISSWLA (705)	AASNLRN (708)	QQYYSYPRP (712)
SYGFH (692)	VIWYDGSKKYYAD SVKG (695)	GDDY (701)	RASQSVSSYLA (704)	DASNRAT (706)	QQRSNWPLT (710)
RSSYVWG (693)	SIFYSGETYFNPS LKS (699)	DYDILTGDDEDY (703)	RASQGISSWLA (705)	AASSLQS (709)	QQYYSYPRP (712)
Группа В					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SYLY (713)	GVNPSNGGTNFS EKFKS (715)	RDSNYDGGFDY (717)	RASKSVSTSGFS YLH (719)	LASNLES (721)	QHSWELPLT (723)
NYMY (714)	GINPSNGGTNFN EKFKN (716)	RDYRFDMGFDY (718)	RASKGVSTSGYS YLH (720)	LASYLES (722)	QHSRDLPLT (724)
AASGTFSSYAMS (627)	TITGGGRNTYYP DSVKG (817)	QGYDGYTFAY (823)	RASEVDNSGIS FMN (830)	AASNPGS (836)	QQSKEVPWT (840)
AASGTFSSFGMS (811)	TISGGGNTYYP DSVK (818)	IYDVAWFAY (824)	RSSQTIVHSDGN TYLE (831)	AASNQGS (678)	FQGSHPYPT (841)
KSGSYFTDYALH (812)	VISTHYGDTVYN QRFKG (1832)	EGYGSIFYFDQ (825)	RASEVDSYGN FMN (832)	KVSNRFS (837)	QQNNEVPLT (842)
KASGYAFTSYNIY (813)	YIDLNGDTSYN EKF (819)	EGRLSFDY (826)	RSSQSIQSNGN TYLE (833)	LASNLDN (838)	FQGSHPYPT (843)
AASGTFNSYDMS (814)	YISGGGNTYYP DTL (820)	ISLTGIFYDY (827)	RSSQTIVHGNGN TYLE (834)	SASTLAS (839)	QQFGTNSVENP (844)
AASGTFNSYGMS (815)	TISGGGNTYYP DSVQG (821)	GNVYVMDY (828)	QASENIYSSLA (835)		
KSGSYIFTDYVMH (816)	VISTYYSNINYN QRFKG (822)	EGFGRPYWYFD V (829)			
Группа С					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)

GYSITSDYAWN (845)	YINYSGSTSYNP SLKS (847)	WIGSSAWYFDV (849)	RSQNIIVHSNGN TYLE (851)	KVSNRFF (853)	FQGSHPFFT (855)
GYTFTTYLY (846)	GINPSNGGTNFN EKFK (848)	RDYRYDRGFDY (850)	RASKSVSTSGFN YIH (852)	LASNLES (721)	QHSRELPLT (856)
Группа E					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SYGIS (857)	WISAYNGNTNYA QKLQG (861)	DADYSSGSGY (865)	SGDALPKQYAY (869)	KDTERFS (872)	QSADNSITYRV (876)
SYYIH (858)	IINPRGATISYA QKFG (862)	AGIYGFDFDY (866)	TGTSNDVGGYNY VS (870)	DVTNRFS (873)	SSYTIVTNFEVL (877)
SGAYYWS (859)	YIYNGNTYYNP SLRS (863)	ASDYVWGGYRY MDAFDI (867)	SGSNSNIGSNSV N (871)	GNNQRFS (874)	AAWDDSLNGPV (878)
SSYWMS (860)	AISGSGSTYYA DSVKG (864)	ENWGSYFDL (868)	RASQGISSWLA (705)	KASTLES (875)	QQSYSTPWT (879)
Группа F					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SSWIH (880)	YIYPSTGFTEYN QKFKD (881)	WRDSSGYHAMD Y (882)	RASQSVSTSGYS YMH (883)	FGSNLES (884)	QHSWEIPYT (885)
Группа L					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GFTFSSYDYMH (886)	VIWYSGSNTYYN DSLKS (887)	AYFGVDV (888)	RASQGIGNTLA (889)	RASQGIGNTLA (889)	QQYDHPVLT (891)
Группа G					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GFSLTSYGVH (892)	VIWAGGSTNYNS ALMS (895)	GFSLTSYGVH (896)	KASQSVSNDVA (898)	YAFHRFT (900)	
VIWAGGSTNYNPS LKS (893)	ARAYGNWYIDV (896)	ARAYGNWYID V (897)	K3SESVSNDVA (899)		
VIYAGGSTNYNPS LKS (894)	HQAYSSPYT (895)				
Группа H					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
DYEMH (901)	VIESETGGTAYN QKFKG (902)	EGITTVATYY WYFDV (903)	RSSQSIVHSNGN TYLE (904)	KVSNRFS (905)	FQGSHPVLT (906)
Группа M					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GYTFTTYPIE (907)	NFHPYNDDTKYN EKFK (908)		RASSSVISSYLH (909)	STSNLAS (910)	QQYNGYPLT (911)
					QQYNSYPLT (912)



Група N					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
SYLY (713)	GVNPSNGGTNFS EKFK (1596)	RDSNYDGGFDY (717)	RASKSVSTSGFS YLH (719)	LASNLES (721)	QHSWELPLT (723)
Група P					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GYTFTTY (854)	YPGTGG (1597)	WTTGTGAY (1598)	QSLLDSGNQKN F (1599)	WAS (1600)	DYSYPY (1601)
TYWMH (1602)	NIYPGTGGSNFD EKFK (1603)		KSSQSLLDSGNQ KNFL (1833)	WASTRES (1604)	QNDYSYPY (1605)
GYTFTTYWMH (1606)					
Група Q					
VH			VL		
CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
GFTFSSYT (1607)	ISDTGGNT (1608)	AKDQGGSYPPY FHY (1609)	QSISSY (1610)	AAS (1611)	QSYSTPPIT (1612)
GFTVSNNY (1613)	IYSGGFT (1614)	ARYYYDTSDYW TFDY (1615)	QSVSSN (1616)	GAS (1617)	QYNNWPLT (1618)
GFTFSSYG (1619)	IWYDGSNI (1620)	ARPGHWNYFFE Y (1621)	QSINNY (1622)	TAS (1623)	QSYSTPPLT (1624)
GFTFRNYD (1625)	IGSAGDT (1626)	TRDIHCSSTRC YGMV (1627)	QSISSY (1628)	AAS (1611)	QSYSTPPIT (1612)
GFKFSNEW (1629)	IKSKTDGGTT (1630)	TTDQDFWSGYY TGADYYGMDV (1631)		AAS (1611)	QSYSTPPIT (1612)
GGSLNGYY (1632)	IDHSGST (1633)	AREGLLPFDY (1634)	QSVSSY (1635)	AAS (1611)	HQYATSPWT (1636)
DDSSSTTY (1637)	MSYNGNN (1637)	ARHLGYNGN WY PFDF (1638)	QSVSSY (1639)	GAS (1640)	QYSSPWT (1641)
GFTFDDYA (1642)	INWSGNNI (1643)	TKDISITGTL AFDV (1644)	QGISNW (1645)	SAS (1646)	QAHSPPLT (1647)
GFTFSSYG (1619)	IWSDGDSE (1648)	ARDRLEDI (1649)	QGIRND (1650)	AAS (1611)	LHNSYPLT (1651)
GFTFSNFG (1652)	ISGGGRDT (1653)	VKWGNIYFDY (1654)	LSINTF (1655)	AAS (1611)	QSSNTPFT (1656)
GFTFDDYG (1657)	ISWNDGKT (1658)	ARDWQYLIERY FDY (1659)	QSVSSY (1639)	GAS (1640)	QYSSPWT (1641)
GFTFDDYG (1657)	IGWTGGRS (1660)	ARDRQWLQWY FDY (1661)	QSISSY (1610)	AAS (1611)	QSYSTPPIT (1612)
GFTFDDYG (1657)	ISWNDGKT (1658)	ARDWQYLIDRY FDF (1662)			
GFTFDDYA (1642)	IGWSSGSI (1663)	AKAYTFMITLY FDY (1664)			
GFTFDDYD (1665)	SGWNRGSL (1666)	AKGFVVSAAY FDY (1667)			
GVTFRNFA (1668)	IIPFFSAA (1669)	AREGERGHTY FDY (1670)			
GFTFDDYA (1642)	INWNRGRT (1671)	AKAEQWLDEGY FDY (1672)			
GFTFEDYA (1673)	ISDSGGST (1674)	AKDQGGSYPPY FHY (1609)			
GYTFTSFY (1675)	IGWSNVKI (1676)	VKAYTSMITLY FDY (1677)			

GGSISSYH (1678)	INPSDGST (1679)	ARRVAGDIFDI (1680)			
GFTFEDYG (1681)	IYYIGST (1682)	ARVPVGTGAS DV (1683)			
GFTFSAYA (1684)	ISWTGGNT (1685)	TRDRQWLQWY FDY (1686)			
GFALHDYA (1687)	ISYGGSDK (1688)	AKSAHWNFFFD Y (1689)			
GDSISSTAYH (1687)	ISWNSGVI (1717)	AKGSGSYVSW FDP (1718)			
GFTFSTYA (1690)	ITYNGNT (1691)	ARHLGYNSDFF FFDF (1692)			
	IGGSGDST (1693)	VKVRNYDGSFD I (1694)			
Группа R					
VH			VL		
SYGMS (1751)	TMSGGRDIYYP DSMKG (1752)	QYYDDWFAY (1753)	RASQISNNLH (1754)	YASQISIS (1755)	QQNSWPLT (1756)
TYGVH (1757)	VIWGGSTDYNA AFIS (1758)	EKSIVYGNVGA MDY (1759)	KASQSVSDVA (1760)	YAFNRYT (1761)	QQDYRSPWT (1762)
SYGMS (1751)	TISGGGRDIYYP DSVKG (1763)	QYYDDWFAY (1753)	RASQISNDLH (1764)	YVSQISIS (1765)	QQSDSWPLT (1766)
SDYAWN (1767)	YISYSGYTSYNP SLKS (1768)	SLDYDYGTMDY (1769)	RANSSVSMH (1770)	AISNLAF (1771)	QQWSSRPPT (1772)
SYDMS (1773)	TISGGGSYTYQ DSVKG (1774)	PYGPYFDY (1775)	HASQINVLWS (1776)	ASNLHT (1777)	QQGQSYPWT (1778)
SDYAWN (1767)	YISYSGYTSYNP SLKS (1768)	SLDYDYGTMDY (1769)	RANSSVSMH (1770)	AISNLAF (1771)	QQWSSRPPT (1779)
YYDMS (1780)	TISGGGRNTYFI DSVKG (1781)	PYEGAVDF (1782)	KASQVDNAVA (1783)	WASTRHH (1784)	QQYSTFPYT (1785)
SYGMS (1751)	TISGGGRDTYYL DSVKG (1786)	QYYDDWFAY (1753)	RASQSLNNLH (1787)	YASQISIS (1755)	QQNSWPLT (1756)
NNWIG (1788)	DFYPPGGYTNYN EKFKG (1789)	GYGTNYWYFDV (1790)	KASQSVSNDVA (1791)	YAFTRYI (1792)	QQDYSSPYT (1793)
NFGMN (1794)	WISGYTREPTYA ADFKG (1795)	DVFDY (1796)	RASEVDNYGYS FMN (1797)	RASNLES (1798)	QQSNADPT (1799)
Группа T					
VH			VL		
GYTFTSYMY (1800)	GVNPSNGGTNFN EKFKS (1801)	RDYRYDMGFDY (1802)	RASKGVSTSGYS YLH (1803)	LASYLE (1804)	QHSRELPLT (1805)
GYTFTNYMY (1806)	GINPSNGGTNYN EKFKN (890)	RDYRYDMGFDY (1802)			
Группа U					
VH			VL		
G (T/R/I) (F/L) (S/E/ T/P/R) (T/S/ H/Q/R/ W) (F/Y/ Q) (1881)	W (I/V) S A (Y/H) N G N T (K/N) Y A Q K L Q G (1882)	(Q/-) GY (G/D) (N/V) Y (L/S) (Y/W) (D/A) (Y/V) (1883)	S G D A L (P/T/S) (M/T/E/K) Q Y (G/A) Y (1884)		Q Q (N/S/W) (Y/K/I) (N/E/S) (S/V/D/T) P (Y/W) T (1885)

(T/R/W/Q/H/S) (Y/F/ Q) G (M/I) (1886)	(T/A) I S G (S/G) G (S/G) . (S/D/N) Y T Y Y (A/P/S) D S V (K/Q) G (1887)	D (A/V/S) (D/E) Y (S/G/R) (S/L/ T) (1888), при условии, что если A в положении 2, то в положении 5 не D или S			
		GYALDY (2038)			
GYIFSSY (1889)	FPGSGS (1890)	GYGNLYFDV (1891)	KASQSVSDDVA (1760)	YAFKRYI (1892)	QQNYNSPYT (1893)
SYWIG (1894)	KIFPGSGSADYN ENFKG (1895)	DSEYSSGSGY (1896)	SGDALTTQYAY (1897)	KDTERPS (872)	QSADNSITYRV (876)
		QRDSAWFAS (2039)	RASESVDNSGIS FMS (1898)	ATSKLAS (1899)	QQWISDPWT (1900)
			SGDALSEQYAY (1901)	TASNQGS (1902)	QQSKEVPWT (840)
			SGDALPKQYAY (869)		
			SGDALPMQYGY (1903)		
			RTSSSVNYMH (1904)		
GYRFTWY (1905)	SAYNGN (1906)	DVDYSSGSGY (1907)			
WYGIS (1908)	WISAYNGNTNYA QKLQG (861)	DAEYSLGSGY (1909)			
GYRFSTF (1910)	SAHNGN (1911)	DAEYSGSGY (1912)			
TFGIS (1913)	WVSAHNGNTNYA QKLQG (1914)	DADYGGSGY (1915)			
GYRFETY (1916)	SYSGR (1917)	DVDYGTGSGY (1918)			
GYRFRQY (1919)	YISYSGRTSYNP SLTS (1920)	DVDYGGSGY (1921)			
QYGIS (1922)	SGGGSD (1923)	DAEYSGSGY (1912)			
GYRFTRY (1924)	TISGGGSDTYYP DSVQG (1925)	GYALDY (2038)			
RYGIS (1926)		QGYDVYSWFAY (1927)			
GYRFFHY (1928)					
HYGIS (1929)					
GYRFTRQ (1930)					
RQGIS (1931)					
GHSITSDY (1932)					
SDYAWN (1767)					
GFTFSTF (1933)					
TFGMS (1934)					
Группа V					
VH			VL		
GWSLTGPG (1935)	IYGDGST (1936)	AYEYAMDW (1937)	WSVSTSGKSY (1938)	LLS (1939)	YHIRDLT (2040)

Группа W					
VH			VL		
GYTFTSYWIN (1940)	YPGSSL (1941)	LSTGT Fay (1942)	KSSQSLW DSTNQ KNFLT (1943)	WTSTRES (1944)	QNDYFYPLT (1945)
GYTFTSY (1946)	NIYPGSSLTNYN EKFKN (1947)	LTTGT Fay (1948)	KSSQSLW DSTGNQ KNFLT (1949)	WTSYRES (1950)	QNDYFYPHY (1951)
SYWIN (1952)	YPGSSI (1953)	LLTGT Fay (1954)	KSSQSLD SGNQ KNFLT (1955)	WTS (T/Y) RES (1956)	QNDYSYPLT (1957)
	NIYPGSSITNYN EKFKN (1958)	L (L/S) TGTF Y (1959)	KSSQSL (W/L) D S (G/T) NQKNFL T (1960)		QNDY (F/S) YP (L/H) T (1961)
	WPGSSL (1962)				
	NIWPGSSLTNYN EKFKN (1963)				
	NIYPGSSSTNYN EKFKN (1964)				
	NI (Y/W) PGSS (L/I/S) TNYNE KFKN (1965)				
Группа X					
VH			VL		
GLTFSSSG (1966)	IWYDGSKR (1706)	ATNNDY (1967)	RASQSVSSYLA (704)	TASNRAT (1968)	QQYSNWPRT (1969)

AB в активируемых антителах согласно настоящему описанию специфично связывают PD-1 мишень, такую как, например, PD-1 млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления такие AB связывают PD-1 млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления такие AB связывают PD-1 человека. В некоторых вариантах осуществления такие AB связывают PD-1 не относящегося к человеку примата. Также в настоящее описание включены AB, которые связываются с тем же эпитопом PD-1, что и антитело согласно настоящему описанию и/или активированное активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении. Также в настоящее описание включены AB, которые конкурируют с антителом против PD-1 и/или активированным активируемым антителом против PD-1, описанным в настоящем изобретении, за связывание с PD-1 мишенью, например, человеческим PD-1. Также в настоящее описание включены AB, которые перекрестно конкурируют с антителом против PD-1 и/или активированным активируемым антителом против PD-1, описанным в настоящем изобретении, за связывание с PD-1 мишенью, например, человеческим PD-1.

Активируемые антитела против PD-1, предложенные в настоящем изобретении, включают маскирующую часть. В некоторых вариантах осуществления маскирующая часть является аминокислотной последовательностью, которая соединена или иным образом прикреплена к антителу против PD-1 и помещена в конструкцию активируемого антитела против PD-1 таким образом, что маскирующая часть уменьшает способность антитела против PD-1 специфично связывать PD-1. Подходящие маскирующие части определяют с применением любого из множества известных способов. Например, пептидные маскирующие части определяют с применением способов, описанных в публикации PCT WO 2009/025846 (Daugherty et al.), содержание которой настоящим полностью включено посредством отсылки.

Активируемые антитела против PD-1, предложенные в настоящем изобретении, включают расщепляемую часть. В некоторых вариантах осуществления расщепляемая часть включает аминокислотную последовательность, которая является субстратом для протеазы, обычно внеклеточной протеазы. Подходящие субстраты определяют с применением любого из множества известных способов. Например, пептидные субстраты определяют с применением способов, описанных в патенте США 7,666,817 (Daugherty et al.); в патенте США 8,563,269 (Stagliano et al.); и в публикации PCT WO 2014/026136 (La Porte et al.), содержание каждого из которых настоящим полностью включены посредством отсылки. См. также Boulware et al., "Evolutionary optimization of peptide substrates for proteases that exhibit rapid hydrolysis kinetics", *Biotechnol Bioeng.* 106.3 (2010): 339-46.

Примерные субстраты включают, без ограничения перечисленными, субстраты, расщепляемые одной или более следующими ферментами или протеазами, перечисленными в табл. 3.

Таблица 3

## Примерные протеазы и/или ферменты

ADAMS, ADAMTS, например,	Цистеиновые протеиназы, например,	Сериновые протеазы, например,
ADAM8	Крузипаин	активированный протеин С
ADAM9	Легумаин	Катепсин А
ADAM10	Отубаин-2	Катепсин G
ADAM12		Химаза
ADAM15	KLK протеазы, например,	протеазные факторы свертывания крови
ADAM17/TACE	KLK4	(например, FVIIa, FIXa, FXa, FXIa,

ADAMDEC1	KLK5	FXIIa)
ADAMTS1	KLK6	Эластаза
ADAMTS4	KLK7	Гранзим В
ADAMTS5	KLK8	Гуанидинобензоатаза
	KLK10	HtrA1
Аспарат-протеазы, например, BACE	KLK11	Эластаза нейтрофилов человека
Ренин	KLK13	Лактоферрин
	KLK14	Марапсин
		NS3/4A
Аспарагиновые катепсины, например, Катепсин D	Металлопротеиназы, например, Меприн	FACE4
Катепсин E	Неприлизин	Плазмин
	PSMA	PSA
Каспазы, например, Каспаза 1	BMP-1	tPA
Каспаза 2		Тромбин
Каспаза 3	MMP протеазы, например, MMP1	Триптаза
Каспаза 4	MMP2	uPA
Каспаза 5	MMP3	Трансмембранные сериновые протеазы II типа (TSP), например,
Каспаза 6	MMP7	DESC1
Каспаза 7	MMP8	DRP-4
Каспаза 8	MMP9	FAP
Каспаза 9	MMP10	Гепсин
Каспаза 10	MMP11	Матриптаза-2
Каспаза 14	MMP12	MT-SF1/Матриптаза
	MMP13	TMPRSS2
Цистеиновые катепсины, например, Катепсин В	MMP14	TMPRSS3
Катепсин С	MMP15	TMPRSS4
Катепсин К	MMP16	
Катепсин L	MMP17	
Катепсин S	MMP19	
Катепсин V/L2	MMP20	
Катепсин X/Z/P	MMP23	
	MMP24	
	MMP26	
	MMP27	

Активируемые антитела против PD-1, описанные в настоящем изобретении, позволяют преодолеть ограничение терапии с применением антител, в особенности терапевтических средств на основе антител, которые, как известно, токсичны, по меньшей мере в некоторой степени, *in vivo*. Опосредованная мишенью токсичность составляет главное ограничение для разработки терапевтических антител. Активируемые антитела против PD-1, предложенные в настоящем изобретении, созданы с целью решения проблемы токсичности, связанной с ингибированием мишени в нормальных тканях обычными терапевтическими антителами. Такие активируемые антитела против PD-1 остаются маскированными до протеолитической активации в очаге заболевания. Начиная с применения антитела против PD-1 в качестве исходного терапевтического антитела, активируемые антитела против PD-1 согласно изобретению были созданы путем соединения антитела с ингибирующей маской через линкер, который включает субстрат протеазы.

При модификации АВ с применением ММ и в присутствии мишени, специфичное связывание АВ с его мишенью уменьшено или ингибировано по сравнению со специфичным связыванием АВ, не модифицированного ММ, или со специфичным связыванием исходного АВ с мишенью.

$K_d$  АВ, модифицированного ММ, в отношении мишени по меньшей мере в 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2,500, 5000, 10000, 50000, 100000, 500000, 1000000, 5000000, 10000000, 50000000 раз или больше, или в пределах 5-10, 10-100, 10-1000, 10-10000, 10-100000, 10-1000000, 10-10000000, 100-1000, 100-10000, 100-100000, 100-1000000, 100-10000000, 1000-10000, 1000-100000, 1000-1000000, 1000-10000000, 10000-100000, 10000-1000000, 10000-10000000, 100000-10000000 или 100000-10000000 раз больше, чем  $K_d$  АВ, не модифицированного ММ, или исходного АВ в отношении мишени. С другой стороны аффинность связывания АВ, модифицированного ММ, в отношении мишени по меньшей мере в 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2,500, 5000, 10000, 50000, 100000, 500000, 1000000, 5000000, 10000000, 50000000 раз или больше, или в пределах 5-10, 10-100, 10-1000, 10-10000, 10-100000, 10-1000000, 10-10000000, 100-1000, 100-10000, 100-100000, 100-1000000, 100-10000000, 1000-10000, 1000-100000, 1000-1000000, 1000-10000000, 10000-100000, 10000-1000000, 10000-10000000, 100000-10000000 или 100000-10000000 раз ниже, чем аффинность связывания АВ, не модифицированного ММ, или исходного АВ в отношении мишени.

В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации ( $K_d$ ) ММ в отношении АВ обычно

больше, чем  $K_d$  АВ в отношении мишени.  $K_d$  ММ в отношении АВ может быть по меньшей мере 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2,500, 5000, 10000, 100000, 1000000 или даже в 10000000 раз больше, чем  $K_d$  АВ в отношении мишени. С другой стороны аффинность связывания ММ в отношении АВ обычно ниже, чем аффинность связывания АВ в отношении мишени. Аффинность связывания ММ в отношении АВ может быть по меньшей мере 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2,500, 5000, 10000, 100000, 1000000 или даже в 10000000 раз ниже, чем аффинность связывания АВ в отношении мишени.

В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации ( $K_d$ ) ММ в отношении АВ приблизительно равна  $K_d$  АВ в отношении мишени. В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации ( $K_d$ ) ММ в отношении АВ не превышает константу диссоциации АВ в отношении мишени.

В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации ( $K_d$ ) ММ в отношении АВ меньше, чем константа диссоциации АВ в отношении мишени.

В некоторых вариантах осуществления константа диссоциации ( $K_d$ ) ММ в отношении АВ больше, чем константа диссоциации АВ в отношении мишени.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая не превышает  $K_d$  для связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая не меньше  $K_d$  для связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая приблизительно равна  $K_d$  для связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая меньше  $K_d$  для связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая больше, чем  $K_d$  для связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая не больше чем в 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 или 1000 раз больше, чем  $K_d$  для связывания АВ с мишенью. В некоторых вариантах осуществления ММ имеет  $K_d$  для связывания с АВ, которая в пределах 1-5, 2-5, 2-10, 5-10, 5-20, 5-50, 5-100, 10-100, 10-1000, 20-100, 20-1000 или 100-1000 раз больше  $K_d$  для связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая меньше аффинности связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая не превышает аффинность связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая приблизительно равна аффинности связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая не меньше аффинности связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая превышает аффинность связывания АВ с мишенью.

В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая в 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 или 1000 раз меньше, чем аффинность связывания АВ с мишенью. В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая в пределах 1-5, 2-5, 2-10, 5-10, 5-20, 5-50, 5-100, 10-100, 10-1000, 20-100, 20-1000 или 100-1000 раз меньше, чем аффинность связывания АВ с мишенью. В некоторых вариантах осуществления ММ обладает аффинностью связывания с АВ, которая в 2-20 раз меньше, чем аффинность связывания АВ с мишенью. В некоторых вариантах осуществления ММ нековалентно связана с АВ и при эквимольной концентрации к АВ не ингибирует связывание АВ с мишенью.

В случае, когда АВ модифицировано ММ и находится в присутствии мишени, специфичное связывание АВ с его мишенью уменьшено или ингибировано по сравнению со специфичным связыванием АВ, не модифицированного ММ, или со специфичным связыванием исходного АВ с мишенью. При сравнении со связыванием АВ, не модифицированного ММ, или со связыванием исходного АВ с мишенью, способность АВ связывать мишень при его модификации ММ может быть уменьшена по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% и даже 100% в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 12, 28, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 ч или 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 или 180 дней, или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или больше, при измерении в анализе *in vivo* или *in vitro*.

ММ ингибирует связывание АВ с мишенью. ММ связывает антигенсвязывающий домен АВ и ингибирует связывание АВ с мишенью. ММ может стерически ингибировать связывание АВ с мишенью. ММ может аллостерически ингибировать связывание АВ с его мишенью. В таких вариантах осуществления, когда АВ модифицировано или соединено с ММ и находится в присутствии мишени, связывание АВ с мишенью отсутствует или по существу отсутствует, или сохраняется не больше 0,001, 0,01, 0,1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 или 50% связывания АВ с мишенью по сравнению со связыванием АВ, не модифицированного ММ, связыванием исходного АВ или АВ, не соединенного с ММ, с ми-

шенью, в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 12, 28, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 ч или 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 или 180 дней, или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или больше, при измерении в анализе *in vivo* или *in vitro*.

В случае, когда АВ соединено с или модифицировано ММ, ММ "маскирует" или уменьшает, или иным образом ингибирует специфичное связывание АВ с мишенью. В случае, когда АВ соединено с или модифицировано ММ, такое связывание или модификация могут вызывать структурное изменение, которое уменьшает или ингибирует способность АВ специфично связывать свою мишень.

АВ, соединенное с или модифицированное ММ, может быть представлено следующими формулами (в порядке от N-(амино) концевой области к С-(карбокси) концевой области:

(ММ)-(АВ)  
(АВ)-(ММ)  
(ММ)-L-(АВ)  
(АВ)-L-(ММ)

где ММ - маскирующая часть,

АВ - антитело или соответствующий фрагмент антитела, и

L - линкер.

Во многих вариантах осуществления может потребоваться ввести в состав один или более линкеров, например, гибких линкеров, для обеспечения гибкости.

В некоторых вариантах осуществления ММ не является природным партнером АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не обладает или по существу не обладает гомологией с каким-либо природным партнером АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80% подобна какому-либо природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80% идентична какому-либо природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 25% идентична какому-либо природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 50% идентична какому-либо природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 20% идентична какому-либо природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 10% идентична какому-либо природному партнеру АВ по связыванию.

В некоторых вариантах осуществления активируемые антитела включают АВ, которое модифицировано ММ, и также включают одну или более расщепляемых частей (СМ). Такие активируемые антитела демонстрируют активируемое/переключаемое связывание с мишенью АВ. Активируемые антитела обычно включают антитело или фрагмент антитела (АВ), модифицированные или соединенные с маскирующей частью (ММ) и модифицируемой или расщепляемой частью (СМ). В некоторых вариантах осуществления СМ содержит аминокислотную последовательность, которая служит в качестве субстрата для по меньшей мере одной протеазы.

Элементы активируемых антител расположены так, чтобы ММ и СМ были помещены таким образом, что в расщепленном (или относительно активном) состоянии, и в присутствии мишени, АВ связывало мишень, тогда как в том случае, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном (или относительно неактивном) состоянии в присутствии мишени, специфичное связывание АВ со своей мишенью было уменьшено или ингибировано. Специфичное связывание АВ со своей мишенью может быть уменьшено в результате ингибирования или маскирования ММ способности АВ специфично связывать свою мишень.

$K_d$  АВ, модифицированного ММ и СМ, в отношении мишени по меньшей мере в

5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000,  
2,500, 5000, 10000, 50000, 100000, 500000, 1000000, 5000000,  
10000000, 50000000 раз или больше, или в пределах 5-10, 10-100,  
10-1000, 10-10000, 10-100000, 10-1000000, 10-10000000, 100-1000,  
100-10000, 100-100000, 100-1000000, 100-10000000, 1000-10000,  
1000-100000, 1000-1000000, 1000-10000000, 10000-100000, 10000-  
1000000, 10000-10000000, 100000-10000000 или 100000-10000000

раз больше, чем  $K_d$  АВ, не модифицированного ММ и СМ, или исходного АВ в отношении мишени.

С другой стороны аффинность связывания АВ, модифицированного ММ и СМ, в отношении мишени по меньшей мере в

5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2,500, 5000, 10000, 50000, 100000, 500000, 1000000, 5000000, 10000000, 50000000 раз или больше, или в пределах 5-10, 10-100, 10-1000, 10-10000, 10-100000, 10-1000000, 10-10000000, 100-1000, 100-10000, 100-100000, 100-1000000, 100-10000000, 1000-10000, 1000-100000, 1000-1000000, 1000-10000000, 10000-100000, 10000-1000000, 10000-10000000 или 100000-10000000

раз ниже, чем аффинность связывания АВ, не модифицированного ММ и СМ, или исходного АВ в отношении мишени.

В случае, когда АВ модифицировано ММ и СМ и находится в присутствии мишени, но не в присутствии модифицирующего средства (например, по меньшей мере одной протеазы), специфичное связывание АВ со своей мишенью уменьшено или ингибировано по сравнению со специфичным связыванием АВ, не модифицированного ММ и СМ, или исходного АВ с мишенью. При сравнении со связыванием исходного АВ или связыванием АВ, не модифицированного ММ и СМ, со своей мишенью, способность АВ связывать мишень при его модификации ММ и СМ может быть уменьшена по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и даже 100% в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 12, 28, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 ч или 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 или 180 дней, или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев или больше, при измерении в анализе *in vivo* или *in vitro*.

При использовании в настоящем описании термин расщепленное состояние относится к состоянию активируемых антител после модификации СМ по меньшей мере одной протеазой. Термин нерасщепленное состояние при использовании в настоящем описании относится к состоянию активируемых антител в отсутствие расщепления СМ протеазой. Как обсуждали выше, термин "активируемые антитела" используется в настоящем изобретении для обозначения активируемого антитела как в его нерасщепленном (нативном) состоянии, так и в его расщепленном состоянии. Среднему специалисту в данной области будет очевидно, что в некоторых вариантах осуществления расщепленное активируемое антитело может не иметь ММ вследствие расщепления СМ протеазой, что приводит к высвобождению, по меньшей мере, ММ (например, когда ММ не соединена с активируемыми антителами ковалентной связью (например, дисульфидной связью между остатками цистеина)).

Под активируемым или переключаемым подразумевается, что активируемое антитело демонстрирует первый уровень связывания с мишенью, когда активируемое антитело находится в ингибированном, маскированном или нерасщепленном состоянии (то есть в первой конформации), и второй уровень связывания с мишенью в неингибированном, немаскированном и/или расщепленном состоянии (то есть во второй конформации), где второй уровень связывания с мишенью превышает первый уровень связывания. Как правило, доступ мишени к АВ активируемого антитела является более высоким в присутствии расщепляющего средства, способного расщеплять СМ, чем при отсутствии такого расщепляющего средства. Таким образом, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, связывание АВ с мишенью ингибировано и АВ может быть маскировано от связывания с мишенью (то есть первая конформация является такой, что АВ не может связываться с мишенью), а в расщепленном состоянии АВ не ингибировано или не маскировано от связывания с мишенью.

СМ и АВ активируемых антител выбраны таким образом, что АВ представляет собой связывающую часть для данной мишени, и СМ представляет собой субстрат для протеазы. В некоторых вариантах осуществления протеаза колокализована с мишенью в области, подвергаемой лечению, или области, подвергаемой диагностике, у субъекта. При использовании в настоящем описании колокализованный относится к присутствию в том же участке или в относительной близости. В некоторых вариантах осуществления протеаза расщепляет СМ с получением активированного антитела, которое связывается с мишенью, расположенной вблизи от участка расщепления. Активируемые антитела, раскрытые в настоящем изобретении, находят конкретное применение, когда, например, протеаза, способная расщеплять участок в СМ, присутствует на относительно более высоких уровнях в, или в непосредственной близости от, содержащей мишень ткани в области, подвергаемой лечению, или в области, подвергаемой диагностике, чем в ткани в областях, не подвергаемых лечению (например, в здоровой ткани). В некоторых вариантах осуществления СМ, согласно настоящему описанию, также расщепляет одна или более других протеаз. В некоторых вариантах осуществления это - одна или более других протеаз, которые колокализованы с мишенью, и которые вызывают расщепление СМ *in vivo*.

В некоторых вариантах осуществления активируемые антитела обеспечивают снижение токсичности и/или нежелательных побочных действий, которые в ином случае могут возникать в результате связывания АВ в участках, в которых лечение не предусмотрено, если АВ не было бы маскировано или иным образом не было бы ингибировано связывание АВ с мишенью.

Как правило, активируемое антитело можно создать путем выбора представляющего интерес АВ и конструирования остальной части активируемого антитела таким образом, что при конформационном ограничении ММ обеспечивала маскирование АВ или уменьшение связывания АВ со своей мишенью.



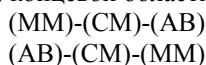
Критерии структурного конструирования можно учитывать при получении указанного функционального признака.

Предложены активируемые антитела, демонстрирующие переключаемый фенотип требуемого динамического диапазона для связывания мишени в ингибированной и неингибированной конформации. Динамический диапазон обычно относится к отношению: (а) максимального обнаруживаемого уровня параметра в первом наборе условий к (б) минимальному обнаруживаемому уровню такого параметра во втором наборе условий. Например, в отношении активируемого антитела динамический диапазон относится к отношению: (а) максимального обнаруживаемого уровня белка-мишени, связывающегося с активируемым антителом в присутствии по меньшей мере одной протеазы, способной расщеплять СМ активируемых антител, к (б) минимальному обнаруживаемому уровню белка-мишени, связывающегося с активируемым антителом в отсутствие протеазы.

Динамический диапазон активируемого антитела можно вычислить как отношение константы диссоциации при обработке расщепляющим активируемое антитело средством (например, ферментом) к константе диссоциации при обработке расщепляющего активируемые антитела средством. Чем больше динамический диапазон активируемого антитела, тем лучше переключаемый фенотип активируемого антитела. Активируемые антитела, обладающие относительно более высокими значениями динамического диапазона (например, больше 1), демонстрируют более предпочтительные переключаемые фенотипы, при этом связывание белка-мишени активируемыми антителами проходит в более высокой степени (например, проходит с преобладанием) в присутствии расщепляющего средства (например, фермента), способного расщеплять СМ активируемых антител, чем в отсутствие расщепляющего средства.

Активируемые антитела могут быть предоставлены в различных структурных конфигурациях. Примеры формул активируемых антител приведены ниже. В частности, предполагается, что порядок расположения АВ, ММ и СМ, от N-конца к С-концу, в активируемом антителе может быть изменен на обратный. Кроме того, также предполагается, что СМ и ММ могут перекрываться по аминокислотной последовательности, например, СМ может содержаться внутри ММ.

Например, активируемые антитела могут быть представлены следующей формулой (в порядке от amino-(N) концевой области к карбокси-(C) концевой области):



где ММ - маскирующая часть,  
СМ - расщепляемая часть, и  
АВ - антитело или его фрагмент.

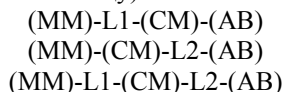
Следует отметить, что, хотя ММ и СМ указаны в представленных выше формулах как отдельные компоненты, предполагается, во всех примерах осуществления изобретения (включая формулы), раскрытых в настоящем изобретении, что аминокислотные последовательности ММ и СМ могут перекрываться, например, СМ может полностью или частично содержаться внутри ММ. Кроме того, вышеуказанные формулы могут содержать дополнительные аминокислотные последовательности, которые могут быть расположены на N-конце или С-конце относительно элементов активируемых антител.

В некоторых вариантах осуществления ММ не является природным партнером АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не содержит или по существу не содержит гомологии с каким-либо природным партнером АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 или 80% подобна любому природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75% или 80% идентична любому природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 50% идентична любому природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 25% идентична любому природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 20% идентична любому природному партнеру АВ по связыванию. В некоторых вариантах осуществления ММ не больше чем на 10% идентична любому природному партнеру АВ по связыванию.

Во многих вариантах осуществления изобретения может потребоваться введение в конструкцию активируемого антитела одного или более линкеров, например, гибких линкеров, для обеспечения гибкости в одном или более соединениях ММ-СМ и/или СМ-АВ. Например, АВ, ММ и/или СМ могут не содержать нужное число остатков (например, Gly, Ser, Asp, Asn, в особенности Gly и Ser, в частности Gly) для обеспечения требуемой гибкости. Таким образом, переключаемый фенотип таких конструкций активируемых антител может быть улучшен при введении одной или более аминокислот с получением гибкого линкера. Кроме того, как будет описано ниже, в тех случаях, когда активируемое антитело представлено в виде конформационно ограниченной конструкции, гибкий линкер может быть функционально встроен для облегчения образования и сохранения циклической структуры в нерасщепленном активируемом антителе.

Например, в некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает одну из следующих формул (где формула ниже представляет аминокислотную последовательность в направлении

от N- к C-концу или в направлении от C- к N-концу):



где MM, CM и AB имеют определенное выше значение;

L1 и L2 независимо и необязательно присутствуют или отсутствуют и являются одинаковыми или разными гибкими линкерами, которые включают по меньшей мере 1 гибкую аминокислоту (например, Gly).

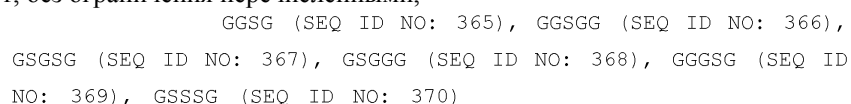
Кроме того, в приведенных выше формулах предусмотрены дополнительные аминокислотные последовательности, которые могут быть помещены на N-конце или C-конце относительно элементов активируемых антител. Примеры включают, без ограничения перечисленными, направленно взаимодействующие части (например, лиганд рецептора клетки, присутствующей в целевой ткани) и части, увеличивающие полупериод существования в сыворотке (например, полипептиды, которые связывают сывороточные белки, такие как иммуноглобулин (например, IgG) или сывороточный альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин (HSA))).

CM специфично расщепляется по меньшей мере одной протеазой со скоростью приблизительно  $0,001\text{-}1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  или по меньшей мере 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2,5, 5, 7,5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200, 250, 500, 750, 1000, 1250 или  $1500 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . В некоторых вариантах осуществления CM специфично расщепляется со скоростью приблизительно  $100000 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ . В некоторых вариантах осуществления CM специфично расщепляется со скоростью от приблизительно  $1 \times 10^2$  до приблизительно  $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  (т.е. от приблизительно  $1 \times 10^2$  до приблизительно  $1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ).

Для специфичного расщепления ферментом, осуществляется контакт между ферментом и CM. Когда активируемое антитело, включающее AB, соединенное с MM и CM, находится в присутствии мишени и достаточной ферментативной активности, CM может быть расщеплена. Достаточная ферментативная активность может относиться к способности фермента осуществлять контакт с CM и вызывать расщепление. Можно легко предположить, что фермент может находиться вблизи от CM, но не сможет вызывать расщепление из-за других клеточных факторов или белковой модификации фермента.

Линкеры, подходящие для применения в композициях, описанных в настоящем изобретении, обычно являются такими линкерами, которые обеспечивают гибкость модифицированного AB или активируемых антител, что облегчает ингибирование связывания AB с мишенью. Такие линкеры обычно называют гибкими линкерами. Подходящие линкеры могут быть с легкостью выбраны и могут иметь любую подходящую длину, такую как от 1 аминокислоты (например, Gly) до 20 аминокислот, от 2 аминокислот до 15 аминокислот, от 3 аминокислот до 12 аминокислот, в том числе от 4 аминокислот до 10 аминокислот, от 5 аминокислот до 9 аминокислот, от 6 аминокислот до 8 аминокислот или от 7 аминокислот до 8 аминокислот, и могут иметь длину 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 аминокислот.

Примеры гибких линкеров включают глициновые полимеры (G)<sub>n</sub>, глицин-сериновые полимеры (включая, например, (GS)<sub>n</sub>, (GSGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 363) и (GGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 364), где n является целым числом, равным по меньшей мере единице), глицин-аланиновые полимеры, аланин-сериновые полимеры и другие гибкие линкеры, известные в уровне техники. Глициновые и глицин-сериновые полимеры являются относительно не структурированными и поэтому могут служить в качестве нейтрального соединения между компонентами. Глицину доступно значительно большее фи-пси пространство, чем даже аланину, при этом он гораздо меньше ограничен по сравнению с остатками, имеющими более длинные боковые цепи (см. Scheraga, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992)). Примеры гибких линкеров включают, без ограничения перечисленными,



и т.п. Среднему специалисту должно быть понятно, что конструкция активируемых антител может включать линкеры, которые являются полностью или частично гибкими, такими, что линкер может включать гибкий линкер, а также одну или более частей, которые сообщают структуре меньшую гибкость с получением требуемой структуры активируемых антител.

В настоящем описании также предложены композиции и способы, которые включают активируемое антитело против PD-1, которое включает антитело или фрагмент антитела (AB), которые специфично связывают PD-1, где AB соединено с маскирующей частью (MM), которая уменьшает способность AB связывать свою мишень. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело против PD-1 дополнительно включает расщепляемую часть (CM), которая является субстратом для протеазы. Композиции и способы, предложенные в настоящем изобретении, обеспечивают присоединение одного или более средств к одному или более остаткам цистеина в AB без нарушения активности (например, маскирующей, активирующей или связывающей активности) активируемого антитела против PD-1. В некоторых вариантах осуществления композиции и способы, предложенные в настоящем изобретении, обеспе-

чивают присоединение одного или более средств к одному или более остаткам цистеина в АВ без уменьшения или какого-либо иного нарушения одной или более дисульфидных связей в ММ. Композиции и способы, предложенные в настоящем изобретении, обеспечивают получение активируемого антитела против PD-1, которое конъюгировано с одним или более средствами, например любыми терапевтическими, диагностическими и/или профилактическими средствами, например, в некоторых вариантах осуществления средство(а) не конъюгировано с ММ активируемого антитела против PD-1. Композиции и способы, предложенные в настоящем изобретении, обеспечивают получение конъюгированных активируемых антител против PD-1, в которых ММ сохраняет способность эффективно маскировать АВ активируемого антитела в нерасщепленном состоянии. Композиции и способы, предложенные в настоящем изобретении, обеспечивают получение конъюгированных активируемых антител против PD-1, в которых активируемое антитело все еще активируется, т.е. расщепляется, в присутствии протеазы, которая может расщеплять СМ.

Активируемые антитела против PD-1 имеют по меньшей мере одну точку конъюгирования для средства, но в способах и композициях, предложенных в настоящем изобретении, не все возможные точки конъюгирования доступны для конъюгирования средства. В некоторых вариантах осуществления одной или более точками конъюгирования являются атомы серы, входящие в дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления одной или более точками конъюгирования являются атомы серы, входящие в межцепочечные дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления одной или более точками конъюгирования являются атомы серы, входящие в межцепочечные сульфидные связи, но не атомы серы, входящие в межцепочечные дисульфидные связи. В некоторых вариантах осуществления одной или более точками конъюгирования являются атомы серы цистеина или других аминокислотных остатков, содержащих атом серы. Такие остатки могут присутствовать в структуре природного антитела или могут быть включены в антитело с помощью сайт-направленного мутагенеза, химического превращения или ошибочного включения не природных аминокислот.

Также предложены способы получения конъюгата активируемого антитела против PD-1, содержащего одну или более межцепочечных дисульфидных связей в АВ и одну или более межцепочечных дисульфидных связей в ММ, и лекарственного средства, способного реагировать со свободными тиолами. Способ обычно включает частичное восстановление межцепочечных дисульфидных связей в активируемом антителе восстановителем, таким как, например, ТКЭФ; и конъюгирование лекарственного средства, способного реагировать со свободными тиолами в частично восстановленном активируемом антителе. При использовании в настоящем описании термин частичное восстановление относится к случаям, когда активируемое антитело против PD-1 подвергают контакту с восстановителем, и при этом восстанавливаются не все дисульфидные связи, например, не все возможные участки конъюгирования. В некоторых вариантах осуществления восстанавливаются меньше 99, 98, 97, 96, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 или меньше 5% всех возможных участков конъюгирования.

В других вариантах осуществления предложен способ восстановления и конъюгирования средства, например лекарственного средства, с активируемым антителом против PD-1, что обеспечивает селективность при введении средства. Способ обычно включает частичное восстановление активируемого антитела против PD-1 восстановителем таким образом, что любые участки конъюгирования в маскирующей части или другой, не являющейся АВ, части активируемого антитела не восстанавливаются, и конъюгирование средства с межцепочечными тиолами в АВ. Участок(ки) конъюгирования выбирают так, чтобы обеспечить требуемое введение средства с конъюгированием в нужном участке. Восстановителем является, например, ТКЭФ. Условия реакции восстановления, такие как, например, отношение восстановителя к активируемому антителу, продолжительность инкубирования, температура во время инкубирования, pH восстанавливающего реакционного раствора и т.д., определяют при определении условий, которые обеспечивают получение конъюгированного активируемого антитела, в котором ММ сохраняет способность эффективно маскировать АВ активируемого антитела в нерасщепленном состоянии. Отношение восстановителя к активируемому антителу против PD-1 изменяется в зависимости от активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления отношение восстановителя к активируемому антителу против PD-1 будет находиться в диапазоне от приблизительно 20:1 до 1:1, от приблизительно 10:1 до 1:1, от приблизительно 9:1 до 1:1, от приблизительно 8:1 до 1:1, от приблизительно 7:1 до 1:1, от приблизительно 6:1 до 1:1, от приблизительно 5:1 до 1:1, от приблизительно 4:1 до 1:1, от приблизительно 3:1 до 1:1, от приблизительно 2:1 до 1:1, от приблизительно 20:1 до 1:1,5, от приблизительно 10:1 до 1:1,5, от приблизительно 9:1 до 1:1,5, от приблизительно 8:1 до 1:1,5, от приблизительно 7:1 до 1:1,5, от приблизительно 6:1 до 1:1,5, от приблизительно 5:1 до 1:1,5, от приблизительно 4:1 до 1:1,5, от приблизительно 3:1 до 1:1,5, от приблизительно 2:1 до 1:1,5, от приблизительно 1.5:1 до 1:1,5 или от приблизительно 1:1 до 1:1,5. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 5:1 до 1:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 5:1 до 1.5:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 4:1 до 1:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 4:1 до 1,5:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 8:1 до приблизительно 1:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от

приблизительно 2,5:1 до 1:1.

В некоторых вариантах осуществления предложен способ восстановления межцепочечных дисульфидных связей в АВ активируемого антитела против PD-1 и конъюгирования средства, например тиолсодержащего средства, такого как лекарственное средство, с полученными в результате межцепочечными тиолами для селективного расположения средства (средств) на АВ. Способ обычно включает частичное восстановление АВ восстановителем, с образованием по меньшей мере двух межцепочечных тиолов, без образования всех возможных межцепочечных тиолов в активируемом антителе; и конъюгирование средства с межцепочечными тиолами частично восстановленного АВ. Например, АВ активируемого антитела частично восстанавливают в течение приблизительно 1 ч при температуре приблизительно 37°C, при необходимом отношении восстановителя:активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления отношение восстановителя к активируемому антителу находится в диапазоне от приблизительно 20:1 до 1:1, от приблизительно 10:1 до 1:1, от приблизительно 9:1 до 1:1, от приблизительно 8:1 до 1:1, от приблизительно 7:1 до 1:1, от приблизительно 6:1 до 1:1, от приблизительно 5:1 до 1:1, от приблизительно 4:1 до 1:1, от приблизительно 3:1 до 1:1, от приблизительно 2:1 до 1:1, от приблизительно 20:1 до 1:1,5, от приблизительно 10:1 до 1:1,5, от приблизительно 9:1 до 1:1,5, от приблизительно 8:1 до 1:1,5, от приблизительно 7:1 до 1:1,5, от приблизительно 6:1 до 1:1,5, от приблизительно 5:1 до 1:1,5, от приблизительно 4:1 до 1:1,5, от приблизительно 3:1 до 1:1,5, от приблизительно 2:1 до 1:1,5, от приблизительно 1,5:1 до 1:1,5, или от приблизительно 1:1 до 1:1,5. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 5:1 до 1:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 5:1 до 1,5:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 4:1 до 1:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 4:1 до 1,5:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 8:1 до приблизительно 1:1. В некоторых вариантах осуществления отношение находится в диапазоне от приблизительно 2,5:1 до 1:1.

Тиолсодержащим реагентом может быть, например, цистеин или N-ацетилцистеин. Восстановителем может быть, например, ТКЭФ. В некоторых вариантах осуществления восстановленное активируемое антитело перед конъюгированием может быть очищено с помощью, например, колоночной хроматографии, диализа или диафильтрации. В альтернативе восстановленное антитело не очищают после частичного восстановления и перед конъюгированием.

В изобретении также предложены частично восстановленные активируемые антитела против PD-1, где по меньшей мере одна межцепочечная дисульфидная связь в активируемом антителе была восстановлена восстановителем без нарушения межцепочечных дисульфидных связей в активируемом антителе, где активируемое антитело включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (АВ), которые специфично связываются с PD-1, маскирующую часть (ММ), которая ингибирует связывание АВ активируемого антитела в нерасщепленном состоянии с PD-1 мишенью, и расщепляемую часть (СМ), соединенную с АВ, где СМ является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы. В некоторых вариантах осуществления ММ соединена с АВ через СМ. В некоторых вариантах осуществления одна или более межцепочечных дисульфидных связей активируемого антитела не нарушены восстановителем. В некоторых вариантах осуществления одна или более межцепочечных дисульфидных связей ММ в активируемом антителе не нарушены восстановителем. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ. В некоторых вариантах осуществления восстановителем является ТКЭФ.

В настоящем описании также предложены частично восстановленные активируемые антитела, где по меньшей мере одна межцепочечная дисульфидная связь в активируемом антителе была восстановлена восстановителем без нарушения межцепочечных дисульфидных связей в активируемом антителе, где активируемое антитело включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (АВ), которые специфично связываются с мишенью, например PD-1, маскирующую часть (ММ), которая ингибирует связывание АВ активируемого антитела в нерасщепленном состоянии с мишенью, и расщепляемую часть (СМ), соединенную с АВ, где СМ является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для по меньшей мере одной протеазы. В некоторых вариантах осуществления ММ соединена с АВ через СМ. В некоторых вариантах осуществления одна или более межцепочечных дисульфидных связей активируемого антитела не нарушены восстановителем. В некоторых вариантах осуществления одна или более межцепочечных дисульфидных связей ММ в активируемом антителе не нарушены восстановителем. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ. В некоторых вариантах осуществления восстановителем является ТКЭФ.

В некоторых вариантах осуществления активируемые антитела, описанные в настоящем изобретении, также включают средство, конъюгированное с активируемым антителом. В некоторых вариантах осуществления конъюгированное средство является терапевтическим средством, таким как противовоспалительное средство. В таких вариантах осуществления средство конъюгировано с углеводной группой активируемого антитела, например, в некоторых вариантах осуществления, когда углеводная группа

расположена за пределами антигенсвязывающей области антитела или антигенсвязывающего фрагмента в активируемом антителе. В некоторых вариантах осуществления средство конъюгировано с сульфгидрильной группой антитела или антигенсвязывающего фрагмента в активируемом антителе.

В некоторых вариантах осуществления средство является детектируемой частью, такой как, например, метка или другой маркер. Например, средство является или включает меченую радиоактивным изотопом аминокислоту, одну или более биотинильных групп, которые можно детектировать с помощью меченого авидина (например, стрептавидина, содержащего флуоресцентный маркер или ферментативную активность, которая может быть обнаружена с помощью оптических или калориметрических методов), один или более радиоизотопов или радионуклидов, одну или более флуоресцентных меток, одну или более ферментных меток и/или одно или более хемилюминесцентных веществ. В некоторых вариантах осуществления детектируемые молекулы присоединены с помощью спейсерных молекул.

Средним специалистам в данной области известно множество возможных молекул, которые можно присоединить к полученным антителам согласно настоящему описанию. См., например, публикацию "Conjugate Vaccines", Contributions to Microbiology and Immunology, J. M. Cruse and R. E. Lewis, Jr (eds), Carger Press, New York, (1989), все содержание которой включено в настоящую заявку посредством отсылки.

Присоединение может быть выполнено с помощью любой химической реакции, которая свяжет две молекулы, при условии, что антитело и другая молекула сохранят свою соответствующую активность. Такое связывание может включать множество химических механизмов, например, ковалентное связывание, аффинное связывание, интеркаляцию, координационное связывание и комплексообразование. В некоторых вариантах осуществления связывание, все же, является ковалентным связыванием. Ковалентное связывание может быть выполнено либо посредством прямой конденсации существующих боковых цепей, либо путем включения внешних мостиковых молекул. Множество бивалентных или поливалентных связывающих агентов могут применяться при соединении белковых молекул, таких как антитела настоящего описания, с другими молекулами. Например, репрезентативные связывающие агенты могут включать такие органические соединения, как сложные тиоэфиры, цианамиды, сукцинимидные сложные эфиры, дизоцианаты, глутаральдегид, диазобензолы и гексаметилендиамины. Данный перечень не следует считать исчерпывающим перечнем различных классов связывающих агентов, известных в уровне техники, а скорее примерным перечнем наиболее часто применяемых связывающих агентов. См. Killen and Lindstrom, *Jour. Immun.* 133:1335-2549 (1984); Jansen et al., *Immunological Reviews* 62:185-216 (1982); и Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987).

В некоторых вариантах осуществления, в дополнение к композициям и способам, предложенным в настоящем изобретении, конъюгированное активируемое антитело может быть также модифицировано для сайт-специфического конъюгирования посредством введения или иного включения модифицированных аминокислотных последовательностей в последовательность активируемого антитела. Такие модифицированные аминокислотные последовательности создают с возможностью контролируемого помещения и/или дозированного введения конъюгируемого средства в конъюгированное активируемое антитело. Например, активируемое антитело может быть сконструировано с включением цистеиновых замен в положениях на легких и тяжелых цепях, которые обеспечивают введение реакционноспособных тиоловых групп и не только не оказывают отрицательного влияния на фолдинг и сборку белка, но и не изменяют связывание антигена. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело может быть сконструировано с включением или иным введением одного или более не природных аминокислотных остатков в активируемое антитело с получением подходящих участков для конъюгирования. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело может быть сконструировано с включением или иным введением ферментативно активируемых пептидных последовательностей в последовательность активируемого антитела.

Подходящие линкеры описаны в литературе. См., например, публикацию Ramakrishnan, S. et al., *Cancer Res.* 44:201-208 (1984), в которой описано применение MBS (м-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидного сложного эфира). См. также патент США 5,030,719, в котором описано применение галогенированного производного ацетилгидразида, соединенного с антителом через олигопептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления подходящие линкеры включают: (i) EDC (гидрохлорид (1-этил-3-(3-диметиламино-пропил)карбодиимида); (ii) SMPT (4-сукцинимидилоксикарбонил-альфа-метил-альфа-(2-пиридил-дитио)-толуол (Pierce Chem. Co., кат. (21558G)); (iii) SPDP (сукцинимидил-6-[3-(2-пиридилдитио)пропионамидо]гексаноат (Pierce Chem. Co., кат. 21651G)); (iv) сульфо-LC-SPDP (сульфосукцинимидил-6-[3-(2-пиридилдитио)пропионамид]гексаноат (Pierce Chem. Co., кат. 2165-G)); и (v) сульфо-NHS (N-гидроксисульфо-сукцинимид: Pierce Chem. Co., кат. 24510), конъюгированный с EDC. Дополнительные линкеры включают, без ограничения перечисленными, SMCC, сульфо-SMCC, SPDB или сульфо-SPDB.

Линкеры, описанные выше, содержат компоненты, которые обладают различными характеристиками, что позволяет получать конъюгаты с различными физико-химическими свойствами. Например, сульфо-NHS сложные эфиры алкилкарбоксилатов являются более стабильными, нежели сульфо-NHS сложные эфиры ароматических карбоксилатов. Линкеры, содержащие сложные эфиры NHS, обладают

меньшей растворимостью, нежели сульфо-NHS сложные эфиры. Кроме того, SMPT линкер содержит стерически затрудненную дисульфидную связь и может образовывать конъюгаты с повышенной стабильностью. Дисульфидные связи в целом являются менее стабильными, чем другие связи, поскольку дисульфидная связь расщепляется *in vitro*, что приводит к меньшему доступному количеству конъюгата. Сульфо-NHS, в частности, может увеличивать стабильность карбодимидных сшивок. Карбодимидные сшивки (такие как EDC), в случае использования в сочетании с сульфо-NHS, образуют сложные эфиры, которые более устойчивы к гидролизу, чем реакция карбодимидного сшивания в отдельности.

В некоторых вариантах осуществления линкеры являются расщепляемыми. В некоторых вариантах осуществления линкеры являются нерасщепляемыми. В некоторых вариантах осуществления присутствуют два или более линкеров. Указанные два или более линкеров являются одинаковыми, т.е. расщепляемыми или нерасщепляемыми, или указанные два или более линкера являются разными, т.е. по меньшей мере один является расщепляемым, и по меньшей мере один является нерасщепляемым.

В настоящем описании применяется несколько способов присоединения средств к АВ: (a) присоединение к углеводным группам АВ или (b) присоединение к сульфгидрильным группам АВ, или (c) присоединение к аминогруппам АВ, или (d) присоединение к карбоксильным группам АВ. Согласно описанию, АВ могут быть ковалентно присоединены к средству через промежуточный линкер, имеющий по меньшей мере две реакционноспособные группы - одна для реакции с АВ и одна для реакции со средством. Линкер, который может включать любое совместимое органическое соединение, может быть выбран таким образом, что реакция с АВ (или средством) не оказывает негативного влияния на реактивность и селективность АВ. Кроме того, присоединение линкера к средству не может нарушать активность средства. Подходящие линкеры для реакции с окисленными антителами или окисленными фрагментами антител включают такие линкеры, которые содержат амин, выбранный из группы, состоящей из групп первичного амина, вторичного амина, гидразина, гидразида, гидроксилamina, фенилгидразина, семикарбазида и тиосемикарбазида. Такие реакционноспособные функциональные группы могут существовать как часть структуры линкера или могут быть введены при подходящей химической модификации линкеров, не содержащих такие группы.

Согласно настоящему описанию линкеры, подходящие для присоединения к восстановленным АВ, включают такие линкеры, которые имеют определенные реакционноспособные группы, способные к реакции с сульфгидрильной группой восстановленного антитела или фрагмента. Такие реакционноспособные группы включают, без ограничения перечисленными: реакционноспособные галогеналкильные группы (включая, например, галогенацетильные группы), п-меркурибензоатные группы и группы, способные к реакциям присоединения по типу реакции Михаэля (в том числе, например, малеимиды и группы такого типа, как описано в Mitra and Lawton, 1979, J. Mer. Chem. Soc. 101: 3097-3110).

Согласно настоящему описанию подходящие линкеры для присоединения ни к окисленным, ни к восстановленным АВ включают такие линкеры, которые имеют определенные функциональные группы, способные к реакции с первичными аминогруппами, присутствующими в немодифицированных остатках лизина в АВ. Такие реакционноспособные группы включают, без ограничения перечисленными, NHS карбоксильные или карбоновые сложные эфиры, сульфо-NHS карбоксильные или карбоновые сложные эфиры, 4-нитрофенил карбоксильные или карбоновые сложные эфиры, пентафторфенил карбоксильные или карбоновые сложные эфиры, ацилимидазолы, изоцианаты и изотиоцианаты.

Согласно настоящему описанию подходящие линкеры для присоединения ни к окисленным, ни к восстановленным АВ включают такие линкеры, которые имеют определенные функциональные группы, способные к реакции с карбоксильными группами, присутствующими в аспартатных или глутаматных остатках в АВ, которые были активированы подходящими реагентами. Подходящие активирующие реагенты включают EDC, с или без добавления NHS или сульфо-NHS, и другие дегидратирующие агенты, используемые для образования карбоксамидов. В таких случаях функциональные группы, присутствующие в подходящих линкерах, включают первичные и вторичные амины, гидразины, гидроксилamины, и гидразида.

Средство может быть присоединено к линкеру до или после присоединения линкера к АВ. В некоторых применениях может потребоваться сначала получить промежуточное соединение структуры АВ-линкер, где линкер не несет ассоциированное с ним средство. В зависимости от конкретного применения определенное средство может быть затем ковалентно присоединено к линкеру. В некоторых вариантах осуществления АВ сначала присоединяют к ММ, СМ и ассоциированным линкерам, а затем присоединяют к линкеру в целях конъюгирования.

Разветвленные линкеры. В определенных вариантах осуществления изобретения применяются разветвленные линкеры, которые имеют несколько сайтов для присоединения средств. В случае линкеров с множеством сайтов, ковалентное связывание с АВ позволяет получать промежуточное соединение структуры АВ-линкер, к которому можно присоединить средство по различным сайтам. Указанные сайты могут быть альдегидными или сульфгидрильными группами или любым химическим сайтом, к которому могут быть присоединены средства.

В альтернативе более высокая удельная активность (или более высокое отношение средств к АВ) может быть достигнута в результате присоединения линкера с одним сайтом к множеству сайтов АВ.

Такое множество сайтов можно ввести в АВ двумя способами. Во-первых, можно ввести несколько альдегидных групп и/или сульфгидрильных групп в одно и то же АВ. Во-вторых, можно присоединить к альдегидной или сульфгидрильной группе АВ "разветвленный линкер", имеющий множество функциональных сайтов для последующего присоединения к линкерам. Функциональные сайты разветвленного линкера или линкера с множеством сайтов могут быть альдегидными или сульфгидрильными группами или могут быть любым химическим сайтом, к которому могут быть присоединены линкеры. Еще более высокая удельная активность может быть получена при объединении двух указанных подходов, то есть присоединения линкеров с множеством сайтов к нескольким сайтам АВ.

Расщепляемые линкеры. В одном варианте осуществления согласно настоящему описанию могут применяться пептидные линкеры, подверженные расщеплению ферментами системы комплемента, такими как, без ограничения перечисленными, активатор плазминогена урокиназного типа, тканевой активатор плазминогена, трипсин, плазмин или другой фермент, обладающий протеолитической активностью. В соответствии с одним способом согласно настоящему описанию средство присоединяют посредством линкера, подверженного расщеплению комплементом. Антитело выбирают из класса, который способен активировать комплемент. Таким образом, конъюгат антитела-средства активирует каскад комплемента и высвобождает средство в целевом участке. В соответствии с другим способом согласно настоящему изобретению средство присоединяют посредством линкера, подверженного расщеплению ферментами, обладающими протеолитической активностью, такими как активатор плазминогена урокиназного типа, тканевой активатор плазминогена, плазмин или трипсин.

Неограничивающие примеры последовательностей расщепляемых линкеров представлены в табл. 5.

Таблица 5

## Примеры линкерных последовательностей для конъюгирования

Типы расщепляемых последовательностей	Аминокислотная последовательность
Последовательности, расщепляемые плазмином	
Проурокиназа	PRFKIIGG (SEQ ID NO: 587) PRFRIIGG (SEQ ID NO: 588)
TGFβ	SSRHRRALD (SEQ ID NO: 589)
Плазминоген	RKSSIIIRMRDVVL (SEQ ID NO: 590)
Стафилокиназа	SSSFDKGYKKGDDA (SEQ ID NO: 591) SSSFDKGYKRGDDA (SEQ ID NO: 592)
Последовательности, расщепляемые фактором Ха	
	IEGR (SEQ ID NO: 593) IDGR (SEQ ID NO: 594) GGSIDGR (SEQ ID NO: 595)
Последовательности, расщепляемые ММР	
Желатиназа А	PLGLWA (SEQ ID NO: 596)
Последовательности, расщепляемые коллагеназой	
Коллаген кожи теленка (α1(I) цепь)	GPQGIAGQ (SEQ ID NO: 597)
Коллаген кожи теленка (α2(I) цепь)	GPQGLLGA (SEQ ID NO: 598)
Бычий коллаген хряща (α1(II) цепь)	GIAGQ (SEQ ID NO: 599)
Коллаген печени человека (α1(III) цепь)	GPLGIAGI (SEQ ID NO: 600)
α <sub>2</sub> М человека	GPEGLRVG (SEQ ID NO: 601)
PZP человека	YGAGLGVV (SEQ ID NO: 602) AGLGVVER (SEQ ID NO: 603) AGLGISST (SEQ ID NO: 604)
α <sub>1</sub> М крысы	EPQALAMS (SEQ ID NO: 605) QALAMSAI (SEQ ID NO: 606)
α <sub>2</sub> М крысы	AAAYHLVSQ (SEQ ID NO: 607) MDAFLESS (SEQ ID NO: 608)
α <sub>1</sub> I <sub>3</sub> (2J) крысы	ESLPVVAV (SEQ ID NO: 609)
α <sub>1</sub> I <sub>3</sub> (27J) крысы	SAPAVESE (SEQ ID NO: 610)
Коллагеназа фибробластов человека	DVAQFVLT (SEQ ID NO: 611)
(автолитически расщепляемая)	VAQFVLTE (SEQ ID NO: 612) AQFVLTEG (SEQ ID NO: 613) PVQPIGPQ (SEQ ID NO: 614)

Кроме того, средства могут быть присоединены к антителу через дисульфидные связи (например,

дисульфидные связи молекулы цистеина). Поскольку многие опухоли обычно в больших количествах высвобождают глутатион (восстановитель), глутатион может восстанавливать дисульфидные связи с последующим высвобождением средства на участке доставки. В некоторых вариантах осуществления восстановитель, который может модифицировать СМ, также может модифицировать линкер конъюгированного активируемого антитела.

Спейсеры и расщепляемые элементы. В некоторых вариантах осуществления может потребоваться сконструировать линкер таким образом, чтобы оптимизировать расстояние между средством и АВ активируемого антитела. Это может быть достигнуто при помощи линкера общей структуры:



где W является  $-NH-CH_2-$  или  $-CH_2-$ ;

Q является аминокислотой, пептидом; и

n является целым числом от 0 до 20.

В некоторых вариантах осуществления линкер может включать спейсерный элемент и расщепляемый элемент. Спейсерный элемент служит для помещения расщепляемого элемента на расстоянии от ядра АВ таким образом, что расщепляемый элемент является более доступным для фермента, ответственного за расщепление. Некоторые из разветвленных линкеров, описанных выше, могут служить в качестве спейсерных элементов.

В процессе всего обсуждения следует понимать, что присоединение линкера к средству (или спейсерного элемента к расщепляемому элементу или расщепляемого элемента к средству) не должно быть обязательно конкретным способом присоединения или реакцией. Любая реакция, дающая продукт с подходящей стабильностью и биологической совместимостью, является приемлемой.

Сывороточный комплемент и выбор линкеров. Согласно одному из способов настоящего изобретения в случаях, когда необходимо высвобождение средства, применяют АВ, которое является антителом класса, который способен активировать комплемент. Полученный в результате конъюгат сохраняет способность связывать антиген и активировать каскад комплемента. Таким образом, согласно данному варианту осуществления настоящего изобретения средство присоединяют к одному концу расщепляемого линкера или расщепляемого элемента, а другой конец линкерной группы присоединяют к определенному участку на АВ. Например, если средство имеет гидроксильную группу или аминогруппу, оно может быть присоединено к С-концу пептида, аминокислоте или другому надлежащим образом выбранному линкеру через сложноэфирную или амидную связь, соответственно. Например, такие средства могут быть присоединены к линкерному пептиду при помощи карбодиимидной реакции. Если средство содержит функциональные группы, которые могут помешать присоединению к линкеру, такие мешающие функциональные группы можно блокировать перед присоединением и деблокировать сразу после получения конъюгата продукта или промежуточного соединения.

Противоположный или N-конец линкера затем используют либо непосредственно, либо после дополнительной модификации для связывания с АВ, которое способно активировать комплемент.

Линкеры (или спейсерные элементы линкеров) могут иметь любую требуемую длину, при этом один конец линкера может быть ковалентно присоединен к определенным сайтам на АВ активируемого антитела. Другой конец линкера или спейсерного элемента может быть присоединен к аминокислотному или пептидному линкеру.

Таким образом, когда такие конъюгаты связываются с антигеном в присутствии комплемента, амидная или сложноэфирная связь, через которую средство присоединено к линкеру, расщепляется, что приводит к высвобождению средства в активной форме. Указанные конъюгаты при введении субъекту обеспечивают доставку и высвобождение средства в целевом участке и особенно эффективны для *in vivo* доставки фармацевтических средств, антибиотиков, антиметаболитов, антипролиферативных средств и т.п., как представлено в табл. 5, без ограничения ими.

Линкеры для высвобождения без активации комплемента. В еще одном применении направленной доставки предпочтительно высвобождение средства без активации комплемента, поскольку активация каскада комплемента, в конечном счете, может вызывать лизис клетки-мишени. Поэтому указанный подход можно применять в том случае, когда доставку и высвобождение средства нужно выполнить без лизиса клетки-мишени. Такая цель ставится при необходимости доставки в клетки-мишени клеточных медиаторов, таких как гормоны, ферменты, кортикостероиды, нейротрансмиттеры, гены или ферменты. Такие конъюгаты могут быть получены при присоединении средства к АВ, которое не способно активировать комплемент, через линкер, который умеренно подвергается расщеплению сывороточными протеазами. При введении такого конъюгата индивиду быстро образуются комплексы антигена-антитела, при этом расщепление средства проходит медленно, в результате чего соединение высвобождается в целевом участке.

Биохимические кросс-линкеры. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело может быть конъюгировано с одним или более терапевтическими средствами при помощи определенных биохимических кросс-линкеров. Перекрестносшивающие реагенты образуют молекулярные мостики, которые связывают функциональные группы двух разных молекул. Для поэтапного связывания двух различных белков могут применяться гетеро-бифункциональные кросс-линкеры, которые исключают обра-



зование нежелательного гомополимера.

Также могут применяться пептидиловые линкеры, расщепляемые лизосомальными протеазами, например, Val-Cit, Val-Ala или другие дипептиды. Кроме того, могут применяться кислото-лабильные линкеры, расщепляемые в среде с низким pH в лизосоме, например, бис-сиалиловый эфир. Другие подходящие линкеры включают катепсин-лабильные субстраты, в особенности такие, которые показывают оптимальную функцию при кислотном pH.

Примеры гетеро-бифункциональных кросс-линкеров представлены в табл. 6.

Таблица 6  
Примеры гетеро-бифункциональных кросс-линкеров

<u>ГЕТЕРО-БИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КРОСС-ЛИНКЕРЫ</u>			
Линкер	Взаимодействие	Преимущества и применения	Длина спейсерной ножки после перекрестного сшивания (ангстремы)
SMPT	Первичные амины	Более высокая стабильность	11,2 Å
	Сульфгидрилы		
SPDP	Первичные амины	Тиолирование	6,8 Å
	Сульфгидрилы	Возможность расщепления при перекрестном сшивании	
LC-SPDP	Первичные амины	Удлиненная спейсерная ножка	15,6 Å
	Сульфгидрилы		
Сульфо-LC-SPDP	Первичные амины	Удлиненная спейсерная ножка	15,6 Å
	Сульфгидрилы	Водорастворимый	
SMCC	Первичные амины	Устойчивая реакционноспособная малеимидная группа	11,6 Å
	Сульфгидрилы	Конъюгирование антитела с ферментом	
		Конъюгирование гаптена с белком-носителем	
Сульфо-SMCC	Первичные амины	Устойчивая реакционноспособная малеимидная группа	11,6 Å
	Сульфгидрилы	Водорастворимый	
		Конъюгирование антитела с ферментом	
MBS	Первичные амины	Конъюгирование антитела с ферментом	9,9 Å
	Сульфгидрилы	Конъюгирование гаптена с белком-носителем	
Сульфо-MBS	Первичные амины	Водорастворимый	9,9 Å
	Сульфгидрилы		
SIAB	Первичные амины	Конъюгирование антитела с ферментом	10,6 Å
	Сульфгидрилы		
Сульфо-SIAB	Первичные амины	Водорастворимый	10,6 Å
	Сульфгидрилы		
SMPB	Первичные амины	Удлиненная спейсерная ножка	14,5 Å
	Сульфгидрилы	Конъюгирование антитела с ферментом	
Сульфо-SMPB	Первичные амины	Удлиненная спейсерная ножка	14,5 Å
	Сульфгидрилы	Водорастворимый	
EDE/Сульфо-NHS	Первичные амины	Конъюгирование гаптена с носителем	0
	Карбоксильные группы		
ABN	Углеводы	Реагирует с сахарными группами	11,9 Å
	Неселективное		

Нерасщепляемые линкеры или прямое присоединение. В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему описанию может быть создан такой конъюгат, который обеспечивает доставку сред-

ства к мишени, но высвобождение не происходит. Это может быть достигнуто при присоединении средства к АВ напрямую или через нерасщепляемый линкер.

Указанные нерасщепляемые линкеры могут включать аминокислоты, пептиды, D-аминокислоты или другие органические соединения, которые могут быть модифицированы с включением функциональных групп, которые могут затем использоваться в присоединении к АВ с помощью способов, описанных в настоящем изобретении. Общая формула такого органического линкера может быть следующей:



где W является -NH-CH<sub>2</sub>- или -CH<sub>2</sub>-;

Q является аминокислотой, пептидом; и

n является целым числом от 0 до 20.

Нерасщепляемые конъюгаты. В некоторых вариантах осуществления соединение может быть присоединено к таким АВ, которые не активируют комплемент. При использовании таких АВ, которые не способны к активации комплемента, указанное присоединение может быть выполнено при использовании линкеров, которые подвергаются расщеплению активированным комплементом, или при использовании линкеров, которые не подвергаются расщеплению активированным комплементом.

Антитела, раскрытые в настоящем изобретении, могут быть также изготовлены в форме иммунолипосом. Липосомы, содержащие антитело, изготавливаются способами, известными в уровне техники, как описано в Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); и патентах США 4,485,045 и 4,544,545. Липосомы с увеличенным периодом циркуляции раскрыты в патенте США 5,013,556.

Особо полезные липосомы могут быть получены способом обращенно-фазового выпаривания с липидной композицией, включающей фосфатидилхолин, холестерин и ПЭГ-derivатизированный фосфатидилэтаноламин (ПЭГ-ФЭ). Липосомы пропускают через фильтры с порами определенного размера, с получением липосом требуемого диаметра. Fab'-фрагменты антитела согласно настоящему описанию могут быть конъюгированы с липосомами, как описано в Martin et al., J. Biol. Chem., 257: 286-288 (1982), посредством реакции дисульфидного обмена.

Определения.

Если не указано иное, научные и технические термины, используемые в настоящем описании, должны иметь значения, под которыми их обычно понимают специалисты в данной области техники. Термин объект или объекты относится к одному или более таким объектам. Например, соединение относится к одному или более соединениям. Таким образом, термины "один или более" и "по меньшей мере один" могут использоваться попеременно. Кроме того, если из контекста не следует иное, термины в единственном числе включают множества, а множественные термины включают единственное число. Как правило, номенклатура, используемая в отношении, и технологии, культивирования клеток и тканей, молекулярной биологии, а также химии белков и олиго- или полинуклеотидов и гибридизации, описанные в настоящем изобретении, хорошо известны и широко используются в данной области. Стандартные методы используются для рекомбинантной ДНК, синтеза олигонуклеотидов и культивирования тканей, а также трансформации (например, электропорация, липофекция). Ферментативные реакции и методики очистки проводят в соответствии с инструкциями производителя или как обычно проводят в данной области, или как описано в настоящем изобретении. Вышеуказанные способы и методики обычно проводят в соответствии со стандартными способами, хорошо известными в уровне техники и описанными в различных общих и более конкретных источниках, которые цитируются и обсуждаются в тексте настоящего описания. См., Например, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)). Номенклатура, используемая в отношении, и лабораторные процедуры и методики, аналитической химии, химии органического синтеза, а также фармакологической и фармацевтической химии хорошо известна и широко используется в данной области. Стандартные методики используются для химического синтеза, химического анализа, получения, изготовления лекарственных форм и доставки лекарственных средств, а также для лечения пациентов.

Следует понимать, что при использовании в соответствии с настоящим описанием, следующие термины, если не указано иное, должны иметь следующие значения:

При использовании в настоящем описании термин "антитело" относится к молекулам иммуноглобулинов и антигенсвязывающим частям молекул иммуноглобулинов (Ig), т.е. молекулам, которые содержат антигенсвязывающий участок, который специфично связывает антиген (иммунореагирует с антигеном). Под "специфично связывает" или "иммунореагирует с", или "иммуноспецифично связывает" понимается, что антитело реагирует с одной или более антигенными детерминантами требуемого антигена и не реагирует с другими полипептидами или связывается с намного более низкой аффинностью ( $K_d > 10^6$ ). Антитела включают, без ограничения перечисленными, поликлональное, моноклональное, химерное, доменное антитело, одноцепочечное, Fab и F(ab')<sub>2</sub>-фрагменты, scFv и Fab экспрессионную библиотеку.

Основная структурная единица антитела, как известно, включает тетрамер. Каждый тетрамер состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, причем каждая пара содержит одну "легкую" (приблизительно 25 кДа) и одну "тяжелую" цепь (приблизительно 50-70 кДа). N-концевая часть каждой цепи

включает вариабельную область из приблизительно 100-110 или более аминокислот, главным образом ответственных за распознавание антигена. С-концевая часть каждой цепи определяет константную область, главным образом ответственную за эффекторную функцию. Как правило, молекулы антитела, полученные у людей, относятся к любому из классов IgG, IgM, IgA, IgE и IgD, которые отличаются друг от друга свойствами тяжелой цепи, присутствующей в молекуле. Некоторые классы также имеют субклассы, такие как IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> и другие. Кроме того, у людей легкая цепь может быть каппа цепью или лямбда цепью.

Термин "моноклональное антитело" (мАт) или "композиция моноклонального антитела" при использовании в настоящем описании относится к совокупности молекул антитела, которые содержат только один молекулярный тип молекулы антитела, состоящей из уникального продукта гена легкой цепи и уникального продукта гена тяжелой цепи. В частности, определяющие комплементарность области (CDR-области) моноклонального антитела идентичны во всех молекулах данной совокупности. МАт содержат антигенсвязывающий участок, способный к иммунореакции с конкретным эпитопом антигена, который отличается уникальной аффинностью связывания к нему.

Термин "антигенсвязывающий участок" или "связывающая часть" относится к части молекулы иммуноглобулина, которая участвует в связывании антигена. Антигенсвязывающий участок сформирован аминокислотными остатками N-концевых вариабельных ("V") областей тяжелой ("H") и легкой ("L") цепи. Три высокопеременных фрагмента в V-областях тяжелой и легкой цепей, называемые "гипервариабельными областями", распределены между более консервативными фланкирующими фрагментами, известными как "каркасные области" или "FR-области". Таким образом, термин "FR" относится к аминокислотным последовательностям, которые обычно присутствуют между и прилегают к гипервариабельным областям в иммуноглобулинах. В молекуле антитела три гипервариабельных области легкой цепи и три гипервариабельных области тяжелой цепи расположены друг относительно друга в трехмерном пространстве с формированием антигенсвязывающей поверхности. Антигенсвязывающая поверхность комплементарна трехмерной поверхности связываемого антигена, и три гипервариабельных области каждой тяжелой и легкой цепей называются "определяющими комплементарность областями" или "CDR-областями". Отнесение аминокислот к каждому домену выполнено в соответствии с определениями, приведенными в *Rabat Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), или Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987), Chothia et al., Nature 342:878-883 (1989).

При использовании в настоящем описании термин "эпитоп" включает любую белковую детерминанту, способную к специфичному связыванию с иммуноглобулином, scFv или T-клеточным рецептором. Термин "эпитоп" включает любую белковую детерминанту, способную к специфичному связыванию с иммуноглобулином или T-клеточным рецептором. Эпитопные детерминанты обычно состоят из химически активных поверхностных групп молекул, таких как аминокислоты или сахарные боковые цепи, и обычно имеют определенные трехмерные структурные характеристики, а также определенные зарядовые характеристики. Например, могут быть индуцированы антитела против N-концевых или C-концевых пептидов полипептида. Антитело, как говорят, специфично связывает антиген, когда константа диссоциации составляет  $<1$  мкМ; в некоторых вариантах осуществления  $<100$  нМ и в некоторых вариантах осуществления  $<10$  нМ.

При использовании в настоящем описании термины "специфичное связывание", "иммунологическое связывание" и "свойства иммунологического связывания" относятся к нековалентным взаимодействиям такого типа, которые проходят между молекулой иммуноглобулина и антигеном, к которому специфичен иммуноглобулин. Сила или аффинность иммунологических связывающих взаимодействий может быть выражена через константу диссоциации ( $K_d$ ) такого взаимодействия, где меньшая  $K_d$  соответствует более высокой аффинности. Свойства иммунологического связывания выбранных полипептидов могут быть определены количественно при использовании способов, известных в уровне техники. Один такой способ включает измерение скорости образования и диссоциации комплекса между антигенсвязывающим участком/антигеном, где такие скорости зависят от концентраций партнеров по комплексу, аффинности взаимодействия и геометрических параметров, которые в равной степени влияют на скорость в обоих направлениях. Таким образом, "константа скорости ассоциации" ( $K_{on}$ ) и "константа скорости диссоциации" ( $K_{off}$ ) могут быть определены при вычислении концентраций и фактических скоростей ассоциации и диссоциации. См. Nature 361:186-87 (1993). Отношение  $K_{off}/K_{on}$  равно константе диссоциации  $K_d$ . См. в общем Davies et al. (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473. Антитело согласно настоящему описанию, как говорят, специфично связывается с мишенью, когда константа связывания ( $K_d$ ) составляет  $<1$  мкМ, в некоторых вариантах осуществления  $<100$  нМ, в некоторых вариантах осуществления  $<10$  нМ и в некоторых вариантах осуществления от  $<100$  пМ до приблизительно 1 пМ, при измерении с помощью таких анализов, как анализы связывания радиоизотопно меченного лиганда или подобные анализы, известные специалистам в данной области.

Термин "выделенный полинуклеотид" при использовании в настоящем описании должен означать полинуклеотид геномного, кДНК или синтетического происхождения или некоторую комбинацию перечисленного, где "выделенный полинуклеотид", в силу своего происхождения: (1) не связан со всем или

частью полинуклеотида, в котором "выделенный полинуклеотид" существует в природе, (2) функционально связан с полинуклеотидом, с которым он не связан в природе, или (3) не существует в природе как часть более протяженной последовательности. Полинуклеотиды в соответствии с настоящим описанием включают молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие молекулы тяжелой цепи иммуноглобулина, показанные в настоящем изобретении, и молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие молекулы легкой цепи иммуноглобулина, показанные в настоящем изобретении.

Термин "выделенный белок", указанный в настоящем изобретении, означает белок, происходящий из кДНК, рекомбинантной РНК или синтетического происхождения, или некоторую комбинацию перечисленного, где "выделенный белок", в силу своего происхождения или источника происхождения: (1) не связан с существующими в природе белками, (2) не содержит других белков из того же источника, например, не содержит мышинных белков, (3) экспрессирован клеткой из другого биологического вида, или (4) не существует в природе.

Термин "полипептид" используется в настоящем изобретении как общий термин для обозначения нативного белка, фрагментов или аналогов полипептидной последовательности. Следовательно, нативные белковые фрагменты и аналоги являются разновидностями полипептида. Полипептиды в соответствии с описанием включают молекулы тяжелой цепи иммуноглобулина, показанные в настоящем изобретении, и молекулы легкой цепи иммуноглобулина, показанные в настоящем изобретении, а также молекулы антител, сформированные комбинациями, включающими молекулы тяжелой цепи иммуноглобулина с молекулами легкой цепи иммуноглобулина, такими как молекулы каппа-легкой цепи иммуноглобулина, и наоборот, а также их фрагменты и аналоги.

Термин "природный" при использовании в настоящем описании применительно к объекту относится к тому, что объект может быть обнаружен в природе. Например, полипептидная или полинуклеотидная последовательность, которая присутствует в организме (включая вирусы), которая может быть выделена из источника в природе и которая не была преднамеренно модифицирована человеком в лаборатории или иным образом, является природной.

Термин "функционально связанный" при использовании в настоящем описании относится к положениям компонентов, описанных выше, которые находятся в отношениях, позволяющих им функционировать согласно их назначению. Контрольная последовательность, "функционально связанная" с кодирующей последовательностью, лигирована таким образом, что экспрессия кодирующей последовательности достигается при условиях, совместимых с контрольными последовательностями.

Термин "контрольная последовательность" при использовании в настоящем описании относится к полинуклеотидным последовательностям, которые необходимы для выполнения экспрессии и процессинга кодирующих последовательностей, с которыми они лигированы. Природа таких контрольных последовательностей отличается в зависимости от организма-хозяина, например, у прокариотов такие контрольные последовательности обычно включают промотор, участок связывания рибосомы и последовательность терминации транскрипции, а у эукариотов, как правило, такие контрольные последовательности включают промоторы и последовательности терминации транскрипции. Предполагается, что термин "контрольные последовательности" включает, как минимум, все компоненты, присутствие которых важно для экспрессии и процессинга, и также может включать дополнительные компоненты, присутствие которых выгодно, например, лидерные последовательности и слитые последовательности-партнеры. Термин "полинуклеотид", как указано в настоящем изобретении, означает нуклеотиды длиной по меньшей мере 10 оснований, рибонуклеотиды или дезоксирибонуклеотиды, или модифицированную форму нуклеотида любого типа. Термин включает одноцепочечные и двухцепочечные формы ДНК.

Термин олигонуклеотид, указанный в настоящем изобретении, включает природные и модифицированные нуклеотиды, соединенные друг с другом природными и неприродными олигонуклеотидными связями. Олигонуклеотиды представляют собой подгруппу полинуклеотидов, обычно включающих длину 200 оснований или меньше. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотиды имеют длину 10-60 оснований, а в некоторых вариантах осуществления - длину 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20-40 оснований. Олигонуклеотиды обычно одноцепочечные, как, например, в случае зондов, хотя олигонуклеотиды могут быть двухцепочечными, например, для применения в конструировании генного мутанта. Олигонуклеотиды согласно настоящему описанию являются смысловыми или бессмысловыми олигонуклеотидами.

Термин "природные нуклеотиды", указанный в настоящем изобретении, включает дезоксирибонуклеотиды и рибонуклеотиды. Термин "модифицированные нуклеотиды", указанный в настоящем изобретении, включает нуклеотиды с модифицированными или замещенными сахарными группами и т.п. Термин "олигонуклеотидные связи", указанный в настоящем изобретении, включает такие олигонуклеотидные связи, как фосфоротиоат, фосфородитиоат, фосфороселеноат, фосфородиселеноат, фосфороанилиотиоат, фосфораниладат, фосфороамидат и т.п. См., например, LaPlanche et al., Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986); Stec et al., J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984); Stein et al., Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988); Zon et al., Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991); Zon et al., Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed., Oxford University Press, Oxford England (1991)); Stec et al., патент США 5,151,510; Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990). При необходимости олигонуклеотид может вклю-

чать метку для обнаружения.

При использовании в настоящем описании двадцать обычных аминокислот и их сокращенные обозначения соответствуют стандартному применению. См. *Immunology - A Synthesis* (2<sup>nd</sup> Edition, E.S. Golub and D.R. Green, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)). Стереизомеры (например, D-аминокислоты) двадцати обычных аминокислот, не природных аминокислот, таких как  $\alpha$ -,  $\alpha$ -дизамещенные аминокислоты, N-алкиламиноаминокислоты, молочная кислота и другие нестандартные аминокислоты также могут быть подходящими компонентами для полипептидов согласно настоящему описанию. Примеры нестандартных аминокислот включают: 4-гидроксипролин,  $\gamma$ -карбоксиглутамат,  $\epsilon$ -N,N,N-триметиллизин,  $\epsilon$ -N-ацетиллизин, O-фосфосерин, N-ацетилсерин, N-формилметионин, 3-метилгистидин, 5-гидроксилизин,  $\sigma$ -N-метиларгинин, а также другие подобные аминокислоты и иминокислоты (например, 4-гидроксипролин). В обозначении полипептида, используемом в настоящем изобретении, левое направление является N-концевым направлением, и правое направление является C-концевым направлением, в соответствии со стандартным применением и правилами.

Аналогичным образом, если не указано иное, левый конец одноцепочечных полинуклеотидных последовательностей является 5'-концом, левое направление двухцепочечных полинуклеотидных последовательностей указывают как 5'-направление. Направление 5'→3' присоединения растущих РНК-транскриптов указывают как направление транскрипции, области последовательности на цепи ДНК, имеющие ту же последовательность, что и РНК, и которые расположены 5' относительно 5'-конца РНК-транскрипта, именуется "последовательностями, расположенными выше по ходу транскрипции", области последовательности на цепи ДНК, имеющие ту же последовательность, что и РНК, и которые расположены 3' относительно 3'-конца РНК-транскрипта, именуется "последовательностями, расположенными ниже по ходу транскрипции".

Применительно к полипептидам, термин "существенная идентичность" означает что две пептидных последовательности, при их оптимальном выравнивании, например, с помощью программ GAP или BESTFIT при использовании весов пропуска по умолчанию, обладают по меньшей мере 80-процентной идентичностью последовательности, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 90-процентной идентичностью последовательности, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 95-процентной идентичностью последовательности и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 99-процентной идентичностью последовательности.

В некоторых вариантах осуществления положения остатков, которые не являются идентичными, отличаются консервативными аминокислотными заменами.

Как обсуждается в настоящем изобретении, незначительные вариации в аминокислотных последовательностях антител или молекул иммуноглобулинов считаются включенными в настоящее описание при условии, что такие вариации в аминокислотной последовательности сохраняют по меньшей мере 75%, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 80, 90, 95% и в некоторых вариантах осуществления 99%. В частности, предусмотрены консервативные аминокислотные замены.

Консервативные замены являются такими заменами, которые происходят в пределах семейства аминокислот, которые имеют родственные боковые цепи. Генетически кодируемые аминокислоты обычно подразделяются на следующие семейства: (1) кислотные аминокислоты - аспартат, глутамат; (2) основные аминокислоты - лизин, аргинин, гистидин; (3) неполярные аминокислоты - аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан, и (4) незаряженные полярные аминокислоты - глицин, аспарагин, глутамин, цистеин, серин, треонин, тирозин. Гидрофильные аминокислоты включают аргинин, аспарагин, аспартат, глутамин, глутамат, гистидин, лизин, серин и треонин. Гидрофобные аминокислоты включают аланин, цистеин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, пролин, триптофан, тирозин и валин. Другие семейства аминокислот включают:

- (i) серин и треонин, которые относятся к семейству алифатических гидрокси-аминокислот;
- (ii) аспарагин и глутамин, которые относятся к семейству амидсодержащих аминокислот;
- (iii) аланин, валин, лейцин и изолейцин, которые относятся к семейству алифатических аминокислот; и
- (iv) фенилаланин, триптофан и тирозин, которые относятся к семейству ароматических аминокислот.

Например, разумно ожидать, что выделенная замена лейцина изолейцином или валином, аспартата глутаматом, треонина серином или подобная замена аминокислоты структурно родственной аминокислотой не будет оказывать существенного воздействия на связывание или свойства полученной в результате молекулы, особенно если такая замена не включает аминокислоту в участке каркасной области. Приведет ли изменение аминокислоты в функциональном пептиде, можно с легкостью определить при анализе специфичной активности производного полипептида. Анализы подробно описаны в настоящем изобретении. Фрагменты или аналоги антител или молекул иммуноглобулинов могут быть с легкостью получены средними специалистами в данной области. Подходящие N- и C-концы фрагментов или аналогов находятся вблизи границ функциональных доменов. Структурные и функциональные домены могут быть определены при сравнении данных нуклеотидной и/или аминокислотной последовательности с об-

щедоступными или коммерческими базами данных последовательностей. В некоторых вариантах осуществления компьютерные методы сравнения применяют для определения мотивов последовательностей или предсказанных белковых конформационных доменов, которые присутствуют в других белках с известной структурой и/или функцией. Известны способы определения белковых последовательностей, которые сворачиваются в известную трехмерную структуру (Bowie et al., *Science* 253:164 (1991)). Таким образом, предыдущие примеры демонстрируют, что специалисты в данной области могут распознать мотивы последовательности и структурные конформации, которые могут использоваться для определения структурных и функциональных доменов в соответствии с настоящим описанием.

Подходящие аминокислотные замены являются заменами, которые:

- (1) уменьшают склонность к протеолизу,
- (2) уменьшают склонность к окислению,
- (3) изменяют аффинность связывания при образовании белковых комплексов,
- (4) изменяют аффинности связывания, и
- (5) придают или изменяют другие физико-химические или функциональные свойства таких аналогов.

Аналоги могут включать различные мутации последовательности кроме природной пептидной последовательности. Например, одна или множество аминокислотных замен (например, консервативных аминокислотных замен) могут быть сделаны в природной последовательности (например, в части полипептида за пределами домена(ов), формирующего межмолекулярные контакты).

Консервативная аминокислотная замена не должна приводить к существенному изменению структурных свойств исходной последовательности (например, замена аминокислоты не должна приводить к нарушению спирали, которая существует в исходной последовательности, или разрушению других типов вторичной структуры, которая характеризует исходную последовательность). Примеры известных в уровне техники вторичных и третичных структур полипептидов описаны в *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); и Thornton et al., *Nature* 354:105 (1991).

Термин "фрагмент полипептида" при использовании в настоящем описании относится к полипептиду, который имеет N-концевую и/или C-концевую делецию и/или одну или более внутренних делеций, но где остальная аминокислотная последовательность идентична соответствующим положениям в природной последовательности, полученной, например, из полноразмерной последовательности кДНК. Фрагменты, как правило, имеют длину по меньшей мере 5, 6, 8 или 10 аминокислот, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 14 аминокислот, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 20 аминокислот, обычно по меньшей мере 50 аминокислот и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 70 аминокислот. Термин "аналог" при использовании в настоящем описании относится к полипептидам, которые состоят из сегмента длиной по меньшей мере 25 аминокислот, который обладает существенной идентичностью с частью производной аминокислотной последовательности, и который способен специфично связываться с мишенью при подходящих для связывания условиях. Как правило, аналоги полипептида включают консервативную аминокислотную замену (или добавление, или делецию) по сравнению с природной последовательностью. Аналоги, как правило, имеют длину по меньшей мере 20 аминокислот, в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 50 аминокислот или больше и часто могут иметь такую же длину, что и полноразмерный природный полипептид.

Термин "средство" используется в настоящем изобретении для обозначения химического соединения, смеси химических соединений, биологической макромолекулы или экстракта, полученного из биологических материалов.

При использовании в настоящем описании термины "метка" или "меченный" относятся к включению детектируемого маркера, например, включению меченой радиоактивным изотопом аминокислоты или присоединению к полипептиду биотинильных групп, которые можно обнаружить с помощью меченого авидина (например, стрептавидина, содержащего флуоресцентный маркер или ферментативную активность, которая может быть обнаружена с помощью оптических или калориметрических методов). В определенных ситуациях метка или маркер также могут быть терапевтическими. Различные методы мечения полипептидов и гликопротеинов известны в уровне техники и могут применяться. Примеры меток для полипептидов включают, без ограничения перечисленными, следующие: радиоизотопы или радионуклиды (например,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ), флуоресцентные метки (например, ФИТЦ, родамин, лантаноидные люминофоры), ферментные метки (например, пероксидазу хрена,  $\beta$ -галактозидазу, люциферазу, щелочную фосфатазу), хемилюминесцентные, биотинильные группы, заданные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, пары последовательностей с лейциновыми молниями, сайты связывания вторичных антител, металлсвязывающие домены, эпитопные метки). В некоторых вариантах осуществления метки присоединены через спейсерные ножки различной длины для уменьшения потенциального стерического затруднения. Термин "фармацевтическое средство или лекарственное средство" при использовании в настоящем описании относится к химическому соединению или композиции, способной оказывать требуемое терапевтическое воздействие при

правильном введении пациенту.

Другие химические термины в настоящем изобретении используются согласно стандартному использованию в данной области, как показано в The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985)).

При использовании в настоящем описании "по существу чистый" означает, что рассматриваемый компонент является преобладающим присутствующим компонентом (т.е. в молярном отношении он представлен больше, чем какие-либо другие отдельные компоненты в композиции), и в некоторых вариантах осуществления по существу очищенная фракция является композицией, в которой рассматриваемый компонент составляет по меньшей мере приблизительно 50 процентов (в молярном отношении) от всех присутствующих макромолекулярных компонентов.

Обычно по существу чистая композиция будет включать больше чем приблизительно 80 процентов всех макромолекулярных компонентов, присутствующих в композиции, в некоторых вариантах осуществления больше чем приблизительно 85, 90, 95 и 99%. В некоторых вариантах осуществления рассматриваемый компонент очищен до существенной гомогенности (контаминирующие компоненты не могут быть обнаружены в композиции с помощью стандартных методов обнаружения), где композиция состоит по существу из одного макромолекулярного компонента.

Термин пациент включает человека и животных.

Антитела и/или активируемые антитела согласно настоящему описанию специфично связывают данную мишень, например, человеческий белок-мишень, такой как человеческий PD-1. Также в настоящее описание включены антитела и/или активируемые антитела, которые связываются с тем же эпитопом, что и антитела и/или активируемые антитела, описанные в настоящем изобретении. Также в настоящее описание включены антитела и/или активируемые антитела, которые конкурируют с антителом против PD-1 и/или активируемым антителом против PD-1, описанным в настоящем изобретении, за связывание с PD-1, например, человеческим PD-1. Также в настоящее описание включены антитела и/или активируемые антитела, которые перекрестно конкурируют с антителом против PD-1 и/или активируемым антителом против PD-1, описанным в настоящем изобретении, за связывание с PD-1, например, человеческим PD-1.

Специалистам в данной области известно, что без излишнего экспериментирования можно определить, обладает ли моноклональное антитело (например, мышинное моноклональное или гуманизованное антитело) такой же специфичностью, как моноклональное антитело, применяемое в способах, описанных в настоящем изобретении, при определении, препятствует ли первое связыванию последнего с мишенью. Если тестируемое моноклональное антитело конкурирует с моноклональным антителом согласно настоящему описанию, что проявляется в уменьшении связывания моноклональным антителом согласно настоящему описанию, то указанные два моноклональных антитела связываются с одним и тем же или близкородственными эпитопами. Альтернативный способ определения, обладает ли моноклональное антитело специфичностью моноклонального антитела согласно настоящему описанию, состоит в предварительном инкубировании моноклонального антитела согласно настоящему описанию с мишенью и последующем добавлении тестируемого моноклонального антитела для определения, ингибируется ли способность тестируемого моноклонального антитела связывать мишень. Если тестируемое моноклональное антитело ингибируется, то тогда, по всей вероятности, оно обладает такой же, или функционально эквивалентной, эпитопной специфичностью, что и моноклональное антитело согласно настоящему описанию.

Мультиспецифичные активируемые антитела. В настоящем описании также предложены мультиспецифичные активируемые антитела против PD-1.

Мультиспецифичные активируемые антитела, предложенные в настоящем изобретении, представляют собой мультиспецифичные антитела, которые распознают PD-1 и по меньшей мере один или более различных антигенов или эпитопов, и которые включают по меньшей мере одну маскирующую часть (ММ), связанную по меньшей мере с одним антиген- или эпитопсвязывающим доменом мультиспецифичного антитела таким образом, что присоединение ММ уменьшает способность антиген- или эпитопсвязывающего домена связывать свою мишень. В некоторых вариантах осуществления ММ соединена с антиген- или эпитопсвязывающим доменом мультиспецифичного антитела через расщепляемую часть (СМ), которая функционирует как субстрат по меньшей мере для одной протеазы. Активируемые мультиспецифичные антитела, предложенные в настоящем изобретении, стабильны в кровотоке, активируются в предполагаемых участках терапии и/или диагностики, но не в нормальной, т.е. здоровой, ткани, и в активированном состоянии демонстрируют связывание с мишенью, которое, по меньшей мере, сопоставимо с соответствующим, немодифицированным мультиспецифичным антителом.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичные активируемые антитела созданы с возможностью связывания с иммунными эффекторными клетками и также указаны в настоящем изобретении как связывающиеся с иммуно-эффекторными клетками мультиспецифичные активируемые антитела. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичные активируемые антитела созданы с возможностью связывания с лейкоцитами и также указаны в настоящем изобретении как связывающиеся с лейкоцитами мультиспецифичные активируемые антитела. В некоторых вариантах осуществления мультис-

пецифичные активируемые антитела созданы с возможностью связывания с Т-клетками и также указаны в настоящем изобретении как связывающиеся с Т-клетками мультиспецифичные активируемые антитела. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичные активируемые антитела связывают поверхностный антиген на лейкоците, например, на Т-клетке, на естественной киллерной (NK) клетке, на миелоидной мононуклеарной клетке, на макрофаге и/или на другой иммунной эффекторной клетке. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является лейкоцит. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является Т-клетка. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является NK-клетка. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является мононуклеарная клетка, такая как миелоидная мононуклеарная клетка. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичные активируемые антитела созданы с возможностью связываться или иным образом взаимодействовать больше чем с одной мишенью и/или больше чем с одним эпитопом, и также указаны в настоящем изобретении как мультиантигенспецифичные активируемые антитела. При использовании в настоящем описании термины "мишень" и "антиген" используются попеременно.

В некоторых вариантах осуществления связывающиеся с иммунными эффекторными клетками мультиспецифичные активируемые антитела согласно настоящему описанию включают специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают PD-1, и связывающиеся с иммунной эффекторной клеткой антитело или его антигенсвязывающую часть, где по меньшей мере одно из специфичного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или связывающегося с иммунной эффекторной клеткой антитела или его антигенсвязывающей части является маскированным. В некоторых вариантах осуществления связывающиеся с иммунной эффекторной клеткой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB1), которые связывают первую связывающую иммунную эффекторную клетку-мишень, где AB1 соединено с маскирующей частью (MM1) таким образом, что соединение с MM1 уменьшает способность AB1 связывать первую мишень. В некоторых вариантах осуществления специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают второе антитело или его фрагмент, которые включают второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB2), которые связывают PD-1, где AB2 соединено с маскирующей частью (MM2) таким образом, что соединение с MM2 уменьшает способность AB2 связывать PD-1. В некоторых вариантах осуществления связывающиеся с иммунной эффекторной клеткой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB1), которые связывают первую связывающую иммунную эффекторную клетку-мишень, где AB1 соединено с маскирующей частью (MM1) таким образом, что соединение с MM1 уменьшает способность AB1 связывать первую мишень, и специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают второе антитело или его фрагмент, которые включают второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB2), которые связывают PD-1, где AB2 соединено с маскирующей частью (MM2) таким образом, что соединение с MM2 уменьшает способность AB2 связывать PD-1. В некоторых вариантах осуществления не связывающимся с иммунной эффекторной клеткой антителом является противоопухолевое антитело. В некоторых вариантах осуществления неиммуноклеточным эффекторным антителом является IgG. В некоторых вариантах осуществления связывающимся с иммунной эффекторной клеткой антителом является scFv. В некоторых вариантах осуществления PD-1-специфичным антителом (например, неиммуноклеточным эффекторным антителом) является IgG, а связывающимся с иммунной эффекторной клеткой антителом является scFv. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является лейкоцит. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является Т-клетка. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является NK-клетка. В некоторых вариантах осуществления иммунной эффекторной клеткой является миелоидная мононуклеарная клетка.

В некоторых вариантах осуществления связывающиеся с Т-клетками мультиспецифичные активируемые антитела согласно настоящему описанию включают PD-1-специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и связывающиеся с Т-клетками антитело или его антигенсвязывающую часть, где по меньшей мере одно из PD-1-специфичного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и/или связывающегося с Т-клетками антитела или его антигенсвязывающей части является маскированным. В некоторых вариантах осуществления связывающиеся с Т-клетками антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB1), которые связывают первую связывающуюся Т-клетку-мишень, где AB1 соединено с маскирующей частью (MM1) таким образом, что соединение с MM1 уменьшает способность AB1 связывать первую мишень. В некоторых вариантах осуществления специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают второе антитело или его фрагмент, которые включают второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB2), которые связывают PD-1, где AB2 соединено с маскирующей частью (MM2) таким образом, что соединение с MM2 уменьшает способность AB2 связывать PD-1. В некоторых вариантах осуществления связывающиеся с Т-клетками антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB1), которые связывают первую связывающуюся Т-клетку-мишень, где AB1 соединено с маскирующей частью (MM1) таким образом, что соеди-



нение с MM1 уменьшает способность AB1 связывать первую мишень, и специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают второе антитело или его фрагмент, которые включают второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB2), которые связывают PD-1, где AB2 соединено с маскирующей частью (MM2) таким образом, что соединение с MM2 уменьшает способность AB2 связывать PD-1.

В некоторых вариантах осуществления связывающегося с иммунной эффекторной клеткой мультиспецифичного активируемого антитела, одним антигеном является PD-1, а другой антиген, как правило, является стимулирующим или ингибирующим рецептором, присутствующим на поверхности Т-клетки, естественной киллерной (NK) клетке, миелоидной мононуклеарной клетки, макрофага и/или другой иммунной эффекторной клетки, таким как, без ограничения перечисленными, B7-H4, BTLA, CD3, CD4, CD8, CD16a, CD25, CD27, CD28, CD32, CD56, CD137, CTLA-4, GITR, HVEM, ICOS, LAG3, NKG2D, OX40, TIGIT, TIM3 или VISTA. В некоторых вариантах осуществления антиген является стимулирующим рецептором, присутствующим на поверхности Т-клетки или NK-клетки; примеры таких стимулирующих рецепторов включают, без ограничения перечисленными, CD3, CD27, CD28, CD137 (также называемый 4-1BB), GITR, HVEM, ICOS, NKG2D и OX40. В некоторых вариантах осуществления антиген является ингибирующим рецептором, присутствующим на поверхности Т-клетки; примеры таких ингибирующих рецепторов включают, без ограничения перечисленными, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIGIT, TIM3 и NK-экспрессируемые KIR-рецепторы. Домен антитела, придающий специфичность к Т-клеточному поверхностному антигену, также можно заменить лигандом или доменом лиганда, который связывается с Т-клеточным рецептором, NK-клеточным рецептором, макрофагальным рецептором и/или другим рецептором иммунных эффекторных клеток, таким как, без ограничения перечисленными, B7-1, B7-2, B7H3, PDL1, PDL2 или TNFSF9.

В некоторых вариантах осуществления связывающегося с Т-клетками мультиспецифичное активируемое антитело включает scFv против CD3-эпсилон (CD3ε, также указанного в настоящем изобретении как CD3ε и CD3) и специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, где по меньшей мере одно из scFv против CD3ε и/или специфичного антитела или его антигенсвязывающей части является маскированным. В некоторых вариантах осуществления scFv против CD3ε включает первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB1), которые связывают CD3ε, где AB1 соединено с маскирующей частью (MM1) таким образом, что соединение с MM1 уменьшает способность AB1 связывать CD3ε. В некоторых вариантах осуществления специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают второе антитело или его фрагмент, которые включают второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB2), которые связывают PD-1, где AB2 соединено с маскирующей частью (MM2) таким образом, что соединение с MM2 уменьшает способность AB2 связывать PD-1. В некоторых вариантах осуществления scFv против CD3ε включает первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB1), которые связывают CD3ε, где AB1 соединено с маскирующей частью (MM1) таким образом, что соединение с MM1 уменьшает способность AB1 связывать CD3ε, и специфичное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают второе антитело или его фрагмент, которые включают второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB2), которые связывают PD-1, где AB2 соединено с маскирующей частью (MM2) таким образом, что соединение с MM2 уменьшает способность AB2 связывать PD-1.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенспецифичные антитела и/или мультиантигенспецифичные активируемые антитела включают по меньшей мере первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают первую мишень и/или первый эпитоп, и второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связывают вторую мишень и/или второй эпитоп. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенспецифичные антитела и/или мультиантигенспецифичные активируемые антитела связывают две или более разных мишеней. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенспецифичные антитела и/или мультиантигенспецифичные активируемые антитела связывают два или больше разных эпитопов на одной и той же мишени. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенспецифичные антитела и/или мультиантигенспецифичные активируемые антитела связывают комбинацию двух или более разных мишеней и двух или более разных эпитопов на одной и той же мишени.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело, включающее IgG, имеет маскированные IgG вариабельные домены. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело, включающее scFv, имеет маскированные scFv домены. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело имеет IgG вариабельные домены и scFv домены, где по меньшей мере один из IgG вариабельных доменов соединен с маскирующей частью. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело имеет IgG вариабельные домены и scFv домены, где по меньшей мере один из scFv доменов соединен с маскирующей частью. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело имеет IgG вариабельные домены и scFv домены, где по меньшей мере один из IgG вариабельных доменов соединен с маскирующей частью, и по меньшей мере один из scFv доменов соединен с маскирующей частью. В

некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело имеет IgG вариабельные домены и scFv домены, где каждый из IgG вариабельных доменов и scFv доменов соединен со своей собственной маскирующей частью. В некоторых вариантах осуществления один домен антитела мультиспецифичного активируемого антитела обладает специфичностью к антигену-мишени, а другой домен антитела обладает специфичностью к Т-клеточному поверхностному антигену. В некоторых вариантах осуществления один домен антитела мультиспецифичного активируемого антитела обладает специфичностью к антигену-мишени, а другой домен антитела обладает специфичностью к другому антигену-мишени. В некоторых вариантах осуществления один домен антитела мультиспецифичного активируемого антитела обладает специфичностью к эпитопу антигена-мишени, а другой домен антитела обладает специфичностью к другому эпитопу антигена-мишени.

В мультиспецифичном активируемом антителе, scFv может быть слит с С-концом тяжелой цепи IgG активируемого антитела, с С-концом легкой цепи IgG активируемого антитела или с С-концом тяжелой и легкой цепей IgG активируемого антитела. В мультиспецифичном активируемом антителе, scFv может быть слит с N-концом тяжелой цепи IgG активируемого антитела, с N-концом легкой цепи IgG активируемого антитела или с N-концом тяжелой и легкой цепей IgG активируемого антитела. В мультиспецифичном активируемом антителе, scFv может быть слит с любой комбинацией одного или более С-концов и одного или более N-концов IgG активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления маскирующая часть (ММ), связанная с расщепляемой частью (СМ), присоединена и маскирует антигенсвязывающий домен IgG. В некоторых вариантах осуществления маскирующая часть (ММ), связанная с расщепляемой частью (СМ), присоединена и маскирует антигенсвязывающий домен по меньшей мере одного scFv. В некоторых вариантах осуществления маскирующая часть (ММ), связанная с расщепляемой частью (СМ), присоединена и маскирует антигенсвязывающий домен IgG, и маскирующая часть (ММ), связанная с расщепляемой частью (СМ), присоединена и маскирует антигенсвязывающий домен по меньшей мере одного scFv.

В настоящем описании представлены примеры структур мультиспецифичных активируемых антител, которые включают, без ограничения перечисленными, следующие:

$$(VL-CL)_2: (VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH^*-L3-VL^*-L2-CM-L1-MM)_2; \quad (VL-CL)_2: (VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL^*-L3-VH^*-L2-CM-L1-MM)_2; \quad (MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2: (VH-CH1-CH2-CH3-L4-VH^*-L3-VL^*)_2; \quad (MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2: (VH-CH1-CH2-CH3-L4-VL^*-L3-VH^*)_2; \quad (VL-CL)_2: (MM-L1-CM-L2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL)_2: (MM-L1-CM-L2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2: (VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (MM-L1-CM-L2-VL-CL)_2: (VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-L2-CM-L1-MM)_2: (VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-L2-CM-L1-MM)_2: (VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (MM-L1-CM-L2-VL^*-L3-VH^*-L4-VL-CL)_2: (VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (MM-L1-CM-L2-VH^*-L3-VL^*-L4-VL-CL)_2: (VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-L2-CM-L1-MM)_2: (MM-L1-CM-L2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-L2-CM-L1-MM)_2: (MM-L1-CM-L2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-L2-CM-L1-MM)_2: (MM-L1-CM-L2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-L2-CM-L1-MM)_2: (MM-L1-CM-L2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*)_2: (MM-L1-CM-L2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*)_2: (MM-L1-CM-L2-VL^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*)_2: (MM-L1-CM-L2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*)_2: (MM-L1-CM-L2-VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VH^*-L3-VL^*-L2-CM-L1-MM)_2: (VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-L2-CM-L1-MM)_2: (VH^*-L3-VH^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2; \quad или \quad (VL-CL-L4-VL^*-L3-VH^*-L2-CM-L1-MM)_2: \quad (VH^*-L3-VL^*-L4-VH-CH1-CH2-CH3)_2,$$

где VL и VH представляют собой вариабельные домены легкой и тяжелой цепи первой специфичности, содержащиеся в IgG; VL\* и VH\* представляют собой вариабельные домены второй специфичности, содержащиеся в scFv; L1 является линкерным пептидом, соединяющим маскирующую часть (ММ) и расщепляемую часть (СМ); L2 является линкерным пептидом, соединяющим расщепляемую часть (СМ) и антитело; L3 является линкерным пептидом, соединяющим вариабельные домены scFv; L4 является линкерным пептидом, соединяющим антитело первой специфичности с антителом второй специфично-

сти; СL является константным доменом легкой цепи; и СН1, СН2, СН3 являются константными доменами тяжелой цепи. Первая и вторая специфичности могут быть направлены в отношении любого антигена или эпитопа.

В некоторых вариантах осуществления связывающегося с Т-клеткой мультиспецифичного активируемого антитела, одним антигеном является PD-1, а другой антиген, как правило, является стимулирующим (также указанным в настоящем изобретении как активирующим) или ингибирующим рецептором, присутствующим на поверхности Т-клетки, естественной киллерной (НК) клетки, миелоидной мононуклеарной клетки, макрофага и/или другой иммунной эффекторной клетки, такой как, без ограничения перечисленными, В7-Н4, ВTLA, CD3, CD4, CD8, CD16a, CD25, CD27, CD28, CD32, CD56, CD137 (также называемый TNFRSF9), СTLA-4, GITR, HVEM, ICOS, LAG3, NKG2D, OX40, PD-1, TIGIT, TIM3 или VISTA. Домен антитела, придающий специфичность к Т-клеточному поверхностному антигену, также можно заменить лигандом или доменом лиганда, который связывается с Т-клеточным рецептором, НК-клеточным рецептором, макрофагальным рецептором и/или другим рецептором иммунных эффекторных клеток.

В некоторых вариантах осуществления специфичное антитело является антителом против PD-1, раскрытым в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления специфичное антитело может находиться в форме активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления scFv-фрагмент(ы) может находиться в форме про-scFv-фрагмента (см., например, WO 2009/025846, WO 2010/081173).

В некоторых вариантах осуществления scFv является специфичным для связывания CD3ε и включает или получен из антитела или его фрагмента, которые связывают CD3ε, например, СН2527, FN18, Н2С, ОКТ3, 2С11, UCHT1 или V9. В некоторых вариантах осуществления scFv является специфичным для связывания СTLA-4 (также указанного в настоящем изобретении как СTLA и СTLA4).

В некоторых вариантах осуществления scFv против СTLA-4 включает аминокислотную последовательность:

```
GGSGGGSGSGGGSGGGSGGGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAW
YQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPLTFG
GGTKVEIKRSGGSTITSYNVYYTKLSSSGTQVQLVQQTGGGVVQGRSLRLSCAASGSTFFSSYAM
SWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT
NSLYWYFDLWGRGTLVTVSSAS (SEQ ID NO: 585)
```

В некоторых вариантах осуществления scFv против СTLA-4 включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 585.

В некоторых вариантах осуществления scFv против CD3ε включает аминокислотную последовательность:

```
GGSGGGSGSGGGSGGGSGGGQVQLQQSGAELARPGASVKMCKASGYTFTRYTMHW
VKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYY
DDHYCLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGQIVLTQSPAIMASAPGKVTMTCSASSSVS
YMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLAGVPAHFRGSGGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNP
FTFGSGTKLEINR (SEQ ID NO: 586)
```

В некоторых вариантах осуществления scFv против CD3ε включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 586.

В некоторых вариантах осуществления scFv является специфичным для связывания одной или более Т-клеток, одной или более НК-клеток и/или одного или более макрофагов. В некоторых вариантах осуществления scFv является специфичным для связывания мишени, выбранной из группы, состоящей из В7-Н4, ВTLA, CD3, CD4, CD8, CD16a, CD25, CD27, CD28, CD32, CD56, CD137, СTLA-4, GITR, HVEM, ICOS, LAG3, NKG2D, OX40, TIGIT, TIM3 или VISTA.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело также включает средство, конъюгированное с АВ. В некоторых вариантах осуществления средство является терапевтическим средством. В некоторых вариантах осуществления средство конъюгировано с мультиспецифичным активируемым антителом через линкер. В некоторых вариантах осуществления средство конъюгировано с АВ через расщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления линкер является нерасщепляемым линкером.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело также включает детектируемую молекулу. В некоторых вариантах осуществления детектируемая молекула является диагностическим средством.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело обычно содержит одну или более дисульфидных связей. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное

активируемое антитело может быть сконструировано с включением одной или более дисульфидных связей.

В настоящем описании также предложена выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая мультиспецифичное активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении, а также векторы, которые включают такие выделенные последовательности нуклеиновых кислот. В настоящем описании предложены способы получения мультиспецифичного активируемого антитела посредством культивирования клетки при условиях, которые приводят к экспрессии активируемого антитела, где клетка включает такую молекулу нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления клетка включает такой вектор.

В настоящем описании также предложен способ производства мультиспецифичных активируемых антител согласно настоящему описанию посредством: (а) культивирования клетки, включающей конструкцию нуклеиновой кислоты, которая кодирует мультиспецифичное активируемое антитело, при условиях, которые приводят к экспрессии мультиспецифичного активируемого, и (б) выделения мультиспецифичного активируемого антитела. Подходящие АВ, ММ и/или СМ включают любой из АВ, ММ и/или СМ, раскрытых в настоящем изобретении.

В настоящем описании также предложены мультиспецифичные активируемые антитела и/или композиции мультиспецифичных активируемых антител, которые включают по меньшей мере первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (АВ1), которые специфично связывают первую мишень или первый эпитоп, и второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (АВ2), которые связывают вторую мишень или второй эпитоп, где, по меньшей мере, АВ1 соединен или иным образом прикреплен к маскирующей части (ММ1) таким образом, что соединение с ММ1 уменьшает способность АВ1 связывать свою мишень. В некоторых вариантах осуществления ММ1 соединен с АВ1 через последовательность первой расщепляемой части (СМ1), которая включает субстрат для протеазы, например, протеазы, которая локализована с мишенью АВ1 на участке лечения или участке диагностики у субъекта. Мультиспецифичные активируемые антитела, предложенные в настоящем изобретении, стабильны в кровотоке, активируются в предполагаемых участках терапии и/или диагностики, но не в нормальной, т.е. здоровой, ткани, и в активированном состоянии демонстрируют связывание с мишенью АВ1, которое, по меньшей мере, сопоставимо с соответствующим, немодифицированным мультиспецифичным антителом. Подходящие АВ, ММ и/или СМ включают любой из АВ, ММ и/или СМ, раскрытых в настоящем изобретении.

В настоящем описании также предложены композиции и способы, которые включают мультиспецифичное активируемое антитело, которое включает, по меньшей мере, первое антитело или фрагмент антитела (АВ1), которые специфично связывают мишень, и второе антитело или фрагмент антитела (АВ2), где по меньшей мере первый АВ в мультиспецифичном активируемом антителе соединен с маскирующей частью (ММ1), что уменьшает способность АВ1 связывать свою мишень. В некоторых вариантах осуществления каждый АВ соединен с ММ, что уменьшает способность его соответствующего АВ связываться с каждой мишенью. Например, в вариантах осуществления биспецифичного активируемого антитела, АВ1 соединен с первой маскирующей частью (ММ1), что уменьшает способность АВ1 связывать свою мишень, и АВ2 соединен со второй маскирующей частью (ММ2), что уменьшает способность АВ2 связывать свою мишень. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело включает больше двух областей АВ; в таких вариантах осуществления АВ1 соединена с первой маскирующей частью (ММ1), что уменьшает способность АВ1 связывать свою мишень, АВ2 соединена со второй маскирующей частью (ММ2), что уменьшает способность АВ2 связывать свою мишень, АВ3 соединена с третьей маскирующей частью (ММ3), что уменьшает способность АВ3 связать свою мишень, и так далее для каждого АВ в мультиспецифичном активируемом антителе. Подходящие АВ, ММ и/или СМ включают любой из АВ, ММ и/или СМ, раскрытых в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело дополнительно включает по меньшей мере одну расщепляемую часть (СМ), которая является субстратом для протеазы, где СМ соединяет ММ с АВ. Например, в некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело включает, по меньшей мере, первое антитело или фрагмент антитела (АВ1), которые специфично связывают мишень, и второе антитело или фрагмент антитела (АВ2), где по меньшей мере первый АВ в мультиспецифичном активируемом антителе соединен через первую расщепляемую часть (СМ1) с маскирующей частью (ММ1), что уменьшает способность АВ1 связывать свою мишень. В некоторых вариантах осуществления биспецифичного активируемого антитела, АВ1 соединена через СМ1 с ММ1, и АВ2 соединена через вторую расщепляемую часть (СМ2) со второй маскирующей частью (ММ2), что уменьшает способность АВ2 связывать свою мишень. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифичное активируемое антитело включает больше двух областей АВ; в некоторых из таких вариантов осуществления АВ1 соединена через СМ1 с ММ1, АВ2 соединена через СМ2 с ММ2, и АВ3 соединена через третью расщепляемую часть (СМ3) с третьей маскирующей частью (ММ3), что уменьшает способность АВ3 связывать свою мишень, и так далее для каждого АВ в мультиспецифичном активируемом антителе. Подходящие АВ, ММ и/или СМ включают любой из АВ, ММ и/или СМ, раскрытых в настоящем изобретении.

Активируемые антитела, содержащие несвязывающие стерические части или партнеры по связыванию для несвязывающих стерических частей В настоящем описании также предложены активируемые антитела, которые включают несвязывающие стерические части (NB) или партнеры по связыванию (BP) для несвязывающих стерических частей, где BP рекрутирует или иным образом привлекает NB к активируемому антителу. Активируемые антитела, предложенные в настоящем изобретении, включают, например, активируемое антитело, которое включает несвязывающую стерическую часть (NB), расщепляемый линкер (CL) и антитело или фрагмент антитела (AB), которые связывают мишень; активируемое антитело, которое включает партнер по связыванию для несвязывающей стерической части (BP), CL и AB; и активируемое антитело, которое включает BP, к которому рекрутируется NB, CL и AB, которое связывает мишень. Активируемые антитела, в которых NB ковалентно связана с CL и AB активируемого антитела или ассоциирована при взаимодействии с BP, который ковалентно связан с CL и AB активируемого антитела, указаны в настоящем изобретении как "NB-содержащие активируемые антитела". Под активируемым или переключаемым подразумевается, что активируемое антитело демонстрирует первый уровень связывания с мишенью, когда активируемое антитело находится в ингибированном, маскированном или нерасщепленном состоянии (т.е. первой конформации), и второй уровень связывания с мишенью, когда активируемое антитело находится в свободном, немаскированном и/или расщепленном состоянии (т.е. второй конформации, т.е. активированное антитело), где второй уровень связывания мишени больше, чем первый уровень связывания мишени. Композиции активируемых антител могут демонстрировать увеличенную биодоступность и более благоприятное биораспределение по сравнению с обычными терапевтическими антителами.

В некоторых вариантах осуществления активируемые антитела обеспечивают сниженную токсичность и/или нежелательное побочное действие, которые в ином случае могли возникать в результате связывания на не предусмотренных для лечения участках и/или не предусмотренных для диагностики участках, если бы AB не было маскировано или иным образом не было ингибировано его связывание с таким участком.

Активируемые антитела против PD-1, которые включают несвязывающую стерическую часть (NB), могут быть получены с применением способов, представленных в публикации PCT WO 2013/192546, содержание которой настоящим полностью включено посредством отсылки.

#### Применение антител и активируемых антител

Следует понимать, что введение терапевтических соединений в соответствии с настоящим описанием будут проводить с подходящими носителями, вспомогательными веществами и другими средствами, которые входят в состав лекарственных форм для обеспечения улучшенного транспорта, доставки, переносимости и т.п. Множество подходящих лекарственных форм можно найти в справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences (15<sup>th</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)), в частности, в главе 87 за авторством Blaug, Seymour. Такие лекарственные формы включают, например, порошки, пасты, мази, гели, воска, масла, липиды, содержащие липиды (катионные или анионные) везикулы (такие как Lipofectin<sup>TM</sup>), конъюгаты ДНК, безводные абсорбирующие пасты, эмульсии по типу масло в воде и вода в масле, эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли различной молекулярной массы), полутвердые гели и полутвердые смеси, содержащие карбовакс. Любая из предыдущих смесей может быть подходящей в лечении и способах лечения в соответствии с настоящим описанием, при условии, что действующее вещество в лекарственной форме не инактивируется компонентами лекарственной формы, и лекарственная форма физиологически совместима и переносима с путем введения. См. также публикации Baldrick P. "Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance". Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000), Wang W. "Lyophilization and development of solid protein Pharmaceuticals". Int. J. Pharm. 203 (1-2):1-60 (2000), Charman WN "Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts". J Pharm Sci.89(8):967-78 (2000), Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998), и ссылки в них для получения дополнительной информации по лекарственным формам, вспомогательным веществам и носителям, известным химикам-фармацевтам.

Терапевтические лекарственные формы согласно настоящему описанию, которые включают антитело против PD-1 и/или активируемое антитело против PD-1, такие как, в качестве неограничивающего примера, антитело и/или активируемое антитело, применяются для предотвращения, лечения или иного уменьшения тяжести заболевания или нарушения, связанного с aberrантной экспрессией и/или активностью мишени. Например, терапевтические лекарственные формы согласно настоящему описанию, которые включают антитело и/или активируемое антитело, применяются для лечения или иного уменьшения тяжести рака или другого неопластического заболевания, воспаления, воспалительного заболевания и/или аутоиммунного заболевания. В некоторых вариантах осуществления рак является солидной опухолью или гемобластозом, где экспрессируется мишень. В некоторых вариантах осуществления рак является солидной опухолью, где экспрессируется мишень. В некоторых вариантах осуществления рак является гемобластозом, где экспрессируется мишень. В некоторых вариантах осуществления мишень экспрессируется на паренхиме (например, в раковой опухоли, части органа или ткани, которая часто выполняет функцию(и) органа или ткани). В некоторых вариантах осуществления мишень экспрессируется на клет-

ке, ткани или органе. В некоторых вариантах осуществления мишень экспрессируется на строме (т.е. соединительном поддерживающем каркасе клетки, ткани или органа). В некоторых вариантах осуществления мишень экспрессируется на остеобласте. В некоторых вариантах осуществления мишень экспрессируется на эндотелии (сосудистой сети). В некоторых вариантах осуществления мишень экспрессируется на раковой стволовой клетке.

Эффективность профилактики, уменьшения тяжести или лечения определяют с помощью любого известного метода диагностики или лечения заболевания или нарушения, связанного с экспрессией и/или активностью мишени, такой как, например, аберрантная экспрессия и/или активность мишени. Увеличение продолжительности выживаемости субъекта или иная задержка развития заболевания или нарушения, связанного с экспрессией и/или активностью мишени, например аберрантной экспрессией и/или активностью мишени, у субъекта указывают, что антитело и/или активируемое антитело обладают клинической эффективностью.

Антитело и/или активируемое антитело можно вводить в форме фармацевтических композиций. Принципы и критерии, используемые при получении таких композиций, а также руководства по выбору компонентов, представлены, например, в Remington: The Science And Practice Of Pharmacy 19<sup>th</sup> ed. (Alfonso R. Gennaro, et al., editors) Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; and Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, Vol. 4), 1991, M. Dekker, New York.

В некоторых вариантах осуществления, в которых применяются фрагменты антител, выбирают наименьший фрагмент, который специфично связывается с доменом связывания белка-мишени. Например, на основе последовательностей варибельной области антитела могут быть созданы пептидные молекулы, которые сохраняют способность связывать последовательность белка-мишени. Такие пептиды могут быть синтезированы химически и/или получены с помощью технологии рекомбинантных ДНК. См., например, Marasco et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993). Лекарственная форма при необходимости также может содержать больше одного действующего вещества для конкретного показания, подвергаемого лечению, например, в некоторых вариантах осуществления, действующие вещества с дополнительными активностями, которые не оказывают негативного влияния друг на друга. В некоторых вариантах осуществления, или дополнительно, композиция может включать средство, которое усиливает ее функцию, такое как, например, цитотоксическое средство, цитокин, химиотерапевтическое средство или ингибирующее рост средство. Такие молекулы предпочтительно присутствуют в комбинации в количествах, которые являются эффективными для предполагаемой цели.

Действующие вещества также могут быть заключены в микрокапсулы, изготовленные, например, с помощью методов коацервации или поверхностной полимеризации, например, гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и микрокапсулы из полиметилметакрилата, соответственно, в коллоидных системах доставки лекарственных средств (например, липосомах, альбуминовых микросферах, микроэмульсиях, наночастицах и микрокапсулах) или в макроэмульсиях.

Лекарственные формы, применяемые для *in vivo* введения, должны быть стерильными. Это с легкостью достигается при фильтрации через стерилизующие фильтрационные мембраны.

Могут быть изготовлены препараты с пролонгированным высвобождением. Подходящие примеры препаратов с пролонгированным высвобождением включают полупроницаемые матрицы из твердых гидрофобных полимеров, содержащие антитело, где матрицы изготовлены в форме формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Примеры матриц пролонгированного высвобождения включают полиэферы, гидрогели (например, поли-(2-гидроксиэтил-метакрилат) или поливиниловый спирт), полилактоиды (патент США 3,773,919), сополимеры L-глутаминовой кислоты и  $\gamma$ -этил-L-глутамат, неразлагаемый этилен-винилацетат, разлагаемые сополимеры молочной кислоты-гликолевой кислоты, такие как LUPRON DEPOT™ (микросферы для инъекций, состоящие из сополимера молочной кислоты-гликолевой кислоты и лейпролида ацетата), и поли-D-(-)-3-гидроксимасляную кислоту. Тогда как такие полимеры, как этилен-винилацетат и молочная кислота-гликолевая кислота обеспечивают высвобождение молекул в течение более 100 дней, некоторые гидрогели высвобождают белки в течение более коротких периодов времени.

В некоторых вариантах осуществления антитело и/или активируемое антитело содержит детектируемую метку. Используется интактное антитело или его фрагмент (например, Fab, scFv или F(ab)<sub>2</sub>). Предполагается, что термин "меченый", в отношении зонда или антитела, охватывает прямое мечение зонда или антитела посредством соединения (т.е. физического связывания) детектируемого вещества с зондом или антителом, а также не прямое мечение зонда или антитела при взаимодействии с другим реагентом, который помечен непосредственно. Примеры непрямого мечения включают обнаружение основного антитела при использовании флуоресцентно меченного вторичного антитела и концевое мечение ДНК-зонда биотином таким образом, что он может быть обнаружен с помощью флуоресцентно меченного стрептавидина. Предполагается, что термин "биологический образец" включает ткани, клетки и биологические жидкости, выделенные у субъекта, а также ткани, клетки и жидкости, присутствующие в организме субъекта. В рамки применения термина "биологический образец", таким образом, включены

кровь и фракция или компонент крови, в том числе сыворотка крови, плазма крови или лимфа. Таким образом, способ обнаружения согласно настоящему описанию может применяться для обнаружения анализируемой мРНК, белка или геномной ДНК в биологическом образце *in vitro*, а также *in vivo*. Например, способы *in vitro* обнаружения анализируемой мРНК включают Нозерн-гибридизацию и гибридизацию *in situ*. Способы *in vitro* обнаружения анализируемого белка включают иммуноферментные анализы (ELISA), Вестерн-блоттинг, иммунопреципитацию, иммунохимическое окрашивание и иммунофлуоресценцию. Способы *in vitro* обнаружения анализируемой геномной ДНК включают Саузерн-гибридизацию. Процедуры проведения иммуноанализов описаны, например в "ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology", Vol. 42, J. R. Crowther (Ed.) Human Press, Totowa, NJ, 1995; "Immunoassay", E. Diamandis and T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1996; и "Practice and Theory of Enzyme Immunoassays", P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985. Кроме того, способы *in vivo* обнаружения анализируемого белка включают введение субъекту меченого антитела против анализируемого белка. Например, антитело может быть помечено радиоактивным маркером, присутствие и местоположение которого в организме субъекта может быть обнаружено с помощью стандартных методов визуализации.

Антитела и/или активируемые антитела согласно настоящему описанию также могут применяться в различных диагностических и профилактических лекарственных формах. В одном варианте осуществления антитело и/или активируемое антитело вводят пациентам, которые подвергаются риску развития одного или более вышеуказанных нарушений. Предрасположенность пациента или органа к одному или более вышеуказанным нарушениям может быть определена при использовании генотипических, серологических или биохимических маркеров.

В некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитела и/или активируемые антитела вводят отдельным людям с диагнозом клинического показания, связанного с одним или более вышеуказанными нарушениями. После диагностики антитело и/или активируемое антитело вводят для облегчения или устранения эффектов клинического показания.

Антитело и/или активируемое антитело согласно настоящему описанию также могут применяться при обнаружении мишени в образцах пациента и, соответственно, могут применяться в качестве диагностических средств. Например, антитела и/или активируемые антитела и их конъюгированные версии согласно настоящему описанию применяются в анализах *in vitro*, например ELISA, для обнаружения уровня мишени в образце пациента.

В некоторых вариантах осуществления антитела против PDL1 применяются в качестве диагностического средства для пациентов, которые с более высокой вероятностью будут благоприятно отвечать на лечение антителом против PD-1 и/или активируемым антителом согласно настоящему описанию. В таких вариантах осуществления экспрессию PD-L1 в биоптатах опухоли на опухолевых клетках и инфильтрирующих иммунных клетках и экспрессию PD-L1 на иммунных клетках в крови используют для определения присутствия активного иммунитета и, таким образом, потенциала для супрессии активности Т-клеток в результате связывания PD-1 с PD-L1.

В одном варианте осуществления антитело, конъюгированное антитело, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело согласно настоящему описанию иммобилизованы на твердой подложке (например, лунке(ах) микротитровального планшета). Иммобилизованное антитело, конъюгированное антитело, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело служат в качестве захватывающего антитела для любой мишени, которая может присутствовать в тестируемом образце. Перед контактом иммобилизованного антитела и/или активируемого антитела, и/или их конъюгированных версий с образцом пациента, твердую подложку промывают и обрабатывают блокирующим средством, таким как молочный белок или альбумин, для предотвращения неспецифичной адсорбции аналита.

Затем лунки обрабатывают тестируемым образцом, подозреваемым на содержание антигена, или раствором, содержащим стандартное количество антигена. Такой образец является, например, образцом сыворотки субъекта, подозреваемого на наличие уровней циркулирующего антигена, которые считают диагностическим критерием наличия патологии. После удаления при промывке тестируемого образца или стандарта, твердую подложку обрабатывают вторым антителом, которое помечено с возможностью детектирования. Меченое второе антитело служит в качестве детектирующего антитела. Уровень детектируемой метки измеряют и определяют концентрацию антигена-мишени в тестируемом образце при сравнении с калибровочной кривой, полученной на основе стандартных образцов.

Следует понимать, что на основе результатов, полученных с применением антител и активируемых антител согласно настоящему описанию и их конъюгированных версий в диагностическом тесте *in vitro*, можно определить стадию заболевания у субъекта по уровням экспрессии антигена-мишени. Для данного заболевания образцы крови забирают у субъектов с диагностированными различными стадиями прогрессирования заболевания и/или в различных моментах при терапевтическом лечении заболевания. При использовании совокупности образцов, которые дают статистически значимые результаты для каждой стадии прогрессирования или терапии, определяют диапазон концентраций антигена, который можно считать характерным для каждой стадии.

Антитело, конъюгированное антитело, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело также могут применяться в диагностических и/или визуализационных способах. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *in situ*. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *ex vivo*. Например, активируемые антитела, содержащие ферментативно расщепляемую СМ, могут применяться для обнаружения присутствия или отсутствия фермента, который способен расщеплять СМ. Такие активируемые антитела могут применяться в диагностике, которая может включать *in vivo* обнаружение (например, качественное или количественное) ферментной активности (или, в некоторых вариантах осуществления, окружения с повышенным восстановительным потенциалом, таким как восстановительный потенциал, который может обеспечить восстановление дисульфидной связи) посредством измеряемого накопления активированных антител (т.е. антител, образующихся в результате расщепления активируемого антитела) в данной клетке или ткани данного организма-хозяина. Такое накопление активированных антител указывает не только на то, что ткань экспрессирует ферментативную активность (или повышенный восстановительный потенциал в зависимости от природы СМ), но также и на то, что ткань экспрессирует мишень, с которой связывается активированное антитело.

Например, СМ может быть выбрана в качестве субстрата по меньшей мере для одной протеазы, присутствующей на участке опухоли, на участке вирусной или бактериальной инфекции в биологически ограниченном участке (например, таком как в абсцессе, в органе и т.п.) и т.п. АВ может быть таким, которое связывает антиген-мишень. С применением способов, раскрытых в настоящем изобретении, или, в соответствующих случаях, способов, известных специалисту в данной области, детектируемая метка (например, флуоресцентная метка или радиоактивная метка, или радиоактивный индикатор) может быть конъюгирована с АВ или другой областью антитела и/или активируемого антитела. Подходящие детектируемые метки обсуждаются в контексте вышеуказанных способов скрининга, при этом дополнительные определенные примеры приведены ниже. При использовании АВ, специфичного к белку или пептиду патологического состояния, вместе с по меньшей мере одной протеазой, активность которой повышена в представляющей интерес пораженной ткани, активируемые антитела продемонстрируют увеличенный уровень связывания с пораженной тканью по сравнению с тканями, в которых СМ-специфичный фермент отсутствует на поддающемся обнаружению уровне или присутствует на более низком уровне, чем в пораженной ткани, или неактивен (например, находится в форме профермента или в комплексе с ингибитором). Поскольку небольшие белки и пептиды быстро выводятся из крови системой почечной фильтрации, и поскольку фермент, специфичный к СМ, отсутствует на поддающемся обнаружению уровне (или присутствует на более низких уровнях в нормальных тканях, или присутствует в неактивной конформации), накопление активированных антител в пораженной ткани повышено по сравнению с нормальными тканями.

В другом примере активируемые антитела могут применяться для обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства в образце. Например, в случае, когда активируемые антитела содержат СМ, подверженную расщеплению ферментом, активируемые антитела могут применяться для обнаружения (качественного или количественного) присутствия фермента в образце. В другом примере, когда активируемые антитела содержат СМ, подверженную расщеплению восстановителем, активируемые антитела могут применяться для обнаружения (качественного или количественного) присутствия в образце восстанавливающих условий. Для облегчения анализа в данных способах, активируемые антитела могут быть помечены с возможностью детектирования и могут быть связаны с подложкой (например, твердой подложкой, такой как стекло или сфера). Детектируемая метка может быть расположена на части активируемого антитела, которая не высвобождается после расщепления, например, детектируемая метка может быть меткой с тушением флуоресценции или другой меткой, которая не поддается обнаружению, пока не произошло расщепление. Анализ может быть проведен, например, при контакте иммобилизованных, меченных с возможностью обнаружения активированных антител с образцом, подозреваемым на содержание фермента и/или восстановителя, в течение времени, достаточного для того, чтобы произошло расщепление, с последующей промывкой для удаления избытка образца и примесей. Присутствие или отсутствие расщепляющего средства (например, фермента или восстановителя) в образце затем оценивают по изменению детектируемого сигнала активированных антител перед контактом с образцом, например, присутствию и/или увеличению детектируемого сигнала вследствие расщепления активируемого антитела расщепляющим средством в образце.

Такие способы обнаружения могут быть также адаптированы, чтобы обеспечивать обнаружение присутствия или отсутствия мишени, которая способна к связыванию АВ активированных антител в расщепленном состоянии. Таким образом, анализы могут быть адаптированы для оценки присутствия или отсутствия расщепляющего средства и присутствия или отсутствия представляющей интерес мишени. Присутствие или отсутствие расщепляющего средства может быть обнаружено по присутствию и/или увеличению детектируемой метки активированных антител, как описано выше, и присутствие или отсутствие мишени может быть обнаружено при обнаружении комплекса мишень-АВ, например, при помощи антитела против мишени, меченного с возможностью обнаружения.



Активируемые антитела также могут применяться при визуализации *in situ* для подтверждения активации активируемого антитела, например, при расщеплении протеазой, и связывания с конкретной мишенью. Визуализация *in situ* является методикой, которая позволяет устанавливать локализацию протеолитической активности и мишени в биологических образцах, таких как культуры клеток или срезы тканей. При помощи указанной методики можно подтверждать как связывание с данной мишенью, так и протеолитическую активность по присутствию детектируемой метки (например, флуоресцентной метки).

Такие способы могут применяться с любыми замороженными клетками или тканью, полученной из пораженного участка (например, опухолевой ткани) или нормальных тканей. Такие способы также могут применяться с недавно полученными образцами клеток или тканей.

В таких методиках активируемое антитело помечено детектируемой меткой. Детектируемая метка может быть флуоресцентным красителем (например, флуорофором, флуоресцеин-изотиоцианатом (ФИТЦ), родамин-изотиоцианатом (РИТЦ), меткой Alexa Fluor®), поглощающим в ближней инфракрасной (БИК) области красителем (например, нанокристаллами Qdot®), коллоидным металлом, гаптенном, радиоактивным маркером, биотином и усиливающим реагентом, таким как стрептавидин, или ферментом (например, пероксидазой хрена или щелочной фосфатазой).

Обнаружение метки в образце, который инкубировали с меченым активируемым антителом, указывает, что образец содержит мишень и содержит протеазу, которая специфична в отношении СМ активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления присутствие протеазы может быть подтверждено при использовании ингибиторов протеаз широкого спектра, таких как ингибиторы, описанные в настоящем изобретении, и/или при помощи средства, которое является специфичным в отношении протеазы, например, антитела, такого как A11, которое является специфичным в отношении протеазы матрипазы и ингибирует протеолитическую активность матрипазы; см., например, международную публикацию WO 2010/129609, опубликованную 11 ноября 2010 года. Такой же метод применения ингибиторов протеаз широкого спектра, таких как ингибиторы, описанные в настоящем изобретении, и/или применения более селективного ингибирующего средства может применяться для идентификации протеазы, которая является специфичной в отношении СМ активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления присутствие мишени может быть подтверждено с применением средства, которое является специфичным в отношении мишени, например, другого антитела, или детектируемая метка может конкурировать с немеченой мишенью. В некоторых вариантах осуществления может применяться немеченое активируемое антитело с детектированием посредством меченого вторичного антитела или более сложной системы детектирования.

Подобные методики также могут применяться для *in vivo* визуализации, где обнаружение флуоресцентного сигнала у субъекта, например млекопитающего, в том числе человека, указывает, что пораженный участок содержит мишень и содержит протеазу, которая является специфичной в отношении СМ активируемого антитела.

Такие методики также могут применяться в наборах и/или в качестве реактивов для обнаружения, идентификации или исследования протеазной активности во множестве клеток, тканей и организмов на основе протеаза-специфичной СМ в активируемом антителе.

В настоящем описании предложены способы применения антител и/или активируемых антител в различных диагностических и/или профилактических показаниях. Например, в настоящем описании предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства и представляющей интерес мишени у субъекта или в образце посредством: (i) контакта субъекта или образца с активируемым антителом, где активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, например протеазой, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает представляющую интерес мишень, где активируемое антитело в нерасщепленном, неактивированном состоянии включает следующую структуру, от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; (a) где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с мишенью, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию и не является модифицированной формой природного партнера АВ по связыванию; и (b) где в нерасщепленном, неактивированном состоянии ММ препятствует специфичному связыванию АВ с мишенью, а в расщепленном, активированном состоянии ММ не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с мишенью; и (ii) измерения уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство и мишень присутствуют у субъекта или в образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство, мишень или расщепляющее средство и мишень отсутствуют и/или присутствуют в недостаточном количестве у субъекта или в образце. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуще-

ствления детектируемая метка помещена на АВ. В некоторых вариантах осуществления измерение уровня активируемого антитела у субъекта или в образце выполняют при использовании вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления вторичный реагент является антителом, включающим детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства у субъекта или в образце посредством: (i) контакта субъекта или образца с активируемым антителом в присутствии представляющей интерес мишени, например, мишени, где активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, например протеазой, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает представляющую интерес мишень, где активируемое антитело в нерасщепленном, неактивированном состоянии включает следующую структуру, от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; (a) где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с мишенью, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию и не является модифицированной формой природного партнера АВ по связыванию; и (b) где в нерасщепленном, неактивированном состоянии ММ препятствует специфичному связыванию АВ с мишенью, а в расщепленном, активированном состоянии ММ не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с мишенью; и (ii) измерения уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство присутствует у субъекта или в образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство отсутствует и/или присутствует в недостаточном количестве у субъекта или в образце. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка помещена на АВ. В некоторых вариантах осуществления измерение уровня активируемого антитела у субъекта или в образце выполняют при использовании вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления вторичный реагент является антителом, включающим детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены наборы для применения в способах обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства и мишени у субъекта или в образце, где наборы включают, по меньшей мере, активируемое антитело, которое включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, например протеазой, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает представляющую интерес мишень, где активируемое антитело в нерасщепленном, неактивированном состоянии включает следующую структуру, от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; (a) где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с мишенью, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию и не является модифицированной формой природного партнера АВ по связыванию; и (b) где в нерасщепленном, неактивированном состоянии ММ препятствует специфичному связыванию АВ с мишенью, а в расщепленном, активированном состоянии ММ не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с мишенью; и (ii) измерение уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство присутствует у субъекта или в образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство отсутствует и/или присутствует в недостаточном количестве у субъекта или в образце. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка помещена на АВ. В некоторых вариантах осуществления измерение уровня активируемого антитела у субъекта или в образце выполняют при использовании вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления вторичный реагент является антителом, включающим детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства у субъекта или в образце посредством: (i) контакта субъекта или образца с активируемым антителом, где активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, например протеазой, антигенсвязывающий домен (АВ), который специфично связывает мишень, и детектируемую метку, где активируемое антитело в нерасщепленном, неактивированном состоянии включает следующую структуру, от N-конца к С-

концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с мишенью, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию и не является модифицированной формой природного партнера АВ по связыванию; где в нерасщепленном, неактивированном состоянии ММ препятствует специфичному связыванию АВ с мишенью, а в расщепленном, активированном состоянии ММ не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с мишенью; и где детектируемая метка помещена на часть активируемого антитела, которая высвобождается после расщепления СМ; и (ii) измерения уровня поддающейся обнаружению метки у субъекта или в образце, где поддающийся обнаружению уровень поддающейся обнаружению метки у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство отсутствует и/или присутствует в недостаточном количестве у субъекта или в образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня поддающейся обнаружению метки у субъекта или в образце указывает, что расщепляющее средство присутствует у субъекта или в образце. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка помещена на АВ. В некоторых вариантах осуществления измерение уровня активируемого антитела у субъекта или в образце выполняют при использовании вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления вторичный реагент является антителом, включающим детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены наборы для применения в способах обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства и мишени у субъекта или в образце, где наборы включают, по меньшей мере, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело (например, активируемое антитело, с которым конъюгировано терапевтическое средство), описанное в настоящем изобретении, для применения в контакте с субъектом или биологическим образцом, и средства для обнаружения уровня активированного активируемого антитела и/или конъюгированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство и мишень присутствуют у субъекта или в биологическом образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство, мишень или расщепляющее средство и мишень отсутствуют и/или присутствуют в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце, в результате чего связывание мишени и/или расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце.

В настоящем описании также предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства у субъекта или в образце посредством: (i) контакта субъекта или биологического образца с активируемым антителом в присутствии мишени и (ii) измерения уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство присутствует у субъекта или в биологическом образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство отсутствует и/или присутствует в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце на поддающемся обнаружению уровне, в результате чего расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце. Такое активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, например протеазой, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает мишень, где активируемое антитело в нерасщепленном (т.е. неактивированном) состоянии включает следующую структуру, от N-конца к C-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; (a) где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с мишенью, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию; и (b) где ММ активируемого антитела в нерасщепленном состоянии препятствует специфичному связыванию АВ с мишенью, и где ММ активируемого антитела в расщепленном (т.е. активированном) состоянии не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с мишенью. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка присоединена к маскирующей части. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка присоединена к расщепляемой части на N-конце относительно сайта расщепления протеазой. В некоторых вариантах осуществления один антигенсвязывающий участок АВ маскирован. В некоторых вариантах осуществления, в которых антитело согласно настоящему описанию имеет по меньшей мере два антигенсвязывающих участка, по меньшей мере один антигенсвязывающий участок маскирован, и по меньшей мере один антигенсвязывающий участок не маскирован. В некоторых вариантах осуществления

маскированы все антигенсвязывающие участки. В некоторых вариантах осуществления этап измерения включает применение вторичного реагента, включающего детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены наборы для применения в способах обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства и мишени у субъекта или в образце, где наборы включают, по меньшей мере, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении, для применения в контакте субъекта или биологического образца с активируемым антителом в присутствии мишени и измерения уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство присутствует у субъекта или в биологическом образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство отсутствует и/или присутствует в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце на поддающемся обнаружению уровне, в результате чего расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце. Такое активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, например протеазой, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает мишень, где активируемое антитело в нерасщепленном (т.е. неактивированном) состоянии включает следующую структуру, от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; (а) где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с мишенью, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию; и (b) где ММ активируемого антитела в нерасщепленном состоянии препятствует специфичному связыванию АВ с мишенью, и где ММ активируемого антитела в расщепленном (т.е. активированном) состоянии не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с мишенью. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка присоединена к маскирующей части. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка присоединена к расщепляемой части на N-конце относительно сайта расщепления протеазой. В некоторых вариантах осуществления один антигенсвязывающий участок АВ маскирован. В некоторых вариантах осуществления, в которых антитело согласно настоящему описанию имеет по меньшей мере два антигенсвязывающих участка, по меньшей мере один антигенсвязывающий участок маскирован, и по меньшей мере один антигенсвязывающий участок не маскирован. В некоторых вариантах осуществления маскированы все антигенсвязывающие участки. В некоторых вариантах осуществления этап измерения включает применение вторичного реагента, включающего детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены наборы для применения в способах обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства у субъекта или в образце, где наборы включают, по меньшей мере, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении, для применения в контакте с субъектом или биологическим образцом, и средства для обнаружения уровня активированного активируемого антитела и/или конъюгированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце, где активируемое антитело включает детектируемую метку, которая помещена на часть активируемого антитела, которая высвобождается после расщепления СМ, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство отсутствует и/или присутствует в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце, в результате чего связывание мишени и/или расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце, и где отсутствие поддающегося обнаружению уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство присутствует у субъекта или в биологическом образце на поддающемся обнаружению уровне.

В настоящем описании предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства и мишени у субъекта или в образце посредством: (i) контакта субъекта или биологического образца с активируемым антителом, где активируемое антитело включает детектируемую метку, которая помещена на часть активируемого антитела, которая высвобождается после расщепления СМ, и (ii) измерения уровня активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство, мишень или расщепляющее средство и мишень отсутствуют и/или присутствуют в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце, в результате чего связывание мишени и/или расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце, и где сниженный поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство и мишень присутствуют у субъекта или в биологическом образце. Сниженный уровень поддающейся обнаружению метки является, например, снижением на приблизительно 5%, на приблизительно 10%, на приблизительно 15%, на приблизительно 20%, на приблизи-

тельно 25%, на приблизительно 30%, на приблизительно 35%, на приблизительно 40%, на приблизительно 45%, на приблизительно 50%, на приблизительно 55%, на приблизительно 60%, на приблизительно 65%, на приблизительно 70%, на приблизительно 75%, на приблизительно 80%, на приблизительно 85%, на приблизительно 90%, на приблизительно 95% и/или на приблизительно 100%. Такое активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает мишень, где активируемое антитело в нерасщепленном (т.е. неактивированном) состоянии включает следующую структуру, от N-конца к С-концу: ММ-СМ-АВ или АВ-СМ-ММ; (а) где ММ является пептидом, который ингибирует связывание АВ с мишенью, и где ММ не имеет аминокислотной последовательности природного партнера АВ по связыванию; и (б) где ММ активируемого антитела в нерасщепленном состоянии препятствует специфичному связыванию АВ с мишенью, и где ММ активируемого антитела в расщепленном (т.е. активированном) состоянии не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием АВ с мишенью. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка помещена на АВ. В некоторых вариантах осуществления измерение уровня активируемого антитела у субъекта или в образце выполняют при использовании вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления вторичный реагент является антителом, включающим детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены наборы для применения в способах обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства и мишени у субъекта или в образце, где наборы включают, по меньшей мере, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении, для применения в контакте с субъектом или биологическим образцом, и средства для обнаружения уровня активированного активируемого антитела и/или конъюгированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце, где поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство, мишень или расщепляющее средство и мишень отсутствуют и/или присутствуют в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце, в результате чего связывание мишени и/или расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце, и где сниженный поддающийся обнаружению уровень активированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство и мишень присутствуют у субъекта или в биологическом образце. Сниженный уровень поддающейся обнаружению метки является, например, снижением на приблизительно 5%, на приблизительно 10%, на приблизительно 15%, на приблизительно 20%, на приблизительно 25%, на приблизительно 30%, на приблизительно 35%, на приблизительно 40%, на приблизительно 45%, на приблизительно 50%, на приблизительно 55%, на приблизительно 60%, на приблизительно 65%, на приблизительно 70%, на приблизительно 75%, на приблизительно 80%, на приблизительно 85%, на приблизительно 90%, на приблизительно 95% и/или на приблизительно 100%.

В настоящем описании также предложены способы обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства у субъекта или в образце посредством:

(i) контакта субъекта или биологического образца с активируемым антителом, где активируемое антитело включает детектируемую метку, которая помещена на часть активируемого антитела, которая высвобождается после расщепления СМ; и

(ii) измерения уровня поддающейся обнаружению метки у субъекта или в биологическом образце, где поддающийся обнаружению уровень поддающейся обнаружению метки у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство отсутствует и/или присутствует в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце на поддающемся обнаружению уровне, в результате чего расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце, и где сниженный поддающийся обнаружению уровень поддающейся обнаружению метки у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство присутствует у субъекта или в биологическом образце.

Сниженный уровень поддающейся обнаружению метки является, например, снижением на приблизительно 5%, на приблизительно 10%, на приблизительно 15%, на приблизительно 20%, на приблизительно 25%, на приблизительно 30%, на приблизительно 35%, на приблизительно 40%, на приблизительно 45%, на приблизительно 50%, на приблизительно 55%, на приблизительно 60%, на приблизительно 65%, на приблизительно 70%, на приблизительно 75%, на приблизительно 80%, на приблизительно 85%, на приблизительно 90%, на приблизительно 95% и/или на приблизительно 100%. Такое активируемое антитело включает маскирующую часть (ММ), расщепляемую часть (СМ), которая расщепляется расщепляющим средством, и антигенсвязывающий домен или его фрагмент (АВ), который специфично связывает мишень, где активируемое антитело в нерасщепленном (т.е. неактивированном) состоянии включает

следующую структуру, от N-конца к C-концу: MM-CM-AB или AB-CM-MM; (a) где MM является пептидом, который ингибирует связывание AB с мишенью, и где MM не имеет аминокислотной последовательности природного партнера AB по связыванию; и (b) где MM активируемого антитела в нерасщепленном состоянии препятствует специфичному связыванию AB с мишенью, и где MM активируемого антитела в расщепленном (т.е. активированном) состоянии не препятствует или не конкурирует со специфичным связыванием AB с мишенью. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка помещена на AB. В некоторых вариантах осуществления измерение уровня активируемого антитела у субъекта или в образце выполняют при использовании вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления вторичным реагентом является антитело, включающее детектируемую метку.

В настоящем описании также предложены наборы для применения в способах обнаружения присутствия или отсутствия представляющего интерес расщепляющего средства у субъекта или в образце, где наборы включают, по меньшей мере, активируемое антитело и/или конъюгированное активируемое антитело, описанное в настоящем изобретении, для применения в контакте с субъектом или биологическим образцом, и средства для обнаружения уровня активированного активируемого антитела и/или конъюгированного активируемого антитела у субъекта или в биологическом образце, где активируемое антитело включает детектируемую метку, которая помещена на часть активируемого антитела, которая высвобождается после расщепления CM, где поддающийся обнаружению уровень поддающейся обнаружению метки у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство, мишень или расщепляющее средство и мишень отсутствуют и/или присутствуют в недостаточном количестве у субъекта или в биологическом образце, в результате чего связывание мишени и/или расщепление протеазой активируемого антитела невозможно обнаружить у субъекта или в биологическом образце, и где сниженный поддающийся обнаружению уровень поддающейся обнаружению метки у субъекта или в биологическом образце указывает, что расщепляющее средство и мишень присутствуют у субъекта или в биологическом образце. Сниженный уровень поддающейся обнаружению метки является, например, снижением на приблизительно 5%, на приблизительно 10%, на приблизительно 15%, на приблизительно 20%, на приблизительно 25%, на приблизительно 30%, на приблизительно 35%, на приблизительно 40%, на приблизительно 45%, на приблизительно 50%, на приблизительно 55%, на приблизительно 60%, на приблизительно 65%, на приблизительно 70%, на приблизительно 75%, на приблизительно 80%, на приблизительно 85%, на приблизительно 90%, на приблизительно 95% и/или на приблизительно 100%.

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов активируемое антитело включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов детектируемая метка включает визуализирующее средство, контрастирующее средство, фермент, флуоресцентную метку, хромофор, краситель, ионы одного или более металлов или метку на основе лиганда. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов визуализирующее средство включает радиоизотоп. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов радиоизотопом является индий или технеций. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов контрастирующее средство включает иод, гадолиний или оксид железа. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов фермент включает пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу или р-галактозидазу. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов флуоресцентная метка включает желтый флуоресцентный белок (YFP), сине-зеленый флуоресцентный белок (CFP), зеленый флуоресцентный белок (GFP), модифицированный красный флуоресцентный белок (mRFP), красный флуоресцентный белок tdimer2 (RFP tdimer2), HCRED или производное европия. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов люминесцентная метка включает производное N-метилакридиния. В некоторых вариантах осуществления указанных способов метка включает метку Alexa Fluor®, такую как Alexa Fluor® 680 или Alexa Fluor® 750. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов метка на основе лиганда включает биотин, авидин, стрептавидин или один или более гаптеннов.

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов субъект является млекопитающим. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов субъект является человеком. В некоторых вариантах осуществления субъект является не относящимся к человеку млекопитающим, таким как не относящийся к человеку примат, домашнее животное (например, кошка, собака, лошадь), сельскохозяйственное животное, рабочее животное или животное зоопарка. В некоторых вариантах осуществления субъект является грызуном.

В некоторых вариантах осуществления указанных способов способ является способом *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления указанных способов способ является способом *in situ*. В некоторых вариантах осуществления указанных способов способ является способом *ex vivo*. В некоторых вариантах осуществления указанных способов способ является способом *in vitro*.

В некоторых вариантах осуществления визуализация *in situ* и/или визуализация *in vivo* могут применяться в способах определения, каких больных требуется лечить. Например, при визуализации *in situ*, активируемые антитела применяют для скрининга образцов больных с целью определения больных, имеющих соответствующую протеазу(ы) и мишень(и) в соответствующем местоположении, например, в области опухоли.

В некоторых вариантах осуществления визуализация *in situ* применяется для определения или иного уточнения совокупности больных, подходящих для лечения активируемым антителом согласно настоящему описанию. Например, больных, которые показывают положительный результат анализа на мишень (например, мишень) и протеазу, которая расщепляет субстрат по расщепляемой части (СМ) тестируемого активируемого антитела (например, активированные антитела накапливаются в пораженном участке), идентифицируют как подходящих кандидатов для лечения таким активируемым антителом, включающим такую СМ. Аналогичным образом, больных, которые показывают отрицательный результат анализа на мишень (например, мишень) и/или протеазу, которая расщепляет субстрат в СМ в активируемом антителе, тестируемом с применением таких способов, можно идентифицировать как подходящих кандидатов для другой формы терапии. В некоторых вариантах осуществления таких больных, которые показывают отрицательный результат в отношении первого активируемого антитела, можно тестировать с другими активируемыми антителами, включающими разные СМ, пока не будет идентифицировано подходящее активируемое антитело для лечения (например, активируемое антитело, включающее СМ, которая расщепляется в организме больного в пораженном участке). В некоторых вариантах осуществления больному затем вводят терапевтически эффективное количество активируемого антитела, в отношении которого больной показал положительный результат.

В некоторых вариантах осуществления визуализация *in vivo* применяется для определения или иного уточнения совокупности больных, подходящих для лечения активируемым антителом согласно настоящему описанию. Например, больных, которые показывают положительный результат на мишень (например, мишень) и протеазу, которая расщепляет субстрат по расщепляемой части (СМ) тестируемого активируемого антитела (например, активированные антитела накапливаются в пораженном участке), идентифицируют как подходящих кандидатов для лечения таким активируемым антителом, включающим такую СМ. Аналогичным образом, больные, которые показывают отрицательный результат, могут быть идентифицированы как подходящие кандидаты для другой формы терапии. В некоторых вариантах осуществления таких больных, которые показывают отрицательный результат в отношении первого активируемого антитела, можно тестировать с другими активируемыми антителами, включающими разные СМ, пока не будет идентифицировано подходящее активируемое антитело для лечения (например, активируемое антитело, включающее СМ, которая расщепляется в организме больного в пораженном участке). В некоторых вариантах осуществления больному затем вводят терапевтически эффективное количество активируемого антитела, в отношении которого больной показал положительный результат.

В некоторых вариантах осуществления способов и наборов, способы или наборы применяются для определения или иного уточнения совокупности больных, подходящих для лечения активируемым антителом согласно настоящему описанию. Например, больных, которые показывают положительный результат на мишень (например, мишень) и протеазу, которая расщепляет субстрат в расщепляемой части (СМ) активируемого антитела, тестируемого в данных способах, идентифицируют как подходящих кандидатов для лечения таким активируемым антителом, включающим такую СМ. Аналогичным образом, больных, которые показывают отрицательный результат на мишень (например, мишень) и протеазу, которая расщепляет субстрат в СМ в активируемом антителе, тестируемом с применением таких способов, можно идентифицировать как подходящих кандидатов для другой формы терапии. В некоторых вариантах осуществления таких больных можно тестировать с другими активируемыми антителами, пока не будет определено подходящее активируемое антитело для лечения (например, активируемое антитело, включающее СМ, которая расщепляется в организме больного в пораженном участке). В некоторых вариантах осуществления больных, которые показывают отрицательный результат на какую-либо мишень (например, мишень), идентифицируют как подходящих кандидатов для лечения таким активируемым антителом, включающим такую СМ. В некоторых вариантах осуществления больных, которые показывают отрицательный результат на какую-либо мишень (например, мишень), идентифицируют как неподходящих кандидатов для лечения таким активируемым антителом, включающим такую СМ. В некоторых вариантах осуществления таких больных можно тестировать с другими активируемыми антителами, пока не будет определено подходящее активируемое антитело для лечения (например, активируемое антитело, включающее СМ, которая расщепляется в организме больного в пораженном участке). В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело является активируемым антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не конъюгировано со средством. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления детектируемая метка помещена на АВ. В некоторых вариантах осуществления измерения уровня активируемого антитела у субъекта или в образце выполняют при использовании вторичного реагента, который специфично связывается с активированным антителом, где реагент включает детектируемую метку. В некоторых вариантах осуществления

вторичный реагент является антителом, включающим детектируемую метку.

В некоторых вариантах осуществления способ или набор применяются для определения или иного уточнения совокупности больных, подходящих для лечения активированным антителом против мишени и/или конъюгированным активированным антителом (например, активированным антителом, с которым конъюгировано терапевтическое средство) согласно настоящему описанию, с последующим лечением путем введения активированного антитела и/или конъюгированного активированного антитела нуждающемуся в этом субъекту. Например, больных, которые показывают положительный результат на мишень (например, мишень) и протеазу, которая расщепляет субстрат в расщепляемой части (СМ) активированного антитела и/или конъюгированного активированного антитела, тестируемого в данных способах, идентифицируют как подходящих кандидатов для лечения таким антителом и/или таким конъюгированным активированным антителом, включающим такую СМ, и затем больному вводят терапевтически эффективное количество активированного антитела и/или конъюгированного активированного антитела, которое тестировали. Аналогичным образом, больные, которые показывают отрицательный результат на мишень (например, мишень) и/или протеазу, которая расщепляет субстрат в СМ в активированном антителе, тестируемом с применением таких способов, могут быть идентифицированы как подходящие кандидаты для другой формы терапии. В некоторых вариантах осуществления таких больных можно тестировать с другим антителом и/или конъюгированным активированным антителом до определения подходящего антитела и/или конъюгированного активированного антитела для лечения (например, активированного антитела и/или конъюгированного активированного антитела, включающего СМ, которая расщепляется в организме больного в пораженном участке). В некоторых вариантах осуществления больному затем вводят терапевтически эффективное количество активированного антитела и/или конъюгированного активированного антитела, в отношении которого больной показал положительный результат.

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов, ММ является пептидом, имеющим длину от приблизительно 4 до 40 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов активированное антитело включает линкерный пептид, где линкерный пептид расположен между ММ и СМ. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов активированное антитело включает линкерный пептид, где линкерный пептид расположен между АВ и СМ. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов активированное антитело включает первый линкерный пептид (L1) и второй линкерный пептид (L2), где первый линкерный пептид расположен между ММ и СМ, а второй линкерный пептид расположен между АВ и СМ. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов каждый из L1 и L2 является пептидом длиной приблизительно 1-20 аминокислот, и где каждый из L1 и L2 не должен обязательно быть одним и тем же линкером. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов один или оба L1 и L2 включают глицин-сериновый полимер. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов по меньшей мере один из L1 и L2 включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из (GS)<sub>n</sub>, (GSGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 363) и (GGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 364), где n является целым числом, равным по меньшей мере единице. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов по меньшей мере один из L1 и L2 включает аминокислотную последовательность, имеющую формулу (GGS)<sub>n</sub>, где n является целым числом, равным по меньшей мере единице. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов по меньшей мере один из L1 и L2 включает аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из GGS (SEQ ID NO: 365), GGSG (SEQ ID NO: 366), GSGSG (SEQ ID NO: 367), GSGGG (SEQ ID NO: 368), GGGSG (SEQ ID NO: 369) и GSSSG (SEQ ID NO: 370).

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов, АВ включает последовательность антитела или фрагмента антитела, выбранную из перекрестно-реактивных последовательностей антител, представленных в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов, АВ включает Fab-фрагмент, scFv или одноцепочечное антитело (scAb).

В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов расщепляющее средство является протеазой, которая локализована у субъекта или в образце с мишенью, и СМ является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы, где протеаза расщепляет СМ в активированном антителе, когда активированное антитело подвергается воздействию протеазы. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов, СМ является полипептидом длиной до 15 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов, СМ соединена с N-концом АВ. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов, СМ соединена с C-концом АВ. В некоторых вариантах осуществления указанных способов и наборов, СМ соединена с N-концом VL цепи АВ.

Антитела и/или активированные антитела согласно настоящему описанию применяются в диагностических и профилактических лекарственных формах. В одном варианте осуществления активированное антитело вводят пациентам, которые подвергаются риску развития одного или более из вышеуказанных воспалений, воспалительных нарушений, рака или других нарушений.

Предрасположенность пациента или органа к одному или более вышеуказанным нарушениям может быть определена при использовании генотипических, серологических или биохимических маркеров.



В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему описанию, антитела и/или активируемые антитела вводят людям с диагностированным клиническим показанием, связанным с одним или более вышеуказанными нарушениями. После диагностики антитело и/или активируемое антитело вводят для уменьшения тяжести или устранения эффектов клинического показания.

Антитела и/или активируемые антитела согласно настоящему описанию также могут применяться при обнаружении мишени в образцах больных и, соответственно, могут применяться в качестве диагностических средств. Например, антитела и/или активируемые антитела согласно настоящему описанию применяются в анализах *in vitro*, например ELISA, для определения уровней мишени в образце больного.

В некоторых вариантах осуществления антитела против PDL1 применяются в качестве диагностического средства у больных, которые с более высокой вероятностью будут благоприятно отвечать на лечение антителом против PD-1 и/или активируемым антителом согласно настоящему описанию. В таких вариантах осуществления экспрессию PD-L1 в биоптатах опухоли на опухолевых клетках и инфильтрирующих иммунных клетках и экспрессию PD-L1 на иммунных клетках в крови используют для определения присутствия активного иммунитета и, таким образом, потенциала для супрессии активности Т-клеток в результате связывания PD-1 с PD-L1.

В одном варианте осуществления антитело и/или активируемое антитело согласно настоящему описанию иммобилизованы на твердой подложке (например, лунке(ах) микротитровального планшета). Иммобилизованное антитело и/или активируемое антитело служат в качестве захватывающего антитела для любой мишени, которая может присутствовать в исследуемом образце. Перед контактом иммобилизованного антитела и/или активируемого антитела с образцом больного твердую подложку промывают и обрабатывают блокирующим реагентом, таким как молочный белок или альбумин, для предотвращения неспецифичной адсорбции аналита.

Затем лунки обрабатывают тестируемым образцом, подозреваемым на содержание антигена, или раствором, содержащим стандартное количество антигена. Такой образец является, например, образцом сыворотки субъекта, подозреваемого на наличие уровней циркулирующего антигена, которые считают диагностическим критерием наличия патологии. После удаления тестируемого образца или стандарта при промывке, твердую подложку обрабатывают вторым антителом, которое помечено с возможностью детектирования. Меченое второе антитело служит в качестве детектирующего антитела. Уровень детектируемой метки измеряют и определяют концентрацию антигена-мишени в тестируемом образце при сравнении с калибровочной кривой, полученной на основе стандартных образцов.

Следует понимать, что на основе результатов, полученных с применением антител и/или активируемых антител согласно настоящему описанию в диагностическом тесте *in vitro*, можно определить стадию заболевания у субъекта по уровням экспрессии антигена-мишени. Для данного заболевания образцы крови забирают у субъектов с диагностированными различными стадиями прогрессирования заболевания и/или в различных моментах при терапевтическом лечении заболевания. При использовании совокупности образцов, которые дают статистически значимые результаты для каждой стадии прогрессирования или терапии, определяют диапазон концентраций антигена, который можно считать характерным для каждой стадии.

Антитела, конъюгированные антитела, активируемые антитела и/или конъюгированные активируемые антитела также могут применяться в диагностических и/или визуализационных способах. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *in vitro*. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *in situ*. В некоторых вариантах осуществления такие способы являются способами *ex vivo*. Например, активируемые антитела, содержащие ферментативно расщепляемую СМ, могут применяться для обнаружения присутствия или отсутствия фермента, который способен расщеплять СМ. Такие активируемые антитела могут применяться в диагностике, которая может включать *in vivo* обнаружение (например, качественное или количественное) ферментной активности (или, в некоторых вариантах осуществления, окружения с повышенным восстановительным потенциалом, таким как восстановительный потенциал, который может обеспечить восстановление дисульфидной связи) посредством измеряемого накопления активированных антител (т.е. антител, образующихся в результате расщепления активируемого антитела) в данной клетке или ткани данного организма-хозяина. Такое накопление активированных антител указывает не только на то, что ткань экспрессирует ферментативную активность (или повышенный восстановительный потенциал в зависимости от природы СМ), но также и на то, что ткань экспрессирует мишень, с которой связывается активированное антитело.

Например, СМ может быть выбрана в качестве субстрата протеазы, присутствующей на участке опухоли, на участке вирусной или бактериальной инфекции в биологически ограниченном участке (например, таком как в абсцессе, в органе и т.п.) и т.п. АВ может быть таким, которое связывает антиген-мишень. С применением способов, известных специалисту в данной области, детектируемая метка (например, флуоресцентная метка или радиоактивная метка, или радиоактивный индикатор) могут быть конъюгированы с АВ или другой областью активируемого антитела. Подходящие детектируемые метки обсуждаются в контексте вышеуказанных способов скрининга, при этом дополнительные определенные примеры приведены ниже. При использовании АВ, специфичного к белку или пептиду патологического

состояния, вместе с по меньшей мере одной протеазой, активность которой повышена в представляющей интерес пораженной ткани, активируемые антитела продемонстрируют увеличенный уровень связывания с пораженной тканью по сравнению с тканями, в которых СМ-специфичный фермент отсутствует на поддающемся обнаружению уровне или присутствует на более низком уровне, чем в пораженной ткани, или неактивен (например, находится в форме профермента или в комплексе с ингибитором). Поскольку небольшие белки и пептиды быстро выводятся из крови системой почечной фильтрации, и поскольку фермент, специфичный к СМ, отсутствует на поддающемся обнаружению уровне (или присутствует на более низких уровнях в нормальных тканях, или присутствует в неактивной конформации), накопление активированных антител в пораженной ткани повышено по сравнению с нормальными тканями.

В другом примере активируемые антитела могут применяться для обнаружения присутствия или отсутствия расщепляющего средства в образце. Например, в случае, когда активируемые антитела содержат СМ, подверженную расщеплению ферментом, активируемые антитела могут применяться для обнаружения (качественного или количественного) присутствия фермента в образце. В другом примере, когда активируемые антитела содержат СМ, подверженную расщеплению восстановителем, активируемые антитела могут применяться для обнаружения (качественного или количественного) присутствия в образце восстанавливающих условий. Для облегчения анализа в данных способах, активируемые антитела могут быть помечены с возможностью детектирования и могут быть связаны с подложкой (например, твердой подложкой, такой как стекло или сфера). Детектируемая метка может быть расположена на части активируемого антитела, которая не высвобождается после расщепления, например, детектируемая метка может быть меткой с тушением флуоресценции или другой меткой, которая не поддается обнаружению, пока не произошло расщепление. Анализ может быть проведен, например, при контакте иммобилизованных, меченных с возможностью обнаружения активируемых антител с образцом, подозреваемым на содержание фермента и/или восстановителя, в течение времени, достаточного для того, чтобы произошло расщепление, с последующей промывкой для удаления избытка образца и примесей. Присутствие или отсутствие расщепляющего средства (например, фермента или восстановителя) в образце затем оценивают по изменению детектируемого сигнала активируемых антител перед контактом с образцом, например, присутствию и/или увеличению детектируемого сигнала вследствие расщепления активируемого антитела расщепляющим средством в образце.

Такие способы обнаружения могут быть также адаптированы, чтобы обеспечивать обнаружение присутствия или отсутствия мишени, которая способна к связыванию АВ активируемых антител в расщепленном состоянии. Таким образом, анализы могут быть адаптированы для оценки присутствия или отсутствия расщепляющего средства и присутствия или отсутствия представляющей интерес мишени. Присутствие или отсутствие расщепляющего средства может быть обнаружено по присутствию и/или увеличению детектируемой метки активируемых антител, как описано выше, и присутствие или отсутствие мишени может быть обнаружено при обнаружении комплекса мишень-АВ, например, при помощи антитела против мишени, меченного с возможностью обнаружения.

Активируемые антитела также могут применяться при визуализации *in situ* для подтверждения активации активируемого антитела, например, при расщеплении протеазой, и связывания с конкретной мишенью. Визуализация *in situ* является методикой, которая позволяет устанавливать локализацию протеолитической активности и мишени в биологических образцах, таких как культуры клеток или срезы тканей. При помощи указанной методики можно подтверждать как связывание с данной мишенью, так и протеолитическую активность по присутствию детектируемой метки (например, флуоресцентной метки).

Такие методики могут применяться с любыми замороженными клетками или тканью, полученной из пораженного участка (например, опухолевой ткани) или нормальных тканей. Такие методики также могут применяться с недавно полученными образцами клеток или тканей.

В таких методиках активируемое антитело помечено детектируемой меткой. Детектируемая метка может быть флуоресцентным красителем (например, флуоресцеин-изотиоцианатом (ФИТЦ), родамин-изотиоцианатом (ТРИТЦ)), поглощающим в ближней инфракрасной (БИК) области красителем (например, нанокристаллами Qdot®), коллоидным металлом, гаптенем, радиоактивным маркером, биотином и усиливающим реагентом, таким как стрептавидин, или ферментом (например, пероксидазой хрена или щелочной фосфатазой).

Обнаружение метки в образце, который инкубировали с меченым активируемым антителом, указывает, что образец содержит мишень и содержит протеазу, которая специфична в отношении СМ активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления присутствие протеазы может быть подтверждено при использовании ингибиторов протеаз широкого спектра, таких как ингибиторы, описанные в настоящем изобретении, и/или при помощи средства, которое является специфичным в отношении протеазы, например, антитела, такого как А11, которое является специфичным в отношении протеазы матриптазы и ингибирует протеолитическую активность матриптазы; см., например, международную публикацию WO 2010/129609, опубликованную 11 ноября 2010 года. Такой же метод применения ингибиторов протеаз широкого спектра, таких как ингибиторы, описанные в настоящем изобретении, и/или применения более селективного ингибирующего средства может применяться для идентификации протеазы или класса протеаз, которые являются специфичными в отношении СМ активируемого антитела. В неко-

торых вариантах осуществления присутствие мишени может быть подтверждено с применением средства, которое является специфичным в отношении мишени, например, другого антитела, или детектируемая метка может конкурировать с немеченой мишенью. В некоторых вариантах осуществления может применяться немеченое активируемое антитело с детектированием посредством меченого вторичного антитела или более сложной системы детектирования.

Подобные методики также могут применяться для *in vivo* визуализации, где обнаружение флуоресцентного сигнала у субъекта, например млекопитающего, в том числе человека, указывает, что пораженный участок содержит мишень и содержит протеазу, которая является специфичной в отношении СМ активируемого антитела.

Такие методики также могут применяться в наборах и/или в качестве реактивов для обнаружения, идентификации или исследования протеазной активности во множестве клеток, тканей и организмов на основе протеаза-специфичной СМ в активируемом антителе.

В некоторых вариантах осуществления визуализация *in situ* и/или визуализация *in vivo* может применяться в способах идентификации пациентов, которым требуется лечение. Например, при визуализации *in situ*, активируемые антитела применяются для скрининга образцов пациентов, чтобы идентифицировать пациентов, имеющих соответствующую протеазу(ы) и мишень(и) в соответствующем местоположении, например, в области опухоли.

В некоторых вариантах осуществления визуализация *in situ* применяется для определения или иного уточнения совокупности больных, подходящих для лечения активируемым антителом согласно настоящему описанию. Например, больных, которые показывают положительный результат на мишень и протеазу, которая расщепляет субстрат в расщепляемой части (СМ) тестируемого активируемого антитела (например, активированные антитела накапливаются в пораженном участке), идентифицируют как подходящих кандидатов для лечения таким активируемым антителом, включающим такую СМ. Аналогичным образом, больных, которые показывают отрицательный результат на мишень и/или протеазу, которая расщепляет субстрат в СМ в активируемом антителе, тестируемом с применением таких способов, идентифицируют как подходящих кандидатов для другой формы терапии (т.е. не подходящих для лечения тестируемым активируемым антителом). В некоторых вариантах осуществления таких больных, которые показывают отрицательный результат в отношении первого активируемого антитела, можно тестировать с другими активируемыми антителами, включающими разные СМ, пока не будет определено подходящее активируемое антитело для лечения (например, активируемое антитело, включающее СМ, которая расщепляется в организме больного в пораженном участке).

В некоторых вариантах осуществления визуализация *in vivo* применяется для определения или иного уточнения совокупности больных, подходящих для лечения активируемым антителом согласно настоящему описанию. Например, больных, которые показывают положительный результат на мишень и протеазу, которая расщепляет субстрат в расщепляемой части (СМ) тестируемого активируемого антитела (например, активированные антитела накапливаются в пораженном участке), идентифицируют как подходящих кандидатов для лечения таким активируемым антителом, включающим такую СМ. Аналогичным образом, больных, которые показывают отрицательный результат, идентифицируют как подходящих кандидатов для другой формы терапии (т.е. не подходящих для лечения тестируемым активируемым антителом). В некоторых вариантах осуществления таких больных, которые показывают отрицательный результат в отношении первого активируемого антитела, можно тестировать с другими активируемыми антителами, включающими разные СМ, пока не будет определено подходящее активируемое антитело для лечения (например, активируемое антитело, включающее СМ, которая расщепляется в организме больного в пораженном участке). Фармацевтические композиции антитела и/или активируемые антитела согласно настоящему описанию (также указанные в настоящем изобретении как "активные соединения"), и их производные, фрагменты, аналоги и гомологи могут быть включены в фармацевтические композиции, подходящие для введения. Такие композиции, как правило, включают антитело и/или активируемое антитело и фармацевтически приемлемый носитель. При использовании в настоящем описании предполагается, что термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые возможные растворители, дисперсионные среды, покрытия, противобактериальные и противогрибковые средства, изотонические вещества и вещества, задерживающие абсорбцию, и т.п., совместимые с фармацевтическим применением. Подходящие носители описаны в новом выпуске Remington's Pharmaceutical Sciences, стандартного справочного текста в данной области, который включен в настоящую заявку посредством отсылки. Подходящие примеры таких носителей или разбавителей включают, без ограничения перечисленными, воду, раствор хлорида натрия, растворы Рингера, раствор декстрозы и 5% человеческий сувороточный альбумин. Также могут использоваться липосомы и неводные растворители, такие как нелетучие масла. Применение таких сред и средств для фармацевтически активных веществ известно в уровне техники. За исключением тех случаев, когда стандартные среды или средство несовместимы с активным соединением, предусмотрено их применение в композициях. Дополнительные активные соединения также могут быть включены в композиции.

Фармацевтическая композиция согласно настоящему описанию имеет такой состав, который соответствует ее предполагаемому пути введения. Примеры путей введения включают парентеральное, на-

пример внутривенное, внутрикожное, подкожное, пероральное (например, ингаляцию), чрескожное (т.е. наружное), чресслизистое и ректальное введение. Растворы или суспензии, применяемые для парентерального, внутрикожного или подкожного применения, могут включать следующие компоненты: стерильный разбавитель, такой как воду для инъекций, физиологический раствор, нелетучие масла, полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие синтетические растворители; противобактериальные средства, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновую кислоту или бисульфит натрия; хелатообразующие вещества, такие как этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА); буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты, и вещества для регулирования тоничности, такие как хлорид натрия или декстрозу. Показатель pH можно регулировать кислотами или основаниями, такими как соляная кислота или гидроксид натрия. Препарат для парентерального применения может быть заключен в ампулы, шприцы для одноразового применения или многодозовые флаконы, изготовленные из стекла или пластмассы.

Фармацевтические композиции, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы (при растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для экстенпорального приготовления стерильных растворов или дисперсии для инъекций. Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, Stenophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) или фосфатно-солевой буферный раствор (PBS). Во всех случаях композиция должна быть стерильной и должна быть текучей до такой степени, чтобы присутствовала возможность легкого применения с помощью шприца. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть предохранена от контаминирующего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может быть растворителем или дисперсионной средой, содержащей, например, воду, этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль, и т.п.) и их подходящие смеси. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, при помощи покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и при помощи поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может быть достигнуто с помощью различных противобактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п. В некоторых вариантах осуществления потребуется включение изотонических средств, например Сахаров, полиспиртов, таких как маннит, сорбит, хлорид натрия, в композиции. Пролонгированная абсорбция композиций для инъекций может быть получена при включении в композицию вещества, которое задерживает абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены путем включения действующего соединения в необходимом количестве в подходящий растворитель с одним или комбинацией компонентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрованием. Обычно дисперсии изготавливают путем включения действующего соединения в стерильный растворитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые компоненты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций способы изготовления включают вакуумную сушку и лиофильную сушку, которые позволяют получить порошок действующего вещества плюс любой дополнительный требуемый компонент из его предварительно простерилизованного фильтрованием раствора.

Композиции для перорального применения обычно включают инертный разбавитель или носитель для приема внутрь.

Они могут быть заключены в желатиновые капсулы или спрессованы в таблетки. Для перорального введения терапевтического средства действующее соединение может быть включено в состав с вспомогательными веществами и может применяться в форме таблеток, пастилок или капсул. Композиции для перорального применения также могут быть изготовлены при использовании текучего носителя для применения в качестве средства для полоскания рта, в котором соединение в текучем носителе применяют в полости рта и полощут и сплевывают или глотают. Фармацевтически совместимые связующие вещества и/или вспомогательные материалы могут быть включены в качестве части композиции. Таблетки, пилюли, капсулы, пастилки и т.п. могут содержать любой из следующих компонентов или соединений аналогичного характера: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагакант или желатин; вспомогательное вещество, такое как крахмал или лактоза, разрыхлитель, такой как альгиновая кислота, примогель или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния или Sterotes; скользящее вещество, такое как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизатор, такой как мята, метилсалицилат или апельсиновый ароматизатор.

Для ингаляционного применения соединения доставляют в форме аэрозольного спрея из контейнера под давлением или дозатора, который содержит подходящий пропеллент, например, газ, такой как углекислый газ, или небулайзера.

Системное введение также может быть проведено чресслизистым или чрескожным путями. В случае чресслизистого или чрескожного введения, в лекарственной форме используют способствующие проникновению вещества, которые соответствуют барьеру, через который требуется проникнуть. Такие

способствующие проникновению вещества широко известны в уровне техники и включают, например для чресслизистого введения, детергенты, соли желчных кислот и производные фузидовой кислоты. Чресслизистое введение может быть выполнено с помощью назальных спреев или суппозитория. В случае чрескожного введения действующие соединения включают в состав мазей, бальзамов, гелей или кремов, как известно в уровне техники.

Соединения также могут быть изготовлены в форме суппозитория (например, со стандартными суппозиторными основами, такими как масло какао и другие глицериды) или удерживаемых микроклизм для ректальной доставки.

В одном варианте осуществления действующие соединения приготавливают с носителями, которые защищают соединение от быстрого выведения из организма, например, в виде лекарственной формы с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микроинкапсулированные системы доставки. Могут применяться биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этилен-винилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфирные и полимолочная кислота. Способы изготовления таких лекарственных форм будут очевидны специалистам. Материалы также могут быть получены коммерчески из Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc. Липосомальные суспензии (включающие липосомы, направленно взаимодействующие с инфицированными клетками посредством моноклональных антител к вирусным антигенам) также могут применяться в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Они могут быть изготовлены согласно способам, известным специалистам в данной области, например, как описано в патенте США 4,522,811.

Наиболее предпочтительно изготавливать композиции для перорального или парентерального применения в стандартной лекарственной форме для удобства введения и единообразия дозирования. Стандартная лекарственная форма при использовании в настоящем изобретении относится к физически дискретным единицам, которым подходят в качестве однократных доз для субъекта, подлежащего лечению; каждая единица содержит заданное количество действующего соединения, вычисленное так, чтобы оно оказывало требуемое терапевтическое воздействие, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Требования для стандартных лекарственных форм согласно настоящему описанию продиктованы и непосредственно зависят от уникальных особенностей действующего соединения, а также конкретного терапевтического эффекта, который требуется достичь, и ограничений, характерных в области изготовления композиций такого действующего соединения для лечения людей.

Фармацевтические композиции могут быть включены в контейнер, упаковку или дозатор вместе с инструкциями по применению.

Далее изобретение будет описано в следующих примерах, которые не ограничивают объем изобретения, описанный в формуле изобретения.

### Примеры

Пример 1. Создание мышиных антител согласно вариантам осуществления, которые связывают человеческий PD-1 и блокируют связывание hPD-L1 и hPD-L2 с человеческим PD-1.

В данном примере продемонстрировано, что мышиные антитела согласно настоящему описанию, которые связывают человеческий PD-1, могут быть выделены из гибридом, полученных при иммунизации мышей рекомбинантным человеческим белком PD-1, и что такое связывание может ингибировать связывание PD-1 с PDL1 и PDL2.

Шесть самок мышей NZBWF1/J (Jackson Laboratories, Sacramento, CA; кат. 100008) иммунизировали в правый бок рекомбинантным человеческим PD-1 (Sino Biological, Beijing, P.R. Chin; кат. ABIN2181605) в дни 0, 7 и 21. В день 28 у иммунизированных мышей забирали сыворотку и измеряли связывание с HEK293-hPD-1 (клетки, трансфицированные вектором экспрессии, кодирующим человеческий PD-1 (Origene, кат. SC117011)). Все шесть мышей показали положительное связывание. Спленоциты выделяли у мышей 1, 3 и 6 и подвергали слиянию с мышиными В-клетками SP0; аналогичным образом, спленоциты выделяли у мышей 2, 4 и 5 и подвергали слиянию с В-клетками мыши SP0, с получением пулов гибридом, m136 и m245. Пулы гибридом, m136 и m245, полученные в результате двух указанных слияний, сеяли с получением моноклональных культур и исследовали супернатанты клональных культур на антитела, способные к связыванию с клетками HEK293-hPD-1, но не с нетрансфицированными клетками HEK293. Клоны гибридом, экспрессирующие антитела против PD-1, отбирали для последующего анализа.

Последовательности антител, применяемых в исследованиях, представленных в настоящем изобретении, показаны ниже:

m136-M13-MHC723 mIgG1/K MHC723HC.1 Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:

EVKLVESGGGLVKGPGGSLKLSCAASGFTFSGYAMSWVRQTPAKRLEWVAYISNSGGNAH

YPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLSRSEDTAMYCYCTRE~~DY~~GTSPFVYWGQGLVTVSA

(SEQ ID NO: 1)

MHC723HC.1 Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:

GAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAACCTGGAGGGTCCCTGAAACT  
 CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTGGCTATGCCATGTCTTGGGTTCCGAGACTCCG  
 GCGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTAGTAATAGTGGTGGTAACGCCCACTATCCAGACA  
 GTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCCTATACCTGCAAATGAG  
 CAGTCTGAGGCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTACAAGAGAGACTACGGTACTAGTCCT  
 TTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 2)

**МНС723LC.3 Аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи:**

DIVLTQSPASLAVSLGQRTTISCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPKLLIYAASNOG  
SGVPARFSGSGSDTDFSLNIHPMEEDTAVYFCQSKDVPWTFGGGTKLEIR (SEQ ID NO:  
 3)

**МНС723LC.3 Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области легкой цепи:**

GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTGGCTGTGTCTCTGGGCAGAGACCAC  
 CATCTCCTGCAGAGCCAGCGAAAGTGTGATAATTATGGCATTAGTTTTATGAACTGGTTC  
 CAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAACCAAGGATCCGGGGTCC  
 CTGCCAGTTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTATGGAGGA  
 GGATGATACTGCAGTGTATTTCTGTGCAAGTAAGGACGTTCCTGGACGTTCCGTTGGAGGG  
 ACCAAGCTGGAAATCAGAC (SEQ ID NO: 4)

**m136-M19 - МНС725 mIgG2b/К МНС725НС.2 Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVQLQQSGPELVKPGDSVKMSCKASGYTFDYYMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPKNGGSS  
 YNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCARKVVATDYWGQGTTLTVSS (SEQ  
 ID NO: 5)

**МНС725НС.2 Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAGGTCCAGCTGCACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGATTCACTGAAGAT  
 GTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATCACTGACTACTACATGGACTGGGTGAAGCAGAGCCAT  
 GGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTTATCCTAAAAATGGTGGTTCAGCTACAATCAGA  
 AGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCCA  
 CAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAAGGTCGTAGCTACGGACTAC  
 TGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 6)

**МНС725LC.2 Аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи:**

DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSKSSQSLLYSSNQKNYLAWYQQKPGQSPKLLIFWASI  
RESGVDPDRFTGSGSDTDFTLTISSVKAEDRAVYYCQCDSYPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID  
 NO: 7)

**МНС725LC.2 Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области легкой цепи:**

GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTAGCTGTGTCACTGGAGAGAAGGTTAC  
 TATGAGCTGCAAGTCCAGTCAGAGCCTTTTATATAGTAGCAATCAAAAGAACTACTTGGCCTGG  
 TACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATTTTCTGGGCATCTATTAGGGAATCTG  
 GGGTCCCTGATCGCTTACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGT  
 GAAGGCTGAAGACCGGGCAGTTTATTACTGTGCAAGTGTGATAGCTATCCGTGGACGTTCCGT  
 GGAGGCACCAAACCTGGAAATCAAAC (SEQ ID NO: 8)

**m245-M3 - МНС728 mIgG2a/К МНС728НС.4 Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQTPAKRLEWVAYISNGGGDTH  
 YPDSLKGRFTVSRDNAKNTLYLQMSLKSSEDAMYYCARENYGTSFVYWGQGTTLVTVSA  
 (SEQ ID NO: 9)

**МНС728НС.4 Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGAAACCTGGAGGGTCCCTGAAACT  
 CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAACTATGCCATGTCTTGGGTTCCGAGACTCCG  
 GCGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTAGTAATAGTGGTGGTGACACCCCACTATCCAGACA  
 GTTTAAAGGGCCGATTCACCGTCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCCTGTACCTACAAATGAG  
 CAGTCTGAAGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGAGAAAACCTACGGTACTAGTCCC  
 TTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 10)

**МНС728LC.2 Аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи:**

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGISFMNWFQKPGQPPKLLIYAASNOG  
 SGVPARFSGSGSDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQOSKDVPTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:  
 11)

**МНС728LC.2 Последовательность нуклеиновой кислоты вариательной области легкой цепи:**

GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGGCCAC  
 CATCTCCTGCAGAGCCAGCGAAAGTGTGATAATTATGGCATTAGTTTTATGAACTGGTTCCAA  
 CAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAACCAAGGATCCGGGGTCC  
 CTGCCAGTTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTATGGAGGA  
 GGATGATACTGCAATGTATTTCTGTCTAGCAAAGTAAAGATGTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGC  
 ACCAAGCTGGAAATCAAAC (SEQ ID NO: 12)

**m245-M5 - МНС729 mIgG1/К МНС729НС.1 Аминокислотная последовательность вариательной области тяжелой цепи:**

EVQLVESGGGLVKSGGSLKLSCAHSGFSSYDMSWVRQTPAKRLEWVATISGGGRYTY  
 YPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSGLRSEDAMYCASNYGFDYWGQGTTLTVSS (SEQ  
 ID NO: 13)

**МНС729НС.1 Последовательность нуклеиновой кислоты вариательной области тяжелой цепи:**

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTAGTGAAGTCTGGAGGGTCCCTGAAACT  
 CTCCTGTGCGCATTCTGGATTCAGTTTTAGTAGTTATGACATGTCTTGGGTTCGCCAGACTCCG  
 GCGAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTGGTGGTGGTGTACACCTACTATCCAGACA  
 GTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTGCAAATGAG  
 CGGTCTGAGGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTGCAAGTAATTACTACGGTTTTGACTAC  
 TGGGGCCAAGGCACCACCTCTCACAGTCTCTTCA (SEQ ID NO: 14)

**МНС729LC.3 Аминокислотная последовательность вариательной области легкой цепи:**

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSI TCKASQDVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVP  
 DRFTGSGSDFTLTISNVQSEDLADYFCQOYSSYPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 15)

**МНС729LC.3 Последовательность нуклеиновой кислоты вариательной области легкой цепи:**

GATATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAG  
 CATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGGGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGG  
 CAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCATCCACCCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCA  
 CGGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGC  
 AGATTATTTCTGTCTAGCAATATAGCAGCTATCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA  
 ATCAAAC (SEQ ID NO: 16)

**m136-M14 - МНС724 mIgG2a/К МНС724НС.3 Аминокислотная последовательность вариательной области тяжелой цепи:**

KVMLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMWVRQTPKLEWVATISGGGRDIY  
 YADTVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRSEDTALYFCARLYLGFYWGQGTTLTVSS (SEQ  
 ID NO: 17)

**МНС724НС.3 Последовательность нуклеиновой кислоты вариательной области тяжелой цепи:**

AAAGTGTGCTGGTGGAGTCTGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACT  
 CTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTCAGTAGCTATGGCATGTCTTGGGTTCGCCAGACTCCG  
 GAGAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTGGTGGTGGTAGAGACATCTACTACGCAGACA  
 CTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACCCTGTACCTACAAATGAG  
 CAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCTTGATTTCTGTGCAAGGCTCTACCTGGGGTTTTGACTAC  
 TGGGGCCAAGGCACCACCTCTCACAGTCTCTTCA (SEQ ID NO: 18)

**МНС724LC.1 Аминокислотная последовательность вариательной области легкой цепи:**

DIQMTQSPASQSASLGESVTITCLASQTIGTWLAWYQQKPKSPQLLIYAATSLADGVP  
 SRFSGSGSSTKFSFKISSLQAEDFVSYCCQQLYSIPWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 19)

**МНС724LC.1 Последовательность нуклеиновой кислоты вариательной области легкой цепи:**

GACATTCAGATGACCCAGTCTCCTGCCTCCCAGTCTGCATCTCTGGGAGAAAGTGTCCAC  
 CATCATATGCCTGGCAAGTCAGACCATTGGTACATGGTTAGCATGGTATCAGCAGAAACCAGGG  
 AAATCTCCTCAGCTCCTGATTTATGCTGCAACCAGCTGGCAGATGGGGTCCCATCAAGGTTCA  
 GTGGTAGTGGATCTGGCACAAAATTTCTTTCAAGATCAGCAGCCTACAGGCTGAAGATTTTGT  
 AAGTTATTACTGTCAACAACCTTTACAGTATTCCTGGACATTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAA  
 ATCAAAC (SEQ ID NO: 20)

Связывание мышиных антител m136-M13, m136-M19, m245-M3, m245-M5 и m136-M14 с человеческим PD-1 подтверждали с помощью ELISA (Фигура 1). Коротко, человеческий PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенные антитела против PD-1 наносили на планшет в серийном разведении и позволяли связываться. Планшеты промывали PBST (PBS, pH 7,2+0,05% Tween-20). Связанное антитело детектировали HRP-конъюгатом IgG против мышиных антител (Sigma, St Louis, MO) и визуализировали хромогенным субстратом ТМВ (Thermo Scientific, Rockford, IL). Кривые строили в Prizm (Sigma Plot), и данные аппроксимировали в модели насыщающего связывания с одним участком. Антитела против PD-1, ниволумаб (NV1) и/или пембролизумаб (PM1), использовали в качестве положительного контроля в анализах связывания с Fab-специфичным HRP-конъюгатом IgG против человеческих антител (Sigma, St Louis, MO) для детектирования. Значения  $K_d$  для каждого протестированного антитела показаны ниже в табл. 10:

Таблица 10

Значения  $K_d$  для протестированных антител

Клон	$K_d$ , нМ
245-М3	0,22
245-М5	0,34
136-М13	0,19
136-М19	0,23
136-М14	0,19
NV1 ниво	0,28
PM1 пембро	0,35

Связывание мышиных антител m136-M13, m136-M19, m245-M3, m245-M5 и m136-M14 с человеческим PD-1 ингибировало связывание PD-1 с PDL1 и PDL2 в анализе ингибирования ELISA (фиг. 2-3). Анализы ингибирования ELISA проводили следующим образом. Человеческий PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенные антитела против PD-1 наносили на планшет в серийном разведении в присутствии 2 нМ биотинилированного PD-L1 или 2 нМ биотинилированного PDL2. Связывание биотинилированного PD-L1 и PD-L2 детектировали поли-HRP конъюгатом стрептавидина Pierce™ (Thermo Scientific, Rockford, IL) и визуализировали с использованием ТМВ. Кривые строили в Prizm (Sigma Plot), аппроксимировали данные в модели конкурентного связывания с одним участком и определяли  $IC_{50}$ . Значения  $IC_{50}$  для антител M13 и M14 показаны ниже в табл. 11.

Таблица 11

Значения  $IC_{50}$  для протестированных антител

$IC_{50}$ (нМ)	hPDL1/Fc	hPDL2/Fc
M13	3,3	2
M14	4,8	2,8

Пример 2. Получение и тестирование гуманизированных антител против PD-1.

В данном примере продемонстрировано, что мышиные антитела согласно настоящему описанию, которые связывают человеческий PD-1, могут быть превращены в гуманизированные антитела IgG, которые сохраняют способность связывания с PD-1 и ингибирования связывания PDL1 и PDL2 с PD-1.

Варибельные домены мышиных антител против PD-1, полученных, как описано в примере 1, гуманизировали и экспрессировали в виде полноразмерных hIgG4/h-Kappa антител. Полностью человеческие IgG антитела против PD-1 экспрессировали из транзистентно трансфицированных клеток HEK293 и очищали из супернатанта культуры с помощью хроматографии с белком А.

Последовательности гуманизированных антител, применяемых в исследованиях, представленных в настоящем изобретении, показаны ниже:

PD-1 A HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAH

YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTIVTSS

(SEQ ID NO: 21)

PD-1 A HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:



GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT  
 GAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCT  
 GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGGCCTACATCAGCAACAGCGGCGCAATGCCCACTACGCCGATA  
 GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAA  
 CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAATACTGACCCAGAGAGGACTACGGCACCAGCCCC  
 TTCGTGTATTGGGGCCAGGTTACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 22)

**PD-1 Ab HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMS~~WVRQAPGKLEWVSYISNSGGNAH~~  
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKEDYGTSPFVYWGQGLTLTVSS  
 (SEQ ID NO: 23)

**PD-1 Ab HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT  
 GAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCT  
 GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGTTACATCAGCAACAGCGGCGGCAATGCCCACTACGCCGATA  
 GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAA  
 CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAATACTGCGCCAAGGAGGACTACGGCACCAGCCCC  
 TTCGTGTATTGGGGCCAGGTTACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 24)

**PD-1 Ae HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMS~~WVRQAPGKLEWVAYISNSGGNTH~~  
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREEDYGTSPFVYWGQGLTLTVSS  
 (SEQ ID NO: 25)

**PD-1 Ae HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT  
 GAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCT  
 GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGGCCTACATCAGCAACAGCGGCGGCAATACCCCACTACGCCGATA  
 GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAA  
 CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAATACTGCGCCAGAGAGGACTACGGCACCAGCCCC  
 TTCGTGTATTGGGGCCAGGTTACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 26)

**PD-1 Af HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMS~~WVRQAPGKLEWVAYISNSGGNTH~~  
 YADSLKGRFTVSRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREEDYGTSPFVYWGQGLTLTVSS  
 (SEQ ID NO: 27)

**PD-1 Af HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT  
 GAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCGGCTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCTCCT  
 GGCAAAGGCCTGGAATGGGTGGCCTACATCAGCAACAGCGGCGGCAATACCCCACTACGCCGATA  
 GCCTGAAGGGCCGGTTCACCGTCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAA  
 CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAATACTGCGCCAGAGAGGACTACGGCACCAGCCCC  
 TTCGTGTATTGGGGCCAGGTTACCCTCGTGACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 28)

**PD-1 Ba HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFDYYMDWVRQAPGQGLEWIGYIYPKNGGSS  
 YAQKFQGRATLTVDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKVVATDYWGQGLTLTVSS (SEQ  
 ID NO: 29)

**PD-1 Ba HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGAT  
 GAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACTACATGGACTGGGTGCGCCAGGCCCT  
 GGACAGGGACTGGAATGGATCGGCTACATCTACCCCAAGAACGGCGGCAGCAGCTACGCCAGA  
 AGTTCAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACACCAGCACAAGCACCGCTACATGGAAGTGAAG  
 CAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTAATACTGCGCCAGAAAGGTGGTGGCCACAGACTAC  
 TGGGGCCAGGTTACCCTCGTGACCGTGTCTAGT (SEQ ID NO: 30)

**PD-1 Bb HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTDYMDWVRQAPGQGLEWIGYLYPKNGGSS  
YAKQFQGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKVVATDYWGQGLLTVSS (SEQ

ID NO: 31)

**PD-1 Bb HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGAT  
 GAGCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCGACTACTACATGGACTGGGTGCGCCAGGCCCT  
 GGACAGGGACTGGAATGGATCGGCTACATCTACCCCAAGAACGGCGGCAGCAGCTACGCCAGA  
 AGTTCAGGGCAGAGCCACCCTGACCGTGGACAAGAGCACCAGCACCGCTACATGGAAGTGAAG  
 CAGCTGCGGAGCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGAAAGGTGGTGGCCACAGACTAC  
 TGGGGCCAGGTACCTGTGACCGTGTCTAGT (SEQ ID NO: 32)

**PD-1 C HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNGGDDTH  
YADSLKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARENYGTSPFVYWGQGLTVTVSS

(SEQ ID NO: 33)

**PD-1 C HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT  
 GAGCTGTGCCCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCT  
 GGAAAAGGCCTGGAATGGGTGGCTACATCAGCAACGGCGGAGGCGATACCCACTACGCCGATA  
 GCCTGAAGGGCCGGTTCACCGTGTCCAGAGACAACAGCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGAA  
 CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTATTGCGCCAGAGAGAACTACGGCACCAGCCCC  
 TTCGTGTACTGGGGCCAGGTACCTCGTGACCGTGTCTCT (SEQ ID NO: 34)

**PD-1 Ca HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNQGDDTH  
YADSLKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARENYGTSPFVYWGQGLTVTVSS

(SEQ ID NO: 35)

**PD-1 Ca HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT  
 GAGCTGTGCCCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACGCCATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCT  
 GGAAAAGGCCTGGAATGGGTGGCTACATCAGCAAGGGCGGAGGCGATACCCACTACGCCGATA  
 GCCTGAAGGGCCGGTTCACCGTGTCCAGAGACAACAGCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGAA  
 CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTATTGCGCCAGAGAGAACTACGGCACCAGCCCC  
 TTCGTGTACTGGGGCCAGGTACCTCGTGACCGTGTCTCT (SEQ ID NO: 36)

**PD-1 D HV Аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAHSGFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGRYTY  
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCASNYGFDYWGQGLLTVSS (SEQ

ID NO: 37)

**PD-1 D HV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области тяжелой цепи:**

GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGCGGACTGGTGCAGCCTGGCGGATCTCTGAGACT  
 GAGCTGTGCCCCAGCGGCTTCAGCTTCAGCAGCTACGACATGAGCTGGGTGCGCCAGGCCCT  
 GGCAAAGGACTGGAATGGGTGGCCACAATCAGCGGCGGAGGCGGTACACCTACTACGCCGATA  
 GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGAA  
 CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGCAACTACTACGGCTTCGACTAC  
 TGGGGCCAGGTACCTGTGACCGTGTCTATCT (SEQ ID NO: 38)

**PD-1 1.0 LV Аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи:**

DIQLTQSPSSLSASVGRVITITCRASESDNYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNOQ  
SGVPSRFSGSGSDFTLTITSSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:

39)

**PD-1 1.0 LV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области легкой цепи:**

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGC  
 CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAACACTACGGCATCAGTTCATGAACTGGTTCAG  
 CAGAAGCCCAGCAAGGCCCAAGCTGTGATCTACGCCAGCAATCAGGGCAGCGCGTGC  
 CAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC

- CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 40)
- PD-1 1.1 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:**  
DIQLTQSPSSLSVSVGDRVTITCRASESVDNYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQOSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
41)
- PD-1 1.1 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:**  
GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCCGTGTCCTGGGCGACAGAGCCAC  
CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAACCTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGC  
CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 42)
- PD-1 1.2 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:**  
DIQLTQSPSSLSASVSDRVITTCRASESVDQYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQOSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
43)
- PD-1 1.2 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:**  
GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGAC  
CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACCAATACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGC  
CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 44)
- PD-1 1.4 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:**  
DIQLTQSPSSLSASVSDRVITTCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQOSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
45)
- PD-1 1.4 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:**  
GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGAC  
CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGC  
CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 46)
- PD-1 1.5 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:**  
DIQLTQSPSSLSASVSDRVITTCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQOSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
47)
- PD-1 1.5 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:**  
GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGAC  
CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGC  
CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 48)
- PD-1 1.6 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:**  
DIQLTQSPSSLSASVSDRVITTCRASESVDNYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASDQG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISMQPEDFATYYCQOSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
49)
- PD-1 1.6 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:**

GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGAC  
 CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAACCTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
 CAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCGATCAGGGCAGCGGCGTGC  
 CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
 CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
 ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 50)

PD-1 1.7 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:  
 DIQLTQSPSSLSVSVGDRVITTCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNOG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQOSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
 51)

PD-1 1.7 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:  
 GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGCCAC  
 CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
 CAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGC  
 CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
 CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
 ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 52)

PD-1 1.9 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:  
 DIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNOG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQOSKDVPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:  
 53)

PD-1 1.9 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:  
 GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGAC  
 CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
 CAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGC  
 CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
 CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGT  
 ACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 54)

PD-1 1.10 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:  
 DIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNOG  
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQOSKDVPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:  
 55)

PD-1 1.10 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:  
 GACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGAC  
 CATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAG  
 CAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGC  
 CAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCC  
 CGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTACACCTTTGGCCAGGGT  
 ACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 56)

PD-1 2 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:  
 DIQMTQSPSSLSASVGDVRTMTCKSSQSLLYSSNQKNYLAWYQQKPGKAPKLLIFWASL  
RESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSVQPEDFATYYCQOSDSYPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID  
 NO: 57)

PD-1 2 LV Последовательность нуклеиновой кислоты вариабельной области легкой цепи:  
 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCAAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGATAGAGTGAC  
 CATGACCTGCAAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGTACTCCAGCAACCAGAAGAACTACCTGGCCTGG  
 TATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTTCTGGGCCAGCATCCGGGAAAGCG  
 GCGTGCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACAATCAGCAGCGT  
 GCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCGACAGCTACCCCTGGACCTTTGGC  
 CAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 58)

PD-1 4 LV Аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи:

DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQDVGTA~~VA~~WYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVP  
 SRFSGSGSGTDFTLTITSSVQPEDFATYYCQQYSSYPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 59)  
**PD-1 4 LV Последовательность нуклеиновой кислоты варибельной области легкой цепи:**  
 GACATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGGCAGAGAGTGAC  
 CATCACATGCAAGGCCAGCCAGGACGTGGGAACAGCCGTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGC  
 AAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGACACACCGGCGTGCCAGCAGATTTT  
 CTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCGTACAATCAGCAGCGTGCAGCCCCGAGGACTTCGC  
 CACCTACTACTGCCAGCAGTACAGCAGCTACCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAA  
 ATCAAG (SEQ ID NO: 60)

**Аминокислотная последовательность каппа константной области:**

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVLNNFYPRQWKVDNALQSGNSQESVTEQ  
 DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 61)

**Последовательность нуклеиновой кислоты каппа константной области:**

CGTAGCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC  
 TGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGG  
 AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG  
 ACAGCACCTACGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGT  
 CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGA  
 GAGTGT (SEQ ID NO: 62)

**Аминокислотная последовательность hIgG4 S228P:**

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQS  
 SGLYLSSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF  
 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT  
 VLHQDWLNQKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG  
 FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNH  
 YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 63)

**Последовательность нуклеиновой кислоты hIgG4 S228P:**

GCTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTGTAGCAGAAGCACCAGCGA  
 GTCTACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAACCGGTGACGGTGTCTGG  
 AACTCAGGGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCCTCAGGACTCT  
 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAA  
 CGTGGACCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCCTCCC  
 TGCCCTCCTTGCCAGCCCCGTAATTTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAC  
 CCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCA  
 GGAAGACCCCTGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA  
 AAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCACAGCAGCTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACC  
 AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTGCCAGCTCCAT  
 CGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA  
 TCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA  
 GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCC  
 CGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTTACAGCAGACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
 CAGGAAGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAATA (SEQ ID NO: 64)

Такие варибельные области тяжелой цепи (VH) и варибельные области легкой цепи (VL) могут применяться в различных комбинациях для получения антител против PD-1 согласно настоящему описанию. Например, антитело, указанное в настоящем изобретении как A1.0, включает VH последовательность SEQ ID NO: 21 и VL последовательность SEQ ID NO: 39, антитело A1.5 включает VH последовательность SEQ ID NO: 21 и VL последовательность SEQ ID NO: 47; антитело, указанное в настоящем изобретении как C1.1, включает VH последовательность SEQ ID NO: 33 и VL последовательность SEQ ID NO: 41, и так далее.

Как показано на фиг. 4-5, гуманизированные антитела против PD-1 связывались с hPD-1 в стандартном ELISA аналогично ниволумабу и/или пембролизумабу, при этом связывание гуманизированных антител ингибировало связывание PD-1 с PDL1 и PDL2 (фиг. 6-9) в анализе ингибирования ELISA. Ана-

лизы ELISA проводили следующим образом. Для связывания hPD-1 в анализах ELISA, человеческий PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенные антитела против PD-1 наносили на планшет в серийном разведении и позволяли связываться. Связанное антитело детектировали HRP-конъюгатом IgG против антител человека (Fab-специфичным) (Sigma, St Louis, MO) и визуализировали хромогенным субстратом TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL). Кривые строили в Prizm (Sigma Plot) и аппроксимировали данные в модели насыщающего связывания с одним участком. Для анализов ингибирования лиганда ELISA, человеческий PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенные антитела против PD-1 наносили на планшет в серийном разведении в присутствии 2 нМ биотинилированного hPD-L1 или 2 нМ биотинилированного hPD-L2. Связывание детектировали поли-HRP конъюгатом стрептавидина Pierce™ (Thermo Scientific, Rockford, IL) и визуализировали TMB. Кривые строили в Prizm (Sigma Plot) и аппроксимировали данные в модели конкурентного связывания с одним участком, и определяли IC<sub>50</sub>.

Пример 3. Антитела против PD-1 показывают специфичность при связывании.

Пример 3 показывает, что гуманизированные антитела против PD-1 групп A1 и C1 согласно настоящему описанию специфично связываются с hPD-1 в ELISA на планшетах.

Связывание антитела против PD-1 A1.5 согласно настоящему описанию было высокоспецифичным в отношении hPD-1-Fc в стандартном ELISA против панели различных белков человека и мыши (фиг. 10). Связывание против PD-1 A1.5 детектировали HRP-конъюгатом IgG против антител человека (Fab-специфичным) (Sigma, St Louis, MO) и визуализировали хромогенным субстратом TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL). Кривые строили в Prizm (Sigma Plot) и аппроксимировали данные в модели насыщающего связывания с одним участком.

Пример 4. Связывание антителами эпитопов на PD-1.

В данном примере сравниваются эпитопы, связываемые гуманизированными антителами против PD-1 согласно настоящему описанию, ниволумабом и пембролизумабом.

Ниволумаб и пембролизумаб - антитела против PD-1, каждое из которых связывает человеческий PD-1, и такое связывание каждого из них ингибирует связывание PD-1 с PDL1 и PDL2. Для картирования эпитопов гуманизированных антител групп A1 и C1 согласно настоящему описанию, проводили анализы ELISA ингибирования PD-1, и сравнивали результаты с ингибированием ниволумабом и пембролизумабом. Серийные разведения ниволумаба, пембролизумаба, антител A1 и C1 инкубировали в присутствии биотинилированного Fab ниволумаба или биотинилированного Fab пембролизумаба при концентрации 0,3 нМ в стандартном планшетном формате ELISA с hPD-1-Fc (R & D systems, Minneapolis, MN). Связывание биотинилированного Fab детектировали поли-HRP конъюгатом стрептавидина Pierce™ (Thermo Scientific, Rockford, IL) и визуализировали TMB (Thermo Scientific, Rockford IL) и 1N HCl. Антитела, относящиеся к группам A1 и C1 согласно настоящему описанию, блокировали связывание биотинилированного Fab пембролизумаба с PD-1 так же, как антитело пембролизумаб, и в более полной степени, чем антитело ниволумаб (фиг. 11A). Такие же антитела A1 и C1 согласно настоящему описанию блокировали связывание биотинилированного ниволумаба аналогично антителу ниволумаб и в более полной степени, чем антитело пембролизумаб (фиг. 11B). Данные на фиг. 11A и 11B показывают, что антитела A1 и C1 согласно настоящему описанию полностью блокируют ниволумаб и пембролизумаб, тогда как ниволумаб и пембролизумаб не полностью блокируют друг друга.

Пример 5. Антитело A1.5 против PD-1 повышает ЦМВ-стимулируемую секрецию цитокинов клетками МКПК ЦМВ-положительного донора.

В данном примере мононуклеарные клетки периферической крови ЦМВ-положительного донора инкубировали в присутствии ЦМВ вирусного лизата и антител против PD-1 согласно настоящему описанию, чтобы оценить воздействие таких антител против PD-1 на секрецию цитокина интерферона-гамма (IFN-гамма, IFN<sub>g</sub>, IFN-g, IFN<sub>γ</sub> или IFN-γ).

МКПК ЦМВ-положительного донора (Nemasare) сеяли в количестве  $2 \times 10^5$  клеток/лунка в присутствии ЦМВ вирусного лизата (Astarte) и антитела против PD-1 A1.5 согласно настоящему описанию или антитела hIgG4 изотипического контроля. Через четыре дня супернатант удаляли из каждой лунки и исследовали уровни IFN-гамма при использовании набора для ELISA анализа IFN-гамма (Life Technologies, Carlsbad, CA) (фиг. 12). Антитело против PD-1 A1.5 повышало ЦМВ-стимулируемую секрецию IFN-гамма по сравнению с контрольным hIgG4, и с активностью, подобной антителам против PD-1, ниволумабу и пембролизумабу.

Пример 6. Антитела против PD-1 связываются с мономерным hPD-1 с высокой аффинностью и медленной кинетикой диссоциации.

В данном примере показано, что гуманизированные антитела против PD-1 согласно настоящему описанию связываются с высокой аффинностью и медленной диссоциацией с мономерным PD-1.

Активируемые антитела могут активироваться однократно, с образованием моновалентной связывающей части, или двукратно, с образованием бивалентной связывающей части. Активация одного плеча антител с разными авидностями может способствовать связывающей и биологической активности

активируемых антител с более высокими моновалентными аффинностями. Антитела против PD-1 A1.5 и Bba2 согласно настоящему описанию, а также ниволумаб и пембролизумаб иммобилизовали в эквивалентных плотностях на сенсорах Forte-Bio Octet для интерферометрии биослоев (Pall ForteBio, Menlo Park, CA) и позволяли связываться с серийным разведением человеческого PD-1-His (R & D systems, Minneapolis, MN) в растворе. Кинетический анализ проводили с помощью программы ForteBio Data Analysis. Результаты (фиг. 13) показывают, что антитела PD-1 согласно настоящему описанию связывают мономерный PD-1 с подобной или более высокой аффинностью и подобной или более медленной константой диссоциации, чем ниволумаб или пембролизумаб.

Пример 7. Маскирующие части активируемых антител против PD-1 M13/A1.4/A1.5.

В данном примере описана идентификация маскирующих частей (ММ), которые уменьшают связывание антител против PD-1 согласно настоящему описанию со своими мишенями.

Антитела против PD-1 m136-M13, A1.4 и A1.5 использовали для скрининга библиотек с применением способа, аналогичного описанному в международной публикации PCT WO 2010/081173, опубликованной 15 июля 2010 года. Скрининг состоял из одного раунда МАКС и пяти раундов ФАКС сортировки. Для начальной МАКС, приблизительно  $2 \times 10^{11}$  клеток инкубировали с антителом m136-M13 в концентрации 100 нМ, и  $6 \times 10^6$  связывающих средств собирали при использовании сфер Dynabeads с белком G (Invitrogen). Раунды ФАКС проводили путем мечения клеток антителом m136-M19, меченным красителем DyLight 650 (Thermo-Fisher), для раундов ФАКС 1-4 следующим образом: 100 нМ раунд ФАКС 1 (F1), 10 нМ раунд ФАКС 2 (F2), 2 нМ раунд ФАКС 3 (F3) и 1 нМ раунд ФАКС 4 (F4), с уменьшением процента связывающих средств согласно оценке флуоресценции, собранной в каждом раунде. В раунде ФАКС 5 (F5) клетки метили 1 нМ антитела A1.5, меченного DyLight 650, и отбирали 0,2-4% наиболее ярких клеток. Отдельные пептидные клоны из F3, F4 и F5 идентифицировали с помощью секвенирования и затем тестировали на их способность связывать A1.4 DyLight-650 или A1.5 DyLight-650.

Последовательности маскирующих частей антител против PD-1 m136-M13, A1.4 и A1.5 перечислены в табл. 12 (маскирующая часть 00PD-1 также именуется в настоящем описании как 0PD-1 и/или 0PD-1; маскирующая часть 0PD02 также именуется в настоящем изобретении как PD02 и/или PD02, и так далее).

Таблица 12  
Маскирующие части

Маска	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
PD001	AMSGCSWSAFPCPYLA	66
PD002	DVNCAIWYSVCTTVP	67
PD003	LVCPLYALSSGVCMG	68
PD004	SVNCRIWSAVCAGYE	69
PD005	MLVCSLQPTAMCERV	70
PD006	APRCYMFASYCKSQY	71
PD007	VGPCELTPKPCNTY	72
PD008	ETCNQYERSSGLCFA	73
PD009	APRTCYTYQCSSFYT	74
PD010	GLCSWYLSSSGLCVD	75
PD011	VPWCQLTPRVMCMWA	76
PD012	NWLDQCQFYSECSVYG	77
PD013	SCPLYVMSSFGGCWD	78
PD014	MSHCWMFSSSCDGVK	79
PD015	VSYCTWLVIEVTCLRG	80
PD016	VLCAAYALSSGICGG	81
PD017	TTCNLYQQSSMFCNA	82
PD018	APRCYMFASYCKSQY	83
PD019	PCDQNPYFYFYVCHA	84
PD020	SVCPTYALSSMLCGA	85
PD021	LSVECYVFSRCSLPL	86
PD022	FYCTYLVSLTCHPQ	87
PD023	SMAGCQWSSFCVQRD	88
PD024	IYSCYMFASRCTSDK	89
PD025	SRCSVYEVSSGLCDW	90

PD026	GMCSAYAYSSKLCTI	91
PD027	MTTNTCNLLCQQFLT	92
PD028	FQPCLMFASSCFTSK	93
PD029	WNCHPAGVGPVFCEV	94
PD030	ALCSMYLASSGLCNK	95
PD031	NYLSCQFFQNCYETY	96
PD032	GWCLFSDMWLGLCSA	97
PD033	EFCARDWLPYQCSSF	98
PD034	TSYCSIEHYPCNTHH	99
PD035	PYICSSFPLDCQAGQ	100
PD036	VGCEWYMSSSGMCSR	101
PD037	EVCGGCQMOSVSCWP	102
PD038	FTECQLSPKAICMSN	103
PD039	KYCLFSEYVEGTCLN	104
PD040	SGCPMYAWGWDECWR	105
PD041	VDCPWAYSSAICSR	106
PD042	DMLLCQIRGSCAAWG	107
PD043	ECHPYQASASLWCGY	108
PD044	MMMGCMWSAWCPPSR	109
PD045	NAYFRCSLMCNMIMF	110
PD046	ACCKESVHSVHDKR	111



PD047	ACIGINSYMSNYCYL	112
PD048	ANCSFLELTNKFCTI	113
PD049	AYCSYLMFASNPCI I	114
PD050	CFTSKCPCCLCYSLLA	115
PD051	CLCRDINCWLGCST	116
PD052	CWCDIYCSPYQCSSF	117
PD053	DCIYYYQQSANLCSY	118
PD054	DCTGVNYYIDKHCTN	119
PD055	DECHGYLRSSGLCGG	120
PD056	DICSAYAASSGFCYY	121
PD057	DIICVLTPTAWCGRT	122
PD058	DNCCMYCSWWIACRD	123
PD059	DSCQWYMLSADLCGT	124
PD060	DSVCFSSSSFLCHK	125
PD061	DTMCAIWWTVCSGGR	126
PD062	ECTYQTSSFHEACMS	127
PD063	EGCNLYERSSSYGCNN	128
PD064	EGCTAFAMSAGICGG	129
PD065	EQSCSLTPIAFCWSE	130
PD066	EWCNAYISSSKLCST	131
PD067	FEVCYMFASACRNGM	132
PD068	FSCSWYAESSLCDI	133
PD069	FVCQMFEEASSGLCGG	134
PD070	FYCPCCMFASCSGR	135
PD071	FYCSYLPGASHQCSH	136
PD072	FYCSYLYMCEVCCYE	137
PD073	GFCTQHTVLTWCPTS	138
PD074	GSCPSYAVSAGLCYA	139
PD075	GSQCFLTPTAFCTHT	140
PD076	GTCHPYMQSSKICNN	141
PD077	GVECFVFTGGCGGYG	142
PD078	HELCNGHWVPCCWAY	143
PD079	ICDSYYAVSSGLCLL	144
PD080	IGCAWYVSSAGWCSP	145
PD081	INLCWMMFASECGEHH	146
PD082	KCWLAEMTNLEHCNM	147
PD083	KHCSDFAYSSRLCDR	148
PD084	KVCSSYASSSGLCGW	149
PD085	LDSCYMFASYCVQAV	150
PD086	LLACHPIFVTVQCQTR	151
PD087	LLSCPYNPEHVCHTS	152

PD088	LMCSLYALSSNLCGR	153
PD089	LMWCVLFLWSWCCRI	154
PD090	LPICHLTPTAVCTHI	155
PD091	LSNMCLAFGSCLYAW	156
PD092	LSRCHPIWYTICQNP	157
PD093	LTQCMSVHKECGGYE	158
PD094	LVNCRIWSWVCEEAT	159
PD095	LYCSWYQMSSAVCKE	160
PD096	MECGWYALSARFCEV	161
PD097	MTCSPYAMSAHFCNE	162
PD098	MVCSLYAYSASLCGA	163
PD099	NALCWSTFSWWCDMD	164
PD-100	NFTCMLTPKAYCVQT	165
PD-101	NGACIFTLWCTNKT	166
PD-102	NGCELYAAASGLCRT	167
PD-103	NIECSVFGRCDDNY	168
PD-104	PACRPMFWNRSCDNI	169
PD-105	PCRVSNMFFPYNCLD	170
PD-106	PIMCMLLPESYCWIW	171
PD-107	PQSCYMFASLCMPNG	172
PD-108	PRCPQGLPLYQCSSF	173
PD-109	PSVECLVFKRCYALP	174
PD-110	PVCQRSATIYNCFWF	175
PD-111	QCAAYYISSFGGCSN	176
PD-112	QFGCFMLARDFCGTY	177
PD-113	QMMCPYNPEHKCHQK	178
PD-114	QRECWMFASSCNSKN	179
PD-115	QSNMCTTYICSSFNY	180
PD-116	QSRCHSLAPYLCSSF	181
PD-117	RAYCSLLFADSCNNN	182
PD-118	RCIGINQYIDSNCYN	183
PD-119	RLSCFMFASQCALEF	184
PD-120	RQCIILMNRQCFFK	185
PD-121	RSCTPYMMSSSLCNT	186
PD-122	RYCHYWKMPYECSSF	187
PD-123	SCVSLSWFDMLKCYE	188
PD-124	SDNCEIWWTVCSAAM	189
PD-125	SFCWSYLVSGLCGV	190
PD-126	SMCMNNYGTTIMCGN	191
PD-127	SMVGCWSTFCPSRG	192
PD-128	SSLHCANGHTCPFCL	193

PD-129	SVCSYEESSGICSP	194
PD-130	SWCGWYAASSGVCAL	195
PD-131	TCISQTIDSYLNCVN	196
PD-132	TFCNLTKSSNICMS	197
PD-133	TYCVFHEYLNTCNN	198
PD-134	VATGCPNMLCGSWP	199
PD-135	VEYCSLLLGNRCDYW	200
PD-136	VGCNMYLMSAGLCVD	201
PD-137	VLYCSWDSGTCVGS	202
PD-138	VMFSCYLETCPAGV	203
PD-139	VRIGLCPESCLVSGF	204
PD-140	VTCTYYATSSSLCNT	205
PD-141	VTGCILLPKAWCWGD	206
PD-142	VWCSIYEYSSNLCSR	207
PD-143	WMLECYNNNTCNNMT	208
PD-144	WPCSPLEYNNICNV	209
PD-145	WTYDCHLNQTCPTY	210
PD-146	YCSINMYLIGNCMY	211
PD-147	YFCSLYANSAGFCGG	212
PD-148	YVSCYMFSSSCPSTW	213

Пример 8. Активируемые антитела против PD-1 A1.4 и A1.5.

В данном примере описаны примеры активируемых антител против PD-1, A1.4 и A1.5, согласно настоящему описанию.

Активируемые антитела A1.4 против PD-1, включающие маскирующую часть M13 против PD-1, расщепляемую часть и антитело против PD-1 A1.4 согласно настоящему описанию, и активируемые антитела A1.5 против PD-1, включающие маскирующую часть против PD-1 M13 или против PD-1 A1.5, расщепляемую часть, выбранную из группы, состоящей из расщепляемой части, и антитело против PD-1 A1.5, получали согласно способам, аналогичным описанным в публикациях PCT WO 2009/025846 и WO 2010/081173, содержание которых настоящим полностью включено посредством отсылки. В некоторых вариантах осуществления расщепляемую часть выбирали из группы, состоящей из расщепляемой части, указанной в настоящем изобретении как "2001" и включающей последовательность ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214), и расщепляемой части, указанной в настоящем изобретении как "3001" и включающей последовательность AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318). Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот нескольких вариативных доменов активируемых антител против PD-1 согласно настоящему описанию представлены ниже. Антитела были получены, как hIgG4, содержащий одну аминокислотную замену, S228P (Angal, et al. 1993. Mol Immunol 30:105-8.), в формате HC и hK LC.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело также включает спейсерную последовательность. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с MM активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с MM активируемого антитела в следующей структуре, от N-конца к C-концу: спейсер-MM-CM-AB. В некоторых вариантах осуществления спейсер, соединенный непосредственно с N-концом MM активируемого антитела, выбран из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQG (SEQ ID NO: 362). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQ (SEQ ID NO: 913). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSG (SEQ ID NO: 914). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQS (SEQ ID NO: 915). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQ (SEQ ID NO: 916). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QG (SEQ ID NO: 917). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотный остаток Q. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не включает спейсерную последовательность.

Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию могут включать любую подходящую спейсерную последовательность, такую как, например, спейсерная последовательность, выбранная из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID

NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. Дополнительные примеры спейсеров включают GQSGQG (SEQ ID NO: 2042), QSGQG (SEQ ID NO: 2043), SGQG (SEQ ID NO: 2044), GQG (SEQ ID NO: 2045), QG (SEQ ID NO: 2046) и G. Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области также будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию в некоторых вариантах осуществления не включают спейсерную последовательность.

**Вариабельные домены активируемого антитела против PD-1:**

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.4 PD001 2001 (SEQ ID NO: 919)]

[QGQSGQG] [AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDRTVITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 215)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.4 PD001 2001:**

AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1041)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.4 PD001 2001 (SEQ ID NO: 920)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCCCGTATTTGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGCGGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 216)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.4 PD002 2001 (SEQ ID NO: 921)]

[QGQSGQG] [DVNCAIWYSVCTTVPGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDRTVITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 217)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.4 PD002 2001:**

DVNCAIWYSVCTTVPGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTVITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1042)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.4 PD002 2001 (SEQ ID NO: 922)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATGTTAATTGCGCTATTTGGTATTCGGTGTGCAC TACTGTTCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC GACAATCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG TGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT CAGGGCAGCGCGGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 218)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.4 PD003 2001 (SEQ ID NO: 923)]

[QGQSGQG] [LVCPLYALSSGVCMGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDRTVITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 219)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.4 PD003 2001:**

LVCPLYALSSGVCMMGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1043)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.4 PD003 2001 (SEQ ID NO:  
 924)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TTGGTTTGCCTTTGTATGCATTGAGTTCTGGGGT  
 GTGCATGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGCGCAGAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 220)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.4 PD008 2001 (SEQ ID NO:  
 925)]

[QGQSGQG][ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 221)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.4 PD008 2001:**

ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1044)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.4 PD008 2001 (SEQ ID NO:  
 926)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GAGACTTGCAATCAGTATGAGAGGTCGAGTGGTTT  
 GTGCTTTGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGCGCAGAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 222)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.4 PD009 2001 (SEQ ID NO:  
 927)]

[QGQSGQG][APRTCYYTYQCSSFYTGGSSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDSYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 223)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.4 PD009 2001:**

APRTCYTYQCSSFYTGGSSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1045)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.4 PD009 2001 (SEQ ID NO:  
 928)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GCGCCGCGGACGTGCTATACGTATCAGTCTCTAG  
 TTTTATACCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAAATCAAG] (SEQ ID NO: 224)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.4 PD010 2001 (SEQ ID NO:  
 929)]

[QGQSQG][GLCSWYLSGLCVDGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 225)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.4 PD010 2001:**

GLCSWYLSGLCVDGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDSYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1046)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.4 PD010 2001 (SEQ ID NO:  
 930)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GGTCTTTCAGTTGGTATCTTAGTAGTTCGGGTTT  
 GTGCGTGGATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGACATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAAATCAAG] (SEQ ID NO: 226)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD01 2001 (SEQ ID NO:  
 931)]

[QGQSQG][AMSGCSWSAFCPYLAGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 227)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD01 2001:**

AMSGCSWSAFCPYLAGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1047)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD001 2001 (SEQ ID NO:  
 932)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCC  
 GTATTTGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACAGTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT

CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 228)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD002 2001 (SEQ ID NO:  
 933)]

[QGQSGQG][DVNCAIWYSVCTTVPGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 229)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD002 2001:**

DVNCAIWYSVCTTVPGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1048)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD002 2001 (SEQ ID NO:  
 934)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GATGTTAATTGCGCTATTTGGTATTCGGTGTGCAC  
 TACTGTTCCCTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 230)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD003 2001 (SEQ ID NO:  
 935)]

[QGQSGQG][LVCPLYALSSGVCMMGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 231)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD003 2001:**

LVCPLYALSSGVCMMGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1049)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD003 2001 (SEQ ID NO:  
 936)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TTGGTTGCCCTTTGTATGCATTGAGTTCTGGGGT  
 GTGCATGGGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 232)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD004 2001 (SEQ ID NO:  
 937)]

[QGQSGQG][SVNCRISAVCAGYEGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 233)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD004 2001:**

SVNCRISAVCAGYEGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1050)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD004 2001 (SEQ ID NO:  
 938)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TCTGTGAATTGCCGATTGGTTCGGCTGTTTGC  
 GGGTATGAGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGGCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 234)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD005 2001 (SEQ ID NO:  
 939)]

[QGQSGQG][MLVCSLQPTAMCERVGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 235)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD005 2001:**

MLVCSLQPTAMCERVGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1051)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD005 2001 (SEQ ID NO:  
 940)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][ATGCTTGTGTGCTCGTTGCAGCCTACTGCGATGTG  
 CGAGCGGGTGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGGCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 236)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD006 2001 (SEQ ID NO:  
 941)]

[QGQSGQG][APRCYMFASYCKSYGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 237)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD006 2001:**



APRCYMFASYCKSQYGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 941)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD006 2001 (SEQ ID NO:  
 942)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GCGCCTAGGTGCTATATGTTTGCCTCGTATTGCAA  
 GAGTCAGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGGCAGAGTGCACATCACCTGTAGAGCCAGCGAGCGGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAAATCAAG] (SEQ ID NO: 238)

**Последовательность нуклеиновой кислоты PD-1 1.5 PD006 2001:**

GCGCCTAGGTGCTATATGTTTGCCTCGTATTGCAAGAGTCAGTATGGAGGTGGCTCGAG  
 CGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGAT  
 ATCCAGCTGACCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCT  
 GTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCC  
 CGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGA  
 TTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACT  
 TCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCT  
 GAAAATCAAG (SEQ ID NO: 942)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD007 2001 (SEQ ID NO:  
 943)]

[QGQSGQG][VGPCELTPKPVNTYGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 239)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD007 2001:**

VGPCELTPKPVNTYGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1052)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD007 2001 (SEQ ID NO:  
 944)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GTGGGGCCTTGCAGTTGACGCCGAAGCCTGTTT  
 CAATACGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAAATCAAG] (SEQ ID NO: 240)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD008 2001 (SEQ ID NO:  
 945)]

[QGQSGQG][ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 241)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD008 2001:**

ETCNQYERSSGLCFAGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1053)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD008 2001 (SEQ ID NO:  
 946)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GAGACTTGCAATCAGTATGAGAGGTCGAGTGGTTT  
 GTGCTTTGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 242)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD009 2001 (SEQ ID NO:  
 947)]

[QQSGQG][APRTCYTYQCSSFYTGGSSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGST  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 243)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD009 2001:**

APRTCYTYQCSSFYTGGSSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1054)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD009 2001 (SEQ ID NO:  
 948)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GCGCCGCGGACGTGCTATACGTATCAGTGTCTAG  
 TTTTATACTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 244)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD010 2001 (SEQ ID NO:  
 949)]

[QQSGQG][GLCSWYLSGLCVDGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGST  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 245)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD010 2001:**

GLCSWYLSGLCVDGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1055)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD010 2001 (SEQ ID NO:  
 950)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GGTCTTTGAGTGGTATCTTAGTAGTTCGGGTTT  
 GTGCGTGGATGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT

CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 246)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD011 2001 (SEQ ID NO:  
 951)]

[QGQSGQG][VPWCQLTPRVMCMWAGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 247)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD011 2001:**

VPWCQLTPRVMCMWAGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1056)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD011 2001 (SEQ ID NO:  
 952)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GTGCCTTGGTGCCAGTTGACGCCGCGGGTTATGTG  
 CATGTGGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 248)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD012 2001 (SEQ ID NO:  
 953)]

[QGQSGQG][NWLDCQFYSECSVYGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 249)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD012 2001:**

NWLDCQFYSECSVYGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 953)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD012 2001 (SEQ ID NO:  
 954)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][AATGGTTGGATTGCCAGTTTTATTCTGAGTGCTC  
 TGTTTATGGTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 250)

**Последовательность нуклеиновой кислоты PD-1 1.5 PD012 2001:**

AATTGGTTGGATTGCCAGTTTTATTCTGAGTGCTCTGTTTATGGTGGAGGTGGCTCGAG  
 CGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGAT  
 ATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCT  
 GTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCC  
 CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGA  
 TTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCCGAGGACT  
 TCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCT  
 GGAAATCAAG (SEQ ID NO: 954)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD013 2001 (SEQ ID NO:  
 955)]

[QQQSGQG][SCPLYVMSSFGGCWDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 251)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD013 2001:**

SCPLYVMSSFGGCWDGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1057)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD013 2001 (SEQ ID NO:  
 956)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TCGTGCCCTTTGTATGTGATGTCTAGTTTTGGTGG  
 GTGCTGGGATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 252)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD014 2001 (SEQ ID NO:  
 957)]

[QQQSGQG][MSHCWFMFSSCDGVKGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 253)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD014 2001:**

MSHCWMFSSSCDGVKGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1058)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD014 2001 (SEQ ID NO:  
 958)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][ATGAGTCATTGCTGGATGTTTTTCGAGTTCTTGCGA  
 TGGGGTGAAGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 254)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD015 2001 (SEQ ID NO:  
 959)]

[QQQSGQG][VSYCTWLIIEVTCRLRGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 255)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD015 2001:**

VSYCTWLIIEVTCRLRGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1059)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD015 2001 (SEQ ID NO:  
 960)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GTTTCGTATTGCACGTGGTTGATTGAGGTGACTTG  
 CCTGAGGGGTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 256)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD016 2001 (SEQ ID NO:  
 961)]

[QQQSGQG][VLCAAYALSSGICGGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 257)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD016 2001:**

VLCAAYALSSGICGGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1060)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD016 2001 (SEQ ID NO:  
 962)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GTTTTGTGCGCTGCTTATGCTTTGAGTTCGGGTAT  
 TTGCGGTGGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 258)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD017 2001 (SEQ ID NO:  
 963)]

[QGQSGQG][TTCNLYQQSSMFCNAGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 259)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD017 2001:**

TTCNLYQQSSMFCNAGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1061)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD017 2001 (SEQ ID NO:  
 964)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][ACGACTTGCAATCTGTATCAGCAGTCTTCTATGTT  
 TTGCAATGCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 260)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD018 2001 (SEQ ID NO:  
 965)]

[QGQSGQG][APRCYMFASYCKSQYGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 261)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD018 2001:**

APRCYMFASYCKSQYGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1062)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD018 2001 (SEQ ID NO:  
 966)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCCTAGGTGCTATATGTTTTCGCTCGTATTGCAA  
 GAGTCAGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCTAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 262)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD019 2001 (SEQ ID NO:  
 967)]

[QGQSGQG] [PCDQNPYFYPYVCHAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 263)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD019 2001:**

PCDQNPYFYPYVCHAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 967)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD019 2001 (SEQ ID NO:  
 968)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTTGGCATCAGAATCCGTATTTTTATCCGTATGT  
 GTGCCATGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCTAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 264)

**Последовательность нуклеиновой кислоты PD-1 1.5 PD019 2001:**

CCTTGGCATCAGAATCCGTATTTTTATCCGTATGTGTGCCATGCGGGAGGTGGCTCGAG  
 CGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGAT  
 ATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCT  
 GTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCC  
 CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGCCTAAGCAGA  
 TTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACT  
 TCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCT  
 GGAAATCAAG (SEQ ID NO: 968)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD020 2001 (SEQ ID NO:  
 969)]

[QGQSGQG] [SVCMPYALSSMLCGAGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 265)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD020 2001:**

SVCPMYALSSMLCGAGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1063)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD020 2001 (SEQ ID NO:  
 970)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TCTGTGTGCCCTATGTATGCGTTGAGTTCTATGTT  
 GTGCGGTGCGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 266)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD021 2001 (SEQ ID NO:  
 971)]

[QQQSGQG][LSVECYVFSRCSLPGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 267)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD021 2001:**

LSVECYVFSRCSLPGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1064)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD021 2001 (SEQ ID NO:  
 972)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TTGTCTGTGGAGTGCTATGTGTTTTTCGCGGTGCAG  
 TAGTCTGCCGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 268)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD022 2001 (SEQ ID NO:  
 973)]

[QQQSGQG][FYCTYLVSILTCHPQGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSS  
 LSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 FTLTSSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 269)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD022 2001:**



FYCTYLVSILTCHPQGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRT  
ITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQP  
EDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1065)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD022 2001 (SEQ ID NO:  
974)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TTTTATGCACTTATTTGGTGTCTTTGACTTGCCA  
TCCGCAGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGAC  
AATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGG  
GCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCAT  
GAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAG  
GGCAGCGGCTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA  
GCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGAC  
CTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAAATCAAG] (SEQ ID NO: 270)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD023 2001 (SEQ ID NO:  
975)]

[QGSQGS][SMAGCQWSSFCVQRDGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 271)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD023 2001:**

SMAGCQWSSFCVQRDGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRT  
ITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
PEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1066)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD023 2001 (SEQ ID NO:  
976)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TCTATGGCGGGTTGCCAGTGGAGTTTCGTTTTCGCT  
GCAGCGGGATGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGCGCAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAAATCAAG] (SEQ ID NO: 272)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD024 2001 (SEQ ID NO:  
977)]

[QGSQGS][IYSCYMFASRCTSDKGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 273)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD024 2001:**

IYSCYMFASRCTSDKGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1067)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD024 2001 (SEQ ID NO:  
 978)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][ATTTATTCGTGCTATATGTTTCTCGCGGTGCAC  
 GTCTGATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 274)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD002 3001 (SEQ ID NO:  
 979)]

[QGQSGQG][DVNCAIWYSVCTTVPGGSSGGAVLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQ  
 SPSSLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSG  
 SGTDFLTLTISSMQPEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 275)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD002 3001:**

DVNCAIWYSVCTTVPGGSSGGAVLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSLSASV  
 GDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGTDFTLTIS  
 SMQPEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1068)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD002 3001 (SEQ ID NO:  
 980)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT]CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGTGATGTTAATTGCGCT  
 ATTTGGTATTCGGTGTGCACTACTGTTCCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCG  
 GACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGGAGGTGGCTCGAGCGCGCGGC  
 TGTGGGACTGCTGGCTCCTCCTGGTGGCCTGTCTGGCAGATCTGATAACCACGGAGGATCCGAT  
 ATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCT  
 GTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCC  
 CGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGCGTGGCAAGCAGA  
 TTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACT  
 TCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCT  
 GGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 276)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD12 3001 (SEQ ID NO:  
 981)]

[QGQSGQG][NWLDCQFYSECSVYGGGSSGGAVLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQ  
 SPSSLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSG  
 SGTDFLTLTISSMQPEDFATYYCQOSKDVPTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 277)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD12 3001:**

NWLDCQFYSECSVYGGGGSSGGAVGLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSLSASVG  
 DRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTIS  
 SMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1069)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD12 3001 (SEQ ID NO:  
 982)]

[CAAGCCAGTCTGGCCAAGGT][AATTGGTTGGATTGCCAGTTTTATTCTGAGTGCTC  
 TGTTTATGGTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGGAGGTGGCTCGAGCGGGCGCTGTGGGACTGCTGGCTCCTC  
 CTGGTGGCCTGTCTGGCAGATCTGATAACCACGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCC  
 TAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTG  
 GACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGCCCCAAGCTGC  
 TGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGG  
 CACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG  
 CAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID  
 NO: 278)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD16 3001 (SEQ ID NO:  
 983)]

[QQSGQG][VLCAAYALSSGICGGGGSSGGAVGLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQ  
 SPSSLSASVDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSG  
 SGTDFTLTISMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 279)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD16 3001:**

VLCAAYALSSGICGGGGSSGGAVGLLAPPGLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSLSASVG  
 DRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTIS  
 SMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1070)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD16 3001 (SEQ ID NO:  
 984)]

[CAAGCCAGTCTGGCCAAGGT][GTTTTGTGCGCTGCTTATGCTTTGAGTTCGGGTAT  
 TTGCGGTGGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGGAGGTGGCTCGAGCGGGCGCTGTGGGACTGCTGGCTCCTC  
 CTGGTGGCCTGTCTGGCAGATCTGATAACCACGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCC  
 TAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTG  
 GACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCGCAAGCCCCAAGCTGC  
 TGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGG  
 CACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG  
 CAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID  
 NO: 280)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD025 2001 (SEQ ID NO:  
 985)]

[QQSGQG][SRCSVYEVSSGLCDWGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVDRVTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGGT  
 DFTLTISMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 281)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD025 2001:**

SRCSVYEVSSGLCDWGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSLSASVDRV  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTISMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1071)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD025 2001 (SEQ ID NO:

986) ]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCTCGTTGCTCTGTGTATGAGGTTTCGTCGGGGCT  
GTGCGATTGGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 282)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD026 2001 (SEQ ID NO:  
987) ]

[QGQSGQG] [GMCSAYAYSSKLCITIGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 283)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD026 2001:**

GMCSAYAYSSKLCITIGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQ  
PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1072)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD026 2001 (SEQ ID NO:  
988) ]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GGGATGTGCTCGGCGTATGCTTATTCGAGTAAGTT  
GTGCACTATTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 284)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD027 2001 (SEQ ID NO:  
989) ]

[QGQSGQG] [MTTNTCNLLCQQLTGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 285)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD027 2001:**

MTTNTCNLLCQQLTGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQ

PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1073)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD027 2001 (SEQ ID NO: 990)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][ATGACTACGAATACTTGCAATCTGTTGTGCCAGCA  
GTTTTTGACGGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCGTACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 286)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD028 2001 (SEQ ID NO: 991)]

[QGQSGQG][FQPCLMFASSCFTSKGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 287)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD028 2001:**

FQPCLMFASSCFTSKGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVR  
TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQ  
PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 991)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD028 2001 (SEQ ID NO: 992)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][TTTCAGCCGTGCCTGATGTTTGCAGTAGTGTGCTT  
TACTAGTAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGGCGTGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCGTACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 288)

**Последовательность нуклеиновой кислоты PD-1 1.5 PD028 2001:**

TTTCAGCCGTGCCTGATGTTTGCAGTAGTGTGCTTTACTAGTAAGGGAGGTGGCTCGAG  
CGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGAT  
ATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCT  
GTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCC  
CGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCTGCCAAGCAGA  
TTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCGTACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACT  
TCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCT  
GGAAATCAAG (SEQ ID NO: 992)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD030 2001 (SEQ ID NO: 993)]

[QGQSGQG][ALCSMYLASSGLCNKGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 289)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD030 2001:**

ALCSMYLASSGLCNKGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1074)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD030 2001 (SEQ ID NO:  
 994)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GCGCTTTCAGTATGTATCTTGCTAGTCTGGGCT  
 GTGCAATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 290)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD033 2001 (SEQ ID NO:  
 995)]

[QQQSGQG][EFCARDWLPYQCSSFGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 291)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD033 2001:**

EFCARDWLPYQCSSFGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1075)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD033 2001 (SEQ ID NO:  
 996)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][GAGTTTTCGCTCGGGATTGGCTGCCGTATCAGTG  
 CTCGAGTTTTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 292)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD034 2001 (SEQ ID NO:  
 1028)]

[QQQSGQG][TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1029)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD034 2001:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1028)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD034 2001 (SEQ ID NO:  
 1030)

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][ACGTCATACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
 TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGGCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1031)

**Последовательность нуклеиновой кислоты PD-1 1.5 PD034 2001:**

ACGTCATACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACACATCATGGAGGTGGCTCGAG  
 CGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGATCCGAT  
 ATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCT  
 GTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCAGCAGAAGCC  
 CGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCGTGGCAAGCAGA  
 TTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACT  
 TCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTGGACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCT  
 GGAATCAAG (SEQ ID NO: 1030)

[спейсер (SEQ ID NO: 362)][PD-1 1.5 PD035 2001 (SEQ ID NO:  
 997)]

[QQSGQG][PYICSSFPLDCQAGQGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 293)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD035 2001:**

PYICSSFPLDCQAGQGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1076)

[спейсер (SEQ ID NO: 918)][PD-1 1.5 PD035 2001 (SEQ ID NO:  
 998)]

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT][CCTTATATTTGCTCTAGTTTTCCGTTGGATTGCCA  
 GGCGGTCAGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGGCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 584)

**Пример 9. Активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию.**

В данном примере продемонстрировано, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию могут быть получены в различных комбинациях доменов MM, CM, VL и VH, а также в различных изоформах Ig. Кроме того, в данном примере продемонстрировано, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию могут быть получены в различных комбинациях доменов MM, CM, VLCDR1, VLCDR2, VLCDR3, VHCDR1, VHCDR2 и VHCDR3, а также в различных изоформах Ig.

Таблица 13

Маск. посл-ть	Субстраты:	VL	VH	VL CDR-области			VH CDR-области		
		SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:	SEQ ID NO:
				CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
AMSGCSWSAFPCPYLA (SEQ ID NO: 66)	LSGRSDNH (SEQ ID NO: 294)	1	3	653	658	664	669	678	683
DVNCIAIWYSVCTTVP (SEQ ID NO: 67)	TGRGPSWV (SEQ ID NO: 295)	5	7	654	659	665	670	679	684
LVCPLYALSSGVCMG (SEQ ID NO: 68)	PLTGRSGG (SEQ ID NO: 296)	9	11	655	660	666	671	680	685
SVNCRIWSAVCAGYE (SEQ ID NO: 69)	TARGPSFK (SEQ ID NO: 297)	13	15	656	661	667	672	681	686
MLVCSLQPTAMCERV (SEQ ID NO: 70)	NTLSGRSENHSG (SEQ ID NO: 298)	17	19	657	662	668	673	682	687
APRCYMFASYCKSQY (SEQ ID NO: 71)	NTLSGRSGNHGS (SEQ ID NO: 299)	21	39		663		674		
VGPCELTPKPV CNTY (SEQ ID NO: 72)	TSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 300)	23	41				675		
ETCNQYERSSSLGCF (SEQ ID NO: 73)	TSGRSANP (SEQ ID NO: 301)	25	43				676		
APRTCYYTQCSSFY (SEQ ID NO: 74)	VHMPLGFLGP (SEQ ID NO: 302)	27	45				677		
GLCSWYLSSSLGCV (SEQ ID NO: 75)	AVGLLAPP (SEQ ID NO: 303)	29	47	VL CDR-области SEQ ID NO: 1			VH CDR-области SEQ ID NO: 3		
VPWCQLTPRVMCMWA (SEQ ID NO: 76)	AQNLLGMV (SEQ ID NO: 304)	31	49	VL CDR-области SEQ ID NO: 5			VH CDR-области SEQ ID NO: 7		
NWLDCQFYSECSVYG (SEQ ID NO: 77)	QNQALRMA (SEQ ID NO: 305)	33	51	VL CDR-области SEQ ID NO: 9			VH CDR-области SEQ ID NO: 11		
SCPLYVMSSFGGCWD (SEQ ID NO: 78)	LAAPLGLL (SEQ ID NO: 306)	35	53	VL CDR-области SEQ ID NO: 13			VH CDR-области SEQ ID NO: 15		
MSHCWFMSSSDGK (SEQ ID NO: 79)	STFPFGMF (SEQ ID NO: 307)	37	55	VL CDR-области SEQ ID NO: 17			VH CDR-области SEQ ID NO: 19		
VSYCTWLVSLTCLRG (SEQ ID NO: 80)	ISSGLLSS (SEQ ID NO: 308)		57	VL CDR-области SEQ ID NO: 21			VH CDR-области SEQ ID NO: 39		
VLCAAYALSSGICGG (SEQ ID NO: 81)	PAGLWLDP (SEQ ID NO: 309)		59	VL CDR-области SEQ ID NO: 23			VH CDR-области SEQ ID NO: 41		
TTCNLYQQSSMFCNA (SEQ ID NO: 82)	VAGRSMRP (SEQ ID NO: 310)			VL CDR-области SEQ ID NO: 25			VH CDR-области SEQ ID NO: 43		
APRCYMFASYCKSQY (SEQ ID NO: 83)	VVPEGRRS (SEQ ID NO: 311)			VL CDR-области SEQ ID NO: 27			VH CDR-области SEQ ID NO: 45		
PCDQNPYFYPIVCHA (SEQ ID NO: 84)	ILPRSPAF (SEQ ID NO: 312)			VL CDR-области SEQ ID NO: 29			VH CDR-области SEQ ID NO: 47		
SVCPMYALSSMLCGA (SEQ ID NO: 85)	MVLGRSLL (SEQ ID NO: 313)			VL CDR-области SEQ ID NO: 31			VH CDR-области SEQ ID NO: 49		
LSVECVFVSRCSLSP (SEQ ID NO: 86)	QGRAITFI (SEQ ID NO: 314)			VL CDR-области SEQ ID NO: 33			VH CDR-области SEQ ID NO: 51		
FYCTYLVSLTCHPQ (SEQ ID NO: 87)	SPRSIMLA (SEQ ID NO: 315)			VL CDR-области SEQ ID NO: 35			VH CDR-области SEQ ID NO: 53		
SMAGCQWSSFCVQRD (SEQ ID NO: 88)	SMLRSMP (SEQ ID NO: 316)			VL CDR-области SEQ ID NO: 37			VH CDR-области SEQ ID NO: 55		
IYSCYMFASRCTSDK (SEQ ID NO: 89)	SARGPSRW (SEQ ID NO: 319)						VH CDR-области SEQ ID NO: 57		
SRCSVYEVSSGLCDW (SEQ ID NO: 90)	GWHTGRN (SEQ ID NO: 320)						VH CDR-области SEQ ID NO: 59		
GMCSAYAYSSKLCTI (SEQ ID NO: 91)	HTGRSGAL (SEQ ID NO: 321)			ЛЦ CDR-области SEQ ID NO: 543			ТЦ CDR-области SEQ ID NO: 546		
MTTNTCNLLCQQLT (SEQ ID NO: 92)	AARGPAIH (SEQ ID NO: 322)								
FQPCLMFASSCFTSK (SEQ ID NO: 93)	RGPAFNPM (SEQ ID NO: 323)								
WNCHPAGVGFVCEV (SEQ ID NO: 94)	SSRGPAYL (SEQ ID NO: 324)								
ALCSMYLASSGLCNK (SEQ ID NO: 95)	RGPATPIM (SEQ ID NO: 325)								
NYLSCQFFQNCYETY (SEQ ID NO: 96)	RGPA (SEQ ID NO: 326)								
GWCLFSDMWLGLCSA (SEQ ID NO: 97)	GGQPSGMWGW (SEQ ID NO: 327)								
EFCARDWLPYQCSSF (SEQ ID NO: 98)	FPRPLGITGL (SEQ ID NO: 328)								
TSYCSIEHYPCNTHH (SEQ ID NO: 99)	SPLTGRSG (SEQ ID NO: 329)								
PYICSSFPLDCQAGQ (SEQ ID NO: 100)	SAGFSLPA (SEQ ID NO: 330)								



VGCEWYMSSSGMCSR (SEQ ID NO: 101)	LAPLGLQRR (SEQ ID NO: 331)			
EVCGGCSMQSVSCWP (SEQ ID NO: 102)	SGGPLGVR (SEQ ID NO: 332)			
FTECQLSPKAICMSN (SEQ ID NO: 103)	PLGL (SEQ ID NO: 333)			
KYCLFSEYVEGTCLN (SEQ ID NO: 104)	ISSGLSS (SEQ ID NO: 334)			
SGCPMYAWGWDECWR (SEQ ID NO: 105)	PVGYTSSL (SEQ ID NO: 335)			
VDCPWYASSSAICSR (SEQ ID NO: 106)	DWLYWPGI (SEQ ID NO: 336)			
DMLLCQIRGSCAAWG (SEQ ID NO: 107)	LKAAPRWA (SEQ ID NO: 337)			
ECHPYQASASLWCGY (SEQ ID NO: 108)	GPSHLVLT (SEQ ID NO: 338)			
MMMGCMWSAWCPPSR (SEQ ID NO: 109)	LPGGLSFW (SEQ ID NO: 339)			
NAYFRCSLMCNMIMF (SEQ ID NO: 110)	MGLFSEAG (SEQ ID NO: 340)			
ACCKESVHSVHDKCR (SEQ ID NO: 111)	SPLPLRVP (SEQ ID NO: 341)			
ACIGINSYMSNYCYL (SEQ ID NO: 112)	RMHLRSLG (SEQ ID NO: 342)			
ANCSFLELTNKFCTI (SEQ ID NO: 113)	LLAPSHRA (SEQ ID NO: 343)			
AYCSYLMFASNPCII (SEQ ID NO: 114)	GPRSFGL (SEQ ID NO: 344)			
CFTSKPCCLCYSLLA (SEQ ID NO: 115)	GPRSFG (SEQ ID NO: 345)			
CLCRDINCWLGCST (SEQ ID NO: 116)	LSGRSGNH (SEQ ID NO: 1157)			
CWCDIYCSFYQCSFF (SEQ ID NO: 117)	SGRSANPRG (SEQ ID NO: 1158)			
DCIYYQSANLCSY (SEQ ID NO: 118)	LSGRSDDH (SEQ ID NO: 1161)			
DCTGVNYYIDKHCTN (SEQ ID NO: 119)	LSGRSDIH (SEQ ID NO: 1162)			
DECHGYLRSSGLCGG (SEQ ID NO: 120)	LSGRSDQH (SEQ ID NO: 1165)			
DICSAYAASSGFCYY (SEQ ID NO: 121)	LSGRSDTH (SEQ ID NO: 1166)			
DIICVLPTAWCGRT (SEQ ID NO: 122)	LSGRSDYH (SEQ ID NO: 1169)			
DNCCMYCSWWIACRD (SEQ ID NO: 123)	LSGRSDNP (SEQ ID NO: 1520)			
DSCQWYMLADLGGT (SEQ ID NO: 124)	LSGRSANP (SEQ ID NO: 1695)			
DSVCFSSSFLCHKKS (SEQ ID NO: 125)	LSGRSANI (SEQ ID NO: 1696)			
DTMCAIWWTVCSGGR (SEQ ID NO: 126)	LSGRSDNI (SEQ ID NO: 1697)			
ECTYQTSSFHEACMS (SEQ ID NO: 127)	MIAPVAYR (SEQ ID NO: 1698)			
EGCNLYERSSYGCNN (SEQ ID NO: 128)	RPSPMWAY (SEQ ID NO: 1699)			
EGCTAFAMSAGICGG (SEQ ID NO: 129)	WATPRPMR (SEQ ID NO: 1700)			
EQSCSLTPIAFCWSE (SEQ ID NO: 130)	FRLLDWQW (SEQ ID NO: 1701)			
EWCNAYISSKLCST (SEQ ID NO: 131)	ISSGL (SEQ ID NO: 1702)			
FEVCYMFASACRNGM (SEQ ID NO: 132)	ISSGLLS (SEQ ID NO: 1703)			
FSCSWYAESSSLCDI (SEQ ID NO: 133)	ISSGLL (SEQ ID NO: 1704)			
FVCQMFEEASSGLCGG (SEQ ID NO: 134)	ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO: 214)			
FYCPCCMFASSCGSR (SEQ ID NO: 135)	AVGLLAPPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 318)			
FYCSYLPGASHQCST (SEQ ID NO: 136)	ISSGLSSGGSGGSLGRSDNH (SEQ ID NO: 346)			
FYCSYLMCEVCCYE (SEQ ID NO: 137)	ISSGLSSGGSGGSLGRSDNH (SEQ ID NO: 346)			
GFCTQHTVLTWCPTS (SEQ ID NO: 138)	AVGLLAPPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 347)			

GSCPSYAVSAGLCYA (SEQ ID NO: 139)	TSTSGRSANPRGGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 348)
GSQCFLTPTAFCTHT (SEQ ID NO: 140)	VHMPGLGFLGPGGTSTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 349)
GTCHPYMQSSKICNN (SEQ ID NO: 141)	TSTSGRSANPRGGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 350)
GVECFVFTGGCGGYG (SEQ ID NO: 142)	LSGRSDNHGGAVGLLAPP (SEQ ID NO: 351)
HELNCNGHWVPCWAY (SEQ ID NO: 143)	VHMPGLGFLGPGGLSGRSDNH (SEQ ID NO: 352)
ICDSYYAVSSGLCLL (SEQ ID NO: 144)	LSGRSDNHGGVHMPGLGFLGP (SEQ ID NO: 353)
IGCAWYVSSAGWCSP (SEQ ID NO: 145)	LSGRSDNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 354)
INLCWFMFASCEGHH (SEQ ID NO: 146)	LSGRSGNHGGSGGSISSGLLSS (SEQ ID NO: 355)
KCWLAEMTNLEHCNM (SEQ ID NO: 147)	ISSGLLSSGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 356)
KHCSDFAFSSRLCDR (SEQ ID NO: 148)	LSGRSDNHGGSGGSONQALRMA (SEQ ID NO: 357)
KVCSSYASSSGLCGW (SEQ ID NO: 149)	QNQALRMAGGSGGSLSGRSDNH (SEQ ID NO: 358)
LDSCYMFASYCVQAV (SEQ ID NO: 150)	LSGRSGNHGGSGGSONQALRMA (SEQ ID NO: 359)
LLACHPIFVTVCQTR (SEQ ID NO: 151)	QNQALRMAGGSGGSLSGRSGNH (SEQ ID NO: 360)
LLSCPYNPEHVCHTS (SEQ ID NO: 152)	ISSGLLSGRSGNH (SEQ ID NO: 361)
LMCSLYALSSNLGCR (SEQ ID NO: 153)	ISSGLLSSGGSGGSLSGRNNH (SEQ ID NO: 1091)
LMWCVLFLWSWCCRI (SEQ ID NO: 154)	ISSGLLSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1092)
LPICHLTPTAVCTHI (SEQ ID NO: 155)	AVGLLAPPTSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1093)
LSNMCLAFGSCLYAW (SEQ ID NO: 156)	AVGLLAPPSGRSANPRG (SEQ ID NO: 1094)
LSRCHPIWYTICQNP (SEQ ID NO: 157)	ISSGLLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1095)
LTQCMSVHKECGGYE (SEQ ID NO: 158)	ISSGLLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1096)
LVNCRISWVCEEAT (SEQ ID NO: 159)	ISSGLLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1097)
LYCSWYQMSSAVCKE (SEQ ID NO: 160)	ISSGLLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1098)
MECGWYALSARFCEV (SEQ ID NO: 161)	ISSGLLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1099)
MTCSPYAMSAHFCNE (SEQ ID NO: 162)	ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1100)
MVCSLYAYSASLOGA (SEQ ID NO: 163)	ISSGLLSGRSANP (SEQ ID NO: 1101)
NALCWSTFSWWCDMD (SEQ ID NO: 164)	ISSGLLSGRSANI (SEQ ID NO: 1102)
NFTCMLTPKAYCVQT (SEQ ID NO: 165)	AVGLLAPPGLSGRSDDH (SEQ ID NO: 1103)
NGACIFTLSWCTNKI (SEQ ID NO: 166)	AVGLLAPPGLSGRSDIH (SEQ ID NO: 1104)
NGCELYAAASGLCRT (SEQ ID NO: 167)	AVGLLAPPGLSGRSDQH (SEQ ID NO: 1105)
NIECSVFGRCDDNY (SEQ ID NO: 168)	AVGLLAPPGLSGRSDTH (SEQ ID NO: 1106)
PACRPMFWNRSCDNI (SEQ ID NO: 169)	AVGLLAPPGLSGRSDYH (SEQ ID NO: 1107)
PCRVSNMFFPYNCLD (SEQ ID NO: 170)	AVGLLAPPGLSGRSDNP (SEQ ID NO: 1108)
PIMCMLLPESYCIWI (SEQ ID NO: 171)	AVGLLAPPGLSGRSANP (SEQ ID NO: 1109)
PQSCYMFASLCPNG (SEQ ID NO: 172)	AVGLLAPPGLSGRSANI (SEQ ID NO: 1110)
PRCPQGLPLYQCSSF (SEQ ID NO: 173)	ISSGLLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1111)
PSVECLVFKRCYALP (SEQ ID NO: 174)	AVGLLAPPGLSGRSDNI (SEQ ID NO: 1112)
PVCQRSATIYNWNF (SEQ ID NO: 175)	
QCAAAYISSFGGCSN (SEQ ID NO: 176)	

QFGCFMLARDFCGTY (SEQ ID NO: 177)				
QMMCPYNPEHKCHQK (SEQ ID NO: 178)				
QRECFWFASSCNSKN (SEQ ID NO: 179)				
QSNMCTTYICSSFNY (SEQ ID NO: 180)				
QSRCHSLAPYLCSSF (SEQ ID NO: 181)				
RAYCSLLFADSCNHN (SEQ ID NO: 182)				
RCIGINQYIDSNCYN (SEQ ID NO: 183)				
RLSCFMFASQCALEF (SEQ ID NO: 184)				
RQCIIILMNRQCFFK (SEQ ID NO: 185)				
RSCTPYMMSSSLCNT (SEQ ID NO: 186)				
RYCHYWKMPYECSSF (SEQ ID NO: 187)				
SCVLSWFDMLKCYE (SEQ ID NO: 188)				
SDNCEIWWTVCSAAM (SEQ ID NO: 189)				
SFCWSYLVSSGLCGV (SEQ ID NO: 190)				
SMCMNNGTITMCGN (SEQ ID NO: 191)				
SMVCGGWSTFCPSRG (SEQ ID NO: 192)				
SSLHCANGHTCPFCL (SEQ ID NO: 193)				
SVCSYEESSGICSP (SEQ ID NO: 194)				
SWCGWYAASSGVCAL (SEQ ID NO: 195)				
TCISQTIIDSYLNCVN (SEQ ID NO: 196)				
TFCNLYTKSSNICMS (SEQ ID NO: 197)				
TYCVFHEYLDNTCNN (SEQ ID NO: 198)				
VATGCPNMLCGSWP (SEQ ID NO: 199)				
VEYCSLLLGNRCDYW (SEQ ID NO: 200)				
VGCNMYLMSAGLCVD (SEQ ID NO: 201)				
VLYCSWDSGTCVGS (SEQ ID NO: 202)				
VMFSCYLETCAFV (SEQ ID NO: 203)				
VRIGLCPESCLVSGF (SEQ ID NO: 204)				
VTCTYYATSSSLCNT (SEQ ID NO: 205)				
VTGCILLPKAWCGD (SEQ ID NO: 206)				
VWCSIYEYSSNLCSR (SEQ ID NO: 207)				
WMLECCYNNNTCNMT (SEQ ID NO: 208)				
WPCSPLEYNNICNV (SEQ ID NO: 209)				
WTYDCHLNQTCPTY (SEQ ID NO: 210)				
YCSINMYLIGNCMY (SEQ ID NO: 211)				
YFCSLYANSAGFCGG (SEQ ID NO: 212)				
YVSCYMFSSSCPSTW (SEQ ID NO: 213)				

Любую из комбинаций, описанных в табл. 13, можно комбинировать с константными областями иммуноглобулина человека с получением полностью гуманизованных IgG, включающих IgG1, IgG2, IgG4 или мутантные константные области, с получением человеческих IgG с измененными функциями, такими как IgG1 N297A, IgG1 N297Q или IgG4 S228P. Дополнительные примеры известны специалистам в данной области. Примеры аминокислот константной области тяжелой цепи Ig, в которых мутации по меньшей мере по одной аминокислоте приводят к сниженной функции Fc, включают, без ограничения перечисленными, мутации по аминокислоте 228, 233, 234, 235, 236, 237, 239, 252, 254, 256, 265, 270, 297, 318, 320, 322, 327, 329, 330 и 331 константной области тяжелой цепи. Примеры комбинаций мутантных аминокислот также известны в уровне техники, такие как, без ограничения перечисленными, комбинация мутаций по аминокислотам 234, 235 и 331, таких как L234F, L235E и P331S, или комбинация аминокислот 318, 320 и 322, таких как E318A, K320A и K322A.

В качестве примера маскирующую часть, включающую SEQ ID NO: 66, можно комбинировать с

субстратом, включающим SEQ ID NO: 294, и VL областью, включающей SEQ ID NO: 39, в комбинации с человеческим каппа константным доменом, включающим SEQ ID NO: 61, с получением легкой цепи, включающей SEQ ID NO: 380. В некоторых вариантах осуществления, например, VH область, включающая SEQ ID NO: 21, может быть объединена с константным доменом тяжелой цепи человеческого иммуноглобулина, с получением тяжелой цепи IgG1 (SEQ ID NO: 2048), тяжелой цепи IgG4 (SEQ ID NO: 2051), тяжелой цепи IgG4 S228P (SEQ ID NO: 2047), мутантной тяжелой цепи IgG1 N2 97A (SEQ ID NO: 2049) или мутантной тяжелой цепи IgG1 N297Q (SEQ ID NO: 2050). Коэкспрессия SEQ ID NO: 380 с SEQ ID NO: 2048 приведет к активируемому антителу IgG1 против PD-1. Коэкспрессия SEQ ID NO: 380 с SEQ ID NO: 2051 приведет к активируемому антителу IgG4 против PD-1. Коэкспрессия SEQ ID NO: 380 с SEQ ID NO: 2047 приведет к активируемому антителу IgG4 S228P против PD-1. Коэкспрессия SEQ ID NO: 380 с SEQ ID NO: 2049 приведет к активируемому антителу IgG1 N297A против PD-1. Коэкспрессия SEQ ID NO: 380 с SEQ ID NO: 2050 приведет к активируемому антителу IgG1 N297Q против PD-1.

В некоторых вариантах осуществления маскирующую часть, включающую SEQ ID NO: 99, комбинируют с субстратом, включающим SEQ ID NO: 214, и VL областью, включающей SEQ ID NO: 47, в комбинации с человеческим каппа константным доменом, включающим SEQ ID NO: 61, с получением легкой цепи, включающей SEQ ID NO: 2 055. В некоторых вариантах осуществления спейсер QGQSGQG (SEQ ID NO: 362) добавлен на N-конец SEQ ID NO: 2055 с получением SEQ ID NO: 2054. В некоторых вариантах осуществления маскирующую часть, включающую SEQ ID NO: 99, комбинируют с субстратом, включающим SEQ ID NO: 1100, и VL областью, включающей SEQ ID NO: 47, в комбинации с человеческим каппа константным доменом, включающим SEQ ID NO: 61, с получением легкой цепи, включающей SEQ ID NO: 2057. В некоторых вариантах осуществления спейсер QGQSGQG (SEQ ID NO: 362) добавлен на N-конец SEQ ID NO: 2057 с получением SEQ ID NO: 2056. В некоторых вариантах осуществления маскирующую часть, включающую SEQ ID NO: 99, комбинируют с субстратом, включающим SEQ ID NO: 1101, и VL областью, включающей SEQ ID NO: 47, в комбинации с человеческим каппа константным доменом, включающим SEQ ID NO: 61, с получением легкой цепи, включающей SEQ ID NO: 2059. В некоторых вариантах осуществления спейсер QGQSGQG (SEQ ID NO: 362) добавлен на N-конец SEQ ID NO: 2059 с получением SEQ ID NO: 2058. В некоторых вариантах осуществления VH область, включающую SEQ ID NO: 21, можно комбинировать с константным доменом тяжелой цепи иммуноглобулина человека IgG4 S22 8P, включающим SEQ ID NO: 63, с получением тяжелой цепи, включающей SEQ ID NO: 2052. В некоторых вариантах осуществления С-концевой лизин в SEQ ID NO: 2052 отсутствует с получением аминокислотной последовательности, содержащей SEQ ID NO: 2053. Коэкспрессия любой из указанных легких цепей с любой из указанных тяжелых цепей приведет к получению активируемого антитела согласно вариантам осуществления.

Аминокислотные последовательности константной области показаны ниже в SEQ ID NO: 381, 382, 383 и 1807.

#### СН1-концевая аминокислотная последовательность Тц IgG1:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 381)
```

#### СН1-концевая аминокислотная последовательность IgG1NA:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 382)
```

#### СН1-концевая аминокислотная последовательность IgG1NQ:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 1807)
```

#### СН1-концевая аминокислотная последовательность Тц IgG4:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVNPKSNTKVDKRVESKYGPPCP[PC]PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHNYTQKLSLSLG (SEQ ID NO: 383)

**Аминокислотная последовательность легкой цепи (Лц):**

AMSGCSWSAFCPYLA[X1]LSGRSDNH[X2]DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVDNYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFQGQTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 380)

где каждый из X1 и X2 независимо может быть соединительным пептидом или отсутствовать.

**Аминокислотная последовательность тяжелой цепи (Тц) IgG4 S228P:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVNPKSNTKVDKRVESKYGPPCP[PC]PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHNYTQKLSLSLGK (SEQ ID NO: 2047)

**Аминокислотная последовательность тяжелой цепи (Тц) IgG1:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[Q]STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHNYTQKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 2048)

**Аминокислотная последовательность Тц IgG1NA:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[A]STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHNYTQKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 2049)

**Аминокислотная последовательность Тц IgG1NQ:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY[Q]STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHNYTQKLSLSLSPG (SEQ ID NO: 2050)

**Аминокислотная последовательность Тц IgG4:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAH  
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTVTVSS  
 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYS  
 LSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPKNTKVDKRVESKYGPPCP[ ]CPAPEFLGGPSVFLFPPKPK  
 DTLMI SRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD  
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD  
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS  
 LLSLGLG (SEQ ID NO: 2051)

**Аминокислотная последовательность тяжелой цепи 1 (SEQ ID NO: 2052):**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAH  
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTVTVSSASTK  
 GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSV  
 VTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPKNTKVDKRVESKYGPPCP[ ]CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM  
 ISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD  
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL  
 LGK

**Аминокислотная последовательность тяжелой цепи 2 (SEQ ID NO: 2053):**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVAYISNSGGNAH  
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTREDYGTSPFVYWGQGLTVTVSSASTK  
 GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSV  
 VTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPKNTKVDKRVESKYGPPCP[ ]CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLM  
 ISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD  
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL  
 LG

**Аминокислотная последовательность легкой цепи 1 со спейсером (SEQ ID NO: 2054):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDVITITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV  
 CLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV  
 HQGLSSPVTKSFNRGEC]

**Аминокислотная последовательность легкой цепи 1 без спейсера (SEQ ID NO: 2055):**

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDV  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPRE  
 AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
 SFNRGEC

**Аминокислотная последовательность легкой цепи 2 со спейсером (SEQ ID NO: 2056):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGSISSGLLSGRSDNPGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDVITITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV  
 CLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV  
 HQGLSSPVTKSFNRGEC]

**Аминокислотная последовательность легкой цепи 2 со спейсером (SEQ ID NO: 2057):**

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGSISSGLLSGRSDNPGGSDIQLTQSPSSLSASVGDV  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFYPRE  
 AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
 SFNRGEC

**Аминокислотная последовательность легкой цепи 3 со спейсером (SEQ ID NO: 2058):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTVITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQGGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV  
 CLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVT  
 HQGLSSPVTKSFNRGEC]

Аминокислотная последовательность легкой цепи 3 со спейсером (SEQ ID NO: 2059):

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRTV  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPRE  
 AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
 SFNRGEC

Пример 10. Оценка эффективности маскирующих частей.

В данном примере описаны активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию с пониженным связыванием с hPD-1.

Маскирование способности антитела связываться со своим антигеном является примером ингибирования связывания. Степень ингибирования зависит от аффинности антитела к его антигену, аффинности маскирующей молекулы (также указанной в настоящем изобретении как маска) к антителу и концентрации всех реагентов. Локальные концентрации присоединенной пептидной маски (ингибитора) очень высоки в отношении активируемого антитела, порядка 10 мМ, поэтому пептиды с умеренной аффинностью будут эффективно маскировать связывание антигена активируемым антителом.

Эффективность маскирования оценивали с помощью стандартного планшетного ELISA. Коротко, человеческий PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенные антитела против PD-1 и активируемые антитела наносили на планшет в серийном разведении и позволяли связываться. Связанное антитело и активируемые антитела детектировали Fab-специфичным HRP-конъюгатом IgG против человеческих антител (Sigma, St Louis, MO) и визуализировали хромогенным субстратом TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL). Показаны кривые изотерм связывания для активируемых антител против PD-1, A1.4 и A1.5 (фиг. 14-18). Кривые строили в Prism (Sigma Plot); данные аппроксимировали в модели насыщающего связывания с одним участком и определяли равновесную константу диссоциации,  $K_d$ . Эффективность маскирования вычисляли путем деления  $K_d$  для связывания активируемых антител на  $K_d$  исходного антитела. Значения эффективности маскирования (ME) для протестированных антител показаны в табл. 14 и табл. 15 ниже (маскирующая часть 00PD-1 также именуется в настоящем изобретении как 0PD-1 и/или 0PD-1; маскирующая часть 0PD02 также именуется в настоящем изобретении как PD02 и/или PD02, и так далее), и значения кажущейся  $K_d$  (нМ) и эффективности маскирования (ME) для протестированных активируемых антител показаны в табл. 26.

Таблица 14

Значения эффективности маскирования для протестированных активируемых антител на фиг. 14

Маска	ME
0PD-1	25
PD02	18
PD03	5
PD08	13
PD09	2
PD10	13

Таблица 15

Значения эффективности маскирования для протестированных активируемых антител на фиг. 18

Маска	ME
Нет	1
PD06	30
PD09	2
PD12	10
PD17	20
PD19	30
PD25	30
PD26	20
PD28	25
PD34	42

Таблица 26  
Значения кажущейся  $K_d$  и эффективности маскирования  
для протестированных активируемых антител на фиг. 15

Молекула	Кажущаяся $K_d$ , нМ	Эффективность маскирования
A1.5 (n=5 сред.)	1,8	
PD01	348	193
PD02	21	12
PD03	109	61
PD05	68	38
PD06	71	39
PD08	55	31
PD09	10	6
PD10	54	30
PD11	67	37
PD12	25	14
PD13	151	84
PD14	100	56
PD15	117	65
PD16	57	32
PD17	22	12
PD18	75	42
PD19	93	52
PD20	77	43
PD21	49	27
PD22	41	23
PD23	31	17
PD24	92	51

Пример 11. Активируемые антитела против PD-1 вариантов осуществления функционально маскированы в тесте с повторной стимуляцией человеческих Т-клеток.

В данном примере описано воздействие маскирующих частей на биологическую функцию антитела против PD-1 (фиг. 19).

МКПК ЦМВ-положительного донора (Nemasare) сеяли в количестве  $2 \times 10^5$  клеток/лунка в присутствии ЦМВ вирусного лизата (Astarte) и антитела против PD-1 A1.5, активируемого антитела против PD-1 согласно настоящему описанию или контрольного изотипического hIgG4 антитела. Через четыре дня супернатант удаляли из каждой лунки и определяли уровни IFN-гамма с использованием набора для ELISA анализа IFN-гамма (Life Technologies, Carlsbad, CA). Активируемые антитела против PD-1 A1.5 увеличивали ЦМВ-стимулируемую секрецию IFN-гамма по сравнению с контрольным hIgG4, но с пониженной активностью по сравнению с исходным антителом против PD-1 A1.5 (фиг. 19).

Пример 12. Антитело mIgG2a J43v2 против мышинового PD-1 связывает мышинный PD-1 и блокирует связывание мышинового PD-L1 и мышинового PD-L2.

В данном примере продемонстрировано, что антитело J43 серого хомячка против мышинового PD-1 (US 7,858,746; Agata et al., 1996, International Immunology, Vol. 8 No. 5, стр. 765-77) может функционально экспрессироваться как мышинное IgG2a антитело.

Антитело J43 против мышинового PD-1 переформатировали в мышинное IgG2a антитело с ЛЦ хомячка (аминокислота SEQ ID NO: 543; нуклеотид SEQ ID NO: 544 или SEQ ID NO: 545) путем слияния вариабельного домена тяжелой цепи с mIgG2a, получив в результате аминокислоту SEQ ID NO: 546, нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 547. Полноразмерное J43v2 mIgG2a (также называемое J43v2, J43 m2a и J43v2 m2a) экспрессировали посредством транзientной трансфекции клеток НЕК293 и очищали из супернатанта культуры с помощью хроматографии с белком G. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является антитело, включающее легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 543. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является антитело, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 546. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является антитело, включающее легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 543, и тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 546. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является антитело, включающее CDR-области антитела, включающие легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 543, и тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 546.

Функциональность исследовали посредством связывания J43v2 m2a с клетками НЕК293, экспрес-



сирующими мышиный PD-1, и подтверждения того, что связывание J43v2 m2a с HEK293-mPD-1 ингибировало связывание биотинилированного mPD-L1 и биотинилированного mPD-L2 с HEK293-mPD-1 (фиг. 20).

Приблизительно 100000 mPD-1 HEK293 клеток переносили в 96-луночный планшет с круглодонными (имеющими U-образное дно) лунками. Для эксперимента связывания, титрование 1:4 антитела J43v2 m2a, начиная со 150 нМ, добавляли к клеткам. Для экспериментов блокирования, 20 нМ биотинилированного mPD-L1-Fc или 20 нМ биотинилированного mPD-L2-Fc предварительно смешивали с 1:4 титрованием J43v2 m2a, начиная со 150 нМ, и добавляли к клеткам. Обе смеси инкубировали в течение 1 ч на льду и промывали клетки 3 раза. Связывание антитела J43v2 m2a детектировали при использовании вторичного антитела против мышиных антител (Jackson Immunoresearch, West Grove, PA). Для эксперимента блокирования биотинилированный PD-L1 или биотинилированный PD-L2 детектировали при использовании стрептавидина-ФЭ (Life Technologies, Carlsbad, CA). Связывание и блокирование инкубировали в течение 30 мин на льду, промывали и регистрировали на проточном цитометре (MACSQuant).

Пример 13. J43v2 m2a вызывает диабет в модели на NOD мышах.

В данном примере было подтверждено, что антитело против PD-1, J43v2 m2a, вызывает диабет в модели на NOD мышах.

То, что антитело J43v2 m2a вызывает диабет у NOD мышей, подтверждали следующим образом. Мыши NOD сублинии NOD/ShiLtJ были получены из Jackson Laboratory в возрасте 8 недель и проходили акклиматизацию в исследовательском центре в течение 2 недель. На 10 неделе мышей исследовали на наличие диабета перед включением в исследование, распределяли в группы и вводили дозы, как указано в табл. 16. на фиг. 21 показана дозозависимая индукция диабета у NOD мышей антителом J43v2 m2a. В день восемь после введения однократной дозы у 100% мышей в группе, получавшей изотипическое контрольное mIgG2a антитело, диабет не развивался, тогда как в группах 20 мг/кг, 3 мг/кг и 1 мг/кг 0%, 14% и 86% мышей не имели диабет, соответственно.

Таблица 16  
Схема исследования

Группа	Кол-во	Пол	Обработка	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Схема введения	Путь
1	7	Ф	mIgG2a (C1.18.4)	20	10	Раз в 7 дней	в/б
2	7	Ф	Антитело к PD-1 (J43v2)	20	10	Раз в 7 дней	в/б
3	7	Ф	Антитело к PD-1 (J43v2)	5	10	Раз в 7 дней	в/б
4	7	Ф	Антитело к PD-1 (J43v2)	1	10	Раз в 7 дней	в/б

Пример 14. Маскирующие части активируемого J43 против мышиного PD-1.

В данном примере описана идентификация маскирующих частей (ММ), которые уменьшают связывание антитела J43 против PD-1 со своей мишенью.

Антитело против PD-1 J43v2 mIgG2a использовали для скрининга библиотек с применением способа, подобного описанному в международной публикации PCT WO 2010/081173, опубликованной 15 июля 2010 года. Скрининг состоял из одного раунда МАКС и трех раундов ФАКС сортировки. Для начальной МАКС приблизительно  $1 \times 10^{12}$  клеток инкубировали с антителом J43v2 m2a при концентрации 200 нМ и отбирали приблизительно  $9 \times 10^7$  связывающих средств при использовании сфер Dynabeads с белком G (Life Technologies, Carlsbad, CA). Раунды ФАКС проводили путем мечения клеток антителом J43v2 m2a, меченным красителем DyLight 650 (Thermo-Fisher), и собирали клетки с наиболее интенсивной флуоресценцией следующим образом: 200 нМ J43-650 с отбором наиболее ярких 3% в раунде ФАКС 1 (F1), 20 нМ J43-650 с отбором наиболее ярких 8% в раунде ФАКС 2 (F2) и 1 нМ J43-650 с отбором наиболее двух популяций, наиболее ярких 20% и наиболее ярких 0,5%, в раунде ФАКС 3 (F3-20 и F3-0.5). Отдельные клоны пептидов из F2, F3-20 и F3-0.5 идентифицировали с помощью секвенирования (табл. 17), и затем подтверждали способность отобранных клонов пептидов MP001-MP014 связывать J43-650 (маскирующая часть MP001 также указана в настоящем изобретении как MP01 и/или MP-01; маскирующая часть MP002 также указана в настоящем изобретении как MP02 и/или MP-02, и так далее).

Таблица 17  
Последовательности маскирующих частей

Маска	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
MP001	DYTYCRWVNWCLSGV	384
MP002	ILCPEDPWGHKCKLP	385
MP003	TNIWSCQTYCDHKHK	386
MP004	SDHKCKLQNCMNTKV	387
MP005	PGNCHPMQKEMCQFI	388
MP006	VEHLCYTHNKCKHPD	389
MP007	TIPRCGQHPKCKDTL	390
MP008	ACRICQDHPKTKWNS	391
MP009	LIQCTGNLDHKCKHY	392
MP010	IPCHHSADHKHKCTS	393
MP011	SRQICADYNCHNKYK	394
MP012	QPCNPQIDHKIKCIY	395
MP013	HYTICMTHNKCKDMA	396
MP014	ANSLAVEHKCKHNY	397
MP015	AALHCTEHKCKNHK	398
MP016	APCIINTVDWKSCEI	399
MP017	ATNWCTHKQCKQDM	400
MP018	DCYNEHKLKTRVCNN	401
MP019	DEMQCESHKQCTNSK	402
MP020	DVGICSQHNKCKPTK	403
MP021	EKYCSSDDHKCKITL	404
MP022	ELECSHNKVKNCIQI	405
MP023	ELHPCNTHKCKPIVN	406
MP024	EVGSCNHPKCKSNNY	407
MP025	EYSPSLAHPKLDNA	408
MP026	FESLHPKKGHPEDLG	409
MP027	FPLCVRADRVCGDAQ	410
MP028	FQAPPASHNKLKPSL	411
MP029	GAIDSCHHKCKSPHY	412
MP030	GKIYTCEHNCTFGYS	413
MP031	HCTVNNHSSDHKCKI	414
MP032	HGTQCTHNKCKPILS	415
MP033	HIGWCLHPKCKTTTT	416
MP034	HLRTC IQKWCEHKMK	417
MP035	HTDCTMMSNHKCKIN	418
MP036	IRQQCTALACLLKVH	419
MP037	KGCSTHKMRAYCNQM	420
MP038	KMFTPCKIWCNNSYN	421
MP039	KTMCSGKQKCNSS	422
MP040	LACHSASLVDHKCKL	423
MP041	LCNVSMDHKHKPCYL	424
MP042	LGLNCFSEHKCKEHM	425
MP043	LGTCTHKHKNCNYTL	426
MP044	LHEGCTTHNKCKPIA	427
MP045	LKRSGTGHWTCTYTNW	428
MP046	LQRCTHKEKYCHAIH	429
MP047	LSHCYDHRKCSYIV	430
MP048	LSKCHNKEKNCNNN	431
MP049	MDTCEMHKQKCRPSF	432
MP050	MHNECLTHKCKVPIT	433
MP051	MLTLCNTNACHKEKN	434
MP052	MRPCLNNLEHKCKHY	435
MP053	MSRCPTHKMKCSLNI	436
MP054	MWICQEHLKCMTDT	437
MP055	MYYCKRRSAFYCTLN	438

MP056	NDCQHDKQMHKCKMH	439
MP057	NFGPCPMLLGCFGFR	440
MP058	NHTDCSHPKCKSHDS	441
MP059	NLNCPHKQKNC DKYH	442
MP060	NPQCTPIDHKCKTHH	443
MP061	NTTSCTHPKCKHQGK	444
MP062	NVGGCDNYGCHKLKN	445
MP063	PCSPGNLTWDHKCKY	446
MP064	PFTKCHGFNKCKEHT	447
MP065	PGDKCTHKEKCYNN	448
MP066	PNICNLDHKRKRIN	449
MP067	PQLACKHPKCKDAGN	450
MP068	PSCTMWHGGVCKHA	451
MP069	PSHRHPLAKPGFRVE	452
MP070	PTCFKTHNKSCKNRV	453
MP071	PTPVCHHNFHCFGYD	454
MP072	QATCQWKKRSKCHNK	455
MP073	QHSWCQHAKACNYGN	456
MP074	QNCSPYTTTHKCKLT	457
MP075	QSSNCEHKRKCSSIS	458
MP076	RPCLLGLVPDHKCKL	459
MP077	RRSCMRSINTCKQKY	460
MP078	RSSCPTVTPQNCENQ	461
MP079	RTMCLDLNHNKCKPSN	462
MP080	RTYWCTNHNKCKHNM	463
MP081	RVENCEHNQYCHKWK	464
MP082	SCHEDDHKNKNICSL	465
MP083	SDTCVMNHPKCKRDN	466
MP084	SSTCFHPNQKECMTK	467
MP085	SSYCGGITMRCRRAM	468
MP086	STGYCTYVNWNYTN	469
MP087	THKCKLHLQVCTQTT	470
MP088	TMNCTHPKQKCQHTN	471
MP089	TNVLCESHNCDHKNK	472
MP090	TQHAASLGVEHKS KI	473
MP091	TQLPCFDDHKCKNTN	474
MP092	TSDSCMRQKCEHKEK	475
MP093	TTCDDHKYKHKCAQL	476
MP094	TTCGAHKEKQHCIYT	477
MP095	TTYCAYWHNKCKFET	478
MP096	VGPTCGHAKCKQSEV	479

MP097	VSHPCNTHKCKTNIV	480
MP098	WDCRNTSHPKLKCHN	481
MP099	WSPCNSDHKRKCNNG	482
MP100	YANMSCEYDCHKMKY	483
MP101	YANPCTHKEKCHFKN	484
MP102	YDCSPSWTHPKCKHK	485
MP103	YGWTCTTHPKCKTTN	486
MP104	YQKCHPKAKDCGNNT	487
MP105	YWECPNMEHNKCKNN	488
MP106	PMGNRYCVLDHPKLLK	489
MP107	GHKSCCQKHCEYTQT	490
MP108	LYLEMCSCCCWESIT	491
MP109	ACQAQHCHYKTYACKP	492
MP110	CCYTCSVHPKCKNQL	493
MP111	CKHRCSHKEKCPANH	494
MP112	CHVLFCLMQCCRWSL	495
MP113	LNSSLVFDHPKAKPN	496
MP114	MCLLCRSKFGCKVKG	497
MP115	IICNDHKCKQNQCNN	498
MP116	IRCSLRDSLGCERM	499
MP117	TSCQPPKHKCTCNHG	500
MP118	TQCPHRCVKPNCWLH	501
MP119	KCCETKRNHKCTYK	502
MP120	LPHCCHKAKHCNHTS	503
MP121	PAMCAAIHEKCCIKV	504
MP122	PRSCGNQLCPCHYYK	505
MP123	TNKCSNHNMKCINY	506
MP124	VETCCQHCKYKYPFI	507
MP125	IFCCSNHEDHKCKTN	508
MP126	VCRLICPLTCVIGVG	509
MP127	FHGCCSVYSCLTNPG	510
MP128	ALACHPKQKPLEGQL	511
MP129	SIICCATSSCPLKHL	512
MP130	APCCRPHKEKPIDSR	513
MP131	WELCCPSADCRVAMG	514

Пример 15. Исследование активируемых антител против мышного PD-1.

В данном примере описаны активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию с пониженным связыванием с hPD-1 по сравнению со связыванием исходного антитела.

Эффективность маскирования оценивали с помощью стандартного планшетного ELISA. Коротко, мышинный PD-1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенное антитело J43v2 и активируемое антитело J43v2, включающие указанные маски, расщепляемую часть 2001 и антитело J43v2, наносили на планшет в серийном разведении и позволяли связываться. Связанное антитело и активируемое антитело детектировали HRP-конъюгатом IgG против мышинных антител (Sigma, St Louis, MO) и визуализировали хромогенным субстратом TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL). Кривые строили в Prizm (Sigma Plot). Все активируемые антитела J43 показали сильно пониженное связывание по сравнению с исходным J43 (фиг. 22).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело также включает спейсерную последовательность. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с MM активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с MM активируемого антитела в следующей структуре, от N-конца к C-концу: спейсер-MM-СМ-АВ. В некоторых вариантах осуществления спейсер, соединенный непосредственно с N-концом MM активируемого антитела, выбран из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQG (SEQ ID NO: 362). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQ (SEQ ID NO: 913). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSG (SEQ ID NO: 914). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQ (SEQ ID NO: 913). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSG (SEQ ID NO: 914). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQ (SEQ ID NO: 913). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSG (SEQ ID NO: 914).

кислотную последовательность QGQS (SEQ ID NO: 915). В некоторых вариантах осуществления, спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQ (SEQ ID NO: 916). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QG (SEQ ID NO: 917). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотный остаток Q. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не включает спейсерную последовательность.

Дополнительные примеры спейсеров включают GQSGQG (SEQ ID NO: 2042), QSGQG (SEQ ID NO: 2043), SGQG (SEQ ID NO: 2044), GQG (SEQ ID NO: 2045), QG (SEQ ID NO: 2046) и G.

Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию могут включать любую подходящую спейсерную последовательность, такую как, например, спейсерная последовательность, выбранная из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. Дополнительные примеры спейсеров включают GQSGQG (SEQ ID NO: 2042), QSGQG (SEQ ID NO: 2043), SGQG (SEQ ID NO: 2044), GQG (SEQ ID NO: 2045), QG (SEQ ID NO: 2046) и G. Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области также будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию в некоторых вариантах осуществления не включают спейсерную последовательность.

Вариабельные домены легкой цепи активируемого антитела против мышиноного PD-1.

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP001 2001 (SEQ ID NO: 999)]:

```
[QGQSGQG] [DYTYCRVWNWCLSGVGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 515)
```

Аминокислотная последовательность J43 MP001 2001:

```
DYTYCRVWNWCLSGVGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI
TCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI RDVRAEDEGD
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1077)
```

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP001 2001 (SEQ ID NO: 1000)]:

```
[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATTATACGTATTGCCGTTGGGTTAATTGGTGCTT
GTCTGGGGTGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTCAGATTGGTTTCATCA
AAGGTGAGCCAGACCATTGCAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG
AGGATGAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTT
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCT (SEQ ID NO: 516)
```

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP002 2001 (SEQ ID NO: 1001)]:

```
[QGQSGQG] [ILCPEDPWHKCKLPGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 517)
```

Аминокислотная последовательность J43 MP002 2001:

```
ILCPEDPWHKCKLPGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI
TCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI RDVRAEDEGD
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1078)
```

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP002 2001 (SEQ ID NO: 1002)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATTCTGTGCCCGGAGGATCCGTGGGGGCATAAGTG  
CAAGCTGCCTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTGAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTATAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 518)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP003 2001 (SEQ ID NO: 1003)]:**

[QGQSGQG] [TNIWSCQTYCDHKHKGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 519)

**Аминокислотная последовательность J43 MP003 2001:**

TNIWSCQTYCDHKHKGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1079)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP003 2001 (SEQ ID NO: 1004)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ACGAATATTTGGAGTTGCCAGACTTATTGCGATCA  
TAAGCATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTGAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTATAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 520)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP004 2001 (SEQ ID NO: 1005)]:**

[QGQSGQG] [SDHKCKLQNCMNTKVGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 521)

**Аминокислотная последовательность J43 MP004 2001:**

SDHKCKLQNCMNTKVGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1080)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP004 2001 (SEQ ID NO: 1006)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AGTGATCATAAGTGCAAGCTTCAGAATTGCATGAA  
ТАСТАAGGTTGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTGAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTATAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 522)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP005 2001 (SEQ ID NO: 1007)]:**

[QGQSGQG] [PGNCHPMQKEMCQFIGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 523)

**Аминокислотная последовательность J43 MP005 2001:**

PGNCHPMQKEMCQFIGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1081)

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP005 2001 (SEQ ID NO: 1008)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTGGTAATTGCCATCCTATGCAGAAGGAGATGTG  
CCAGTTTATTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTA CTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 524)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP006 2001 (SEQ ID NO: 1009)]:

[QGQSGQG] [VEHLCYTHNKCKHPDGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 525)

Аминокислотная последовательность J43 MP006 2001:

VEHLCYTHNKCKHPDGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1082)

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP006 2001 (SEQ ID NO: 1010)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTTGAGCATTTGTGCTATACGCATAATAAGTGCAA  
GCATCCTGATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTA CTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 526)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP007 2001 (SEQ ID NO: 1011)]:

[QGQSGQG] [TIPRCGQHPKCKDTLGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 527)

Аминокислотная последовательность J43 MP007 2001:

TIPRCGQHPKCKDTLGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1083)

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP007 2001 (SEQ ID NO: 1012)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ACTATCCGAGGTGCGGTCCAGCATCCGAAGTGCAA  
GGATACTTTGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTA CTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 528)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP008 2001 (SEQ ID NO:

1013):

[QGQSGQG] [ACRICQDHPKTKWNSGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 529)

**Аминокислотная последовательность J43 MP008 2001:**

ACRICQDHPKTKWNSGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI RDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1084)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP008 2001 (SEQ ID NO: 1014)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTAAGACGAA  
GTGGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTAAGTGTCTCAGGATATGTTGATAGTATAGCAAATTTGATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCCTCCTA (SEQ ID NO: 530)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP009 2001 (SEQ ID NO: 1015)]:**

[QGQSGQG] [LIQCTGNLDHKCKHYGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 531)

**Аминокислотная последовательность J43 MP009 2001:**

LIQCTGNLDHKCKHYGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI RDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1085)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP009 2001 (SEQ ID NO: 1016)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CTTATTCAGTGCCTGGTAATCTTGATCATAAGTG  
CAAGCATTTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTTGAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTAAGTGTCTCAGGATATGTTGATAGTATAGCAAATTTGATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCCTCCT (SEQ ID NO: 532)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP010 2001 (SEQ ID NO: 1017)]:**

[QGQSGQG] [IPCHNSADHKHKCTSGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 533)

**Аминокислотная последовательность J43 MP010 2001:**

IPCHNSADHKHKCTSGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI RDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1086)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP010 2001 (SEQ ID NO: 1018)]:**



[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATTCCCTTGCCATCATAGTGCTGATCATAAGCATAA  
GTGCACGAGTGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTACTGTTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 534)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP011 2001 (SEQ ID NO: 1019)]:**

[QGQSGQG] [SRQICADYNCHNKYKGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 535)

**Аминокислотная последовательность J43 MP011 2001:**

SRQICADYNCHNKYKGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1087)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP011 2001 (SEQ ID NO: 1020)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TCGCGGCAGATTTGCGCTGATTATAATTGCCATAA  
TAAGTATAAGGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTACTGTTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 536)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP012 2001 (SEQ ID NO: 1021)]:**

[QGQSGQG] [QPCNPQIDHKIKCIYGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 537)

**Аминокислотная последовательность J43 MP012 2001:**

QPCNPQIDHKIKCIYGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1088)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP012 2001 (SEQ ID NO: 1022)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CAGCCTTGCAATCCGCAGATTGATCATAAGATTA  
GTGCATTTATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGCTTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTACTGTTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 538)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP013 2001 (SEQ ID NO: 1023)]:**

[QGQSGQG] [HYTICMTHNKCKDMAGGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 539)

**Аминокислотная последовательность J43 MP013 2001:**

HYTICMTHNKCKDMAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1089)

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP013 2001 (SEQ ID NO: 1024)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATTATACTATTTGCATGACGCATAATAAGTGCAA  
GGATATGGCGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTAAGTGTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 540)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP014 2001 (SEQ ID NO: 1025)]:

[QGQSGQG] [ANSCLAVENKCKHNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 541)

Аминокислотная последовательность J43 MP014 2001:

ANSCLAVENKCKHNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1090)

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP014 2001 (SEQ ID NO: 1026)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCTAATAGTTGCCTTGCTGTTGAGCATAAGTGCAA  
GCATAATTATGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTTATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAG  
AGACTGTCAAAATCACCTGCTCTGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCA  
AAGGTCAGACCAGACCATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCT  
GAAAGAATCTCTGGGTCCAGCTCAGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTG  
AGGATGAAGGTGACTATTAAGTGTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTTGTATGTTTT  
TGGCAGCGGAACCCAGCTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 542)

Реформатированные тяжелая и легкая цепи против мышиноного PD-1:

Аминокислотная последовательность легкой цепи (ЛЦ) J43v2:

YELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPER  
ISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPP  
SPEELRTNKATLVCLVNDYFPGSATVTKANGATINDGVKTKPKSQGQNYMTSSYLSLTADQW  
KSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPAEL (SEQ ID NO: 543)

Нуклеотидная последовательность 1 ЛЦ J43v2:

TATGAGCTGACTCAGCCACCTTCAGCATCAGTCAATGTAGGAGAGACTGTCAAAATCAC  
CTGCTCTGGGACCAATTGCCGAAATATTTGCAGATTGGTTTCATCAAAGGTCAGACCAGACC  
ATTTTGAAGTGATATATGATGATAATAAGCGCCCTCGGGTATCCCTGAAAGAATCTCTGGGT  
CCAGCTCAGGACAACAGCCACCTTGACCATCAGAGATGTCCGGGCTGAGGATGAAGGTGACTA  
TACTGTTTCTCAGGATATGTTGATAGTGATAGCAAATTTGTATGTTTTTGGCAGCGGAACCCAG  
CTCACCGTCCTAGGTGGACCAAGTCTTCTCCCAAAGTCACAGTGTTCACCTTCACCTGAGG  
AGCTCCGGACAACAAAGCCACACTGGTGTGTCTGGTTAATGACTTCTACCCGGGTTCTGCAAC  
AGTGACCTGGAAGGCAAATGGAGCAACTATCAATGATGGGTTGAAGACTACAAAGCCTTCCAAA  
CAGGGCCAAAATACATGACCAGCAGCTACCTAAGTTTACAGCAGACCAGTGAAATCTCACA  
ACAGGGTTTCTGCCAAGTTACCCATGAAGGGGAAACTGTGGAGAAGAGTTTGTCCCTCGAGA  
ATGTCTT (SEQ ID NO: 544)

Нуклеотидная последовательность 2 ЛЦ J43v2:

TACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCAC  
 CTGTAGCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGAGCGACCAGACA  
 ATCTTCAAGTATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAA  
 GCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTA  
 CTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCCGGTCCGGTACCCAG  
 CTGACAGTGTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTCCCCCAAGCCCCGAGG  
 AACTGAGGACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCAC  
 CGTGACCTGGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAGCAAG  
 CAGGGCCAGAATACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGAAGTCCCACA  
 ACAGAGTGTCTGCCAAGTGACCACGAGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGA  
 GTGCCTG (SEQ ID NO: 545)

**Аминокислотная последовательность тяжелой цепи (ТЦ) J43v2 mIgG2a:**

EVRLLESGLVLPKPEGLSLKLSVASGFTFSDFMSWVRQAPGKLEWVAHIYTKSYNYA  
 TYYSGSVKGRFTISRDDSRSMVYLQMNLRTEDTATYYCTRDSGSGYPSLDFWGGQTQVTVSSAK  
 TTAPSVYPLAPVCGDFTGSSVTLGLVKGYPPEVTLTWNSSGLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSS  
 SVTVTSSTWPSQSIITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFFPKI  
 KDVLMIISLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ  
 DWMSGKEFKCKVNNKDLPAIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPE  
 DIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGYSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHTTK  
 SFSRTPGK (SEQ ID NO: 546)

**Последовательность нуклеиновой кислоты ТЦ J43v2 mIgG2a:**

GAGGTGCGGCTTCTGGAGTCTGGTGGAGGATTAGTGAAGCCTGAGGGGTCACTGAAACT  
 CTCTGTGTGGCCTCTGGATTACCTTCAGTACTATTTTCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCA  
 GGGAGGGGCTGGAGTGGGTGCTCACATATACACGAAAAGTTATAATTATGCAACTTATTACT  
 CGGGTTCGGTGAAAGGCAGATTCACCATCTCCAGAGATGATTCCCGAAGCATGGTCTACCTGCA  
 AATGAACAACCTGAGAAGTGGAGACACGGCCACTTATTACTGTACAAGAGATGGAAGCGGATAT  
 CCTCTCTGGATTTCTGGGGTCAAGGGACCCAAGTCACTGTCTCCTCAGCTAAAACAACAGCCC  
 CATCGGTCTATCCACTGGCCCTGTGTGTGGAGATACAAGTGGCTCCTCGGTGACTCTAGGATG  
 CCTGGTCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGCCTTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGT  
 GGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCTGCAGTCTGACCTCTACACCCTCAGCAGCTCAGTACTG  
 TAACCTCGAGCACCTGGCCAGCCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCACCCGGCAAGCAGCAC  
 CAAGGTGGACAAGAAAATTGAGCCCAGAGGGCCACAATCAAGCCCTGTCTCCATGCAAATGC  
 CCAGCACCTAACCTCTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTCCCTCCAAAGATCAAGGATGTAC  
 TCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGA  
 GTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGA  
 GAGGATTACAACAGTACTCTCCGGTGGTCAAGTGCCTCCCATCCAGCACCAGGACTGGATGA  
 GTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAACAAGACCTCCAGCGCCCATCGAGAGAACCAT  
 CTCЛЛЛЛСССЛЛЛGGGTСЛГТЛЛЛGCTCCСLСLGGTATATGTCTTGCCTCCСLСLГЛЛЛG  
 ATGACTAAGAAACAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCAAGACTTCATGCCTGAAGACATTTACG  
 TGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACAGAGCTAAACTACAAGAACAAGTGAACCAGTCCCTGGACTC  
 TGATGGTTCTTACTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAACTGGGTGGAAAGAAAT  
 AGTACTCCTGTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACACAGCTAAGAGCTTCTCCC  
 GGACTCCGGGTAAA (SEQ ID NO: 547)

**Пример 16. Активируемые антитела против mPD-1 с различной эффективностью маскирования.**

В данном примере описана модуляция эффективности маскирования антител против mPD-1 путем усечения маскирующей части и одиночной аминокислотной замены.

Четыре активируемых антитела J43 отбирали с получением семейств активируемых антител против mPD-1 посредством усечения маскирующей части или аминокислотной замены одного или более остатков MM. в табл. 18 перечислены сконструированные MM. Активируемые антитела J43v2 со сконструированной MM и субстратом 2001 получали посредством трансфекции 30 мл клеток НЕК293 и отобранные активируемые антитела (последовательности MPtrunc ELISA ЛЦ активируемых антител) оценивали

на маскирование с помощью ELISA, как описано в примере 15 (фиг. 23).

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело также включает спейсерную последовательность. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с ММ активируемого антитела. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с ММ активируемого антитела в следующей структуре, от N-конца к С-концу: спейсер-ММ-СМ-АВ. В некоторых вариантах осуществления спейсер, соединенный непосредственно с N-концом ММ активируемого антитела, выбран из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQG (SEQ ID NO: 362). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQ (SEQ ID NO: 913). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSG (SEQ ID NO: 914). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQS (SEQ ID NO: 915). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQ (SEQ ID NO: 916). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QG (SEQ ID NO: 917). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотный остаток Q. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не включает спейсерную последовательность.

Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию могут включать любую подходящую спейсерную последовательность, такую как, например, спейсерная последовательность, выбранная из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области также будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию в некоторых вариантах осуществления не включают спейсерную последовательность.

Таблица 18

## Последовательности маскирующих частей

Маска	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
MP8-1	QDHPKTKWNS	548
MP8-2	ACRICQDHPATKWNS	549
MP8-3	ACRICQDHPKTAWNS	550
MP8-4	ACRICQDAPKTKWNS	551
MP8-5	ACRICQDHAHTKWNS	552
MP8-6	DHPATKWNS	553
MP8-7	DHPKTAWNS	554
MP8-8	DAPKTKWNS	555
MP8-9	DAPATKWNS	556
MP8-10	ACRICQDHP	557
MP7-1	HPQSKDTL	558
MP7-2	HPKSQDTL	559
MP7-3	TIPRCGQHPLCLDTL	560
MP7-4	HPLSLDTL	561
MP7-5	HPASKDTL	562
MP7-6	HPKSADTL	563
MP5-1	PGNCHPLQKELCQFI	564
MP5-2	HPLQKELAQFI	565
MP5-3	HPLALELAQFI	566
MP5-4	PGNCHPLQLELCQFI	567
MP3-1	TNIWSCQTYCDHANA	568
MP3-2	TNIWSCQTYCDHAHL	569
MP3-3	TNIWSCQTYCDHLHA	570
MP3-4	TNIWSCQTYCDHKHA	571

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP5-2 2001 (SEQ ID NO: 1027)]:

[QGQSGQG] [HPLQKELAQFIGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNV  
GETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVR  
AEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 572)

**Аминокислотная последовательность J43 MP5-2 2001:**

HPLQKELAQFIGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSG  
DQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCF  
SGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1113)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP5-2 2001 (SEQ ID NO: 1038)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATCCTCTGCAGAAGGAGCTGGCCAGTTTATTGG  
AGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGC  
GGAGGCTCTTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGA  
TCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCACCAGCGGAGCGACCA  
GACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGC  
GGAAGCAGCAGCGGCACCACCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCG  
ACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCGGCTCCGGTAC  
CCAGCTGACAGTGTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTCCCCCAAGCCCC  
GAGGAACTGAGGACCAACAAGGCCACCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCG  
CCACCGTGACCTGAAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAG  
CAAGCAGGGCCAGAATACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGGAAAGTCC  
CACAACAGAGTGTCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGGAAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTG  
CCGAGTGCCTG (SEQ ID NO: 573)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP7-1 2001 (SEQ ID NO: 1039)]:**

[QGQSGQG] [HPQSKDTLGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGET  
VKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAED  
EGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 574)

**Аминокислотная последовательность J43 MP7-1 2001:**

HPQSKDTLGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQL  
PKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFSGY  
VDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1114)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP7-1 2001 (SEQ ID NO: 1029)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATCCGAGTCTAAGGATACTTTGGGAGGTGGCTC  
GAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGCTCT  
TACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTA  
GCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCACCAGCGGAGCGACCAGACAATCCT  
GCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGC  
AGCGGCACCACCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACT  
GCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCGGCTCCGGTACCCAGCTGAC  
AGTGTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTCCCCCAAGCCCCGAGGAACTG  
AGGACCAACAAGGCCACCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCGTGA  
CCTGAAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCACCAAGCCCAGCAAGCAGGG  
CCAGAATACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGGAAAGTCCACACAAGA  
GTGTCCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGGAAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGTGCC  
TG (SEQ ID NO: 575)

**MPtrunc ELISA ЛЦ активируемых антител:**

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP7-5 2001 (SEQ ID NO: 1115)]:**

[QGQSGQG] [HPASKDTLGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGET  
VKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAED  
EGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 576)

**Аминокислотная последовательность J43 MP7-5 2001:**

HPASKDTLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQL  
PKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYCFSGY  
VDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1115)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP7-5 2001 (SEQ ID NO: 1031)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATCCGGCGTCTAAGGATACTTTGGGAGGTGGCTC  
GAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGCTCT  
TACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCTGTA  
GCGGCGACCACTGCCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCACCAGCGGAGCGACAGACAATCCT  
GCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGC  
AGCGGCACCACCGCCACCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACTACT  
GCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTTCGGCTCCGGTACCCAGCTGAC  
AGTGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAGTGACCGTGTTCGCCCAAGCCCCGAGGAAGT  
AGGACCAACAAGGCCACCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCGTGA  
CCTGGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAACCAAGCCAGCAAGCAGGG  
CCAGAATACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGAAGTCCCACAACAGA  
GTGCTCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCTGCCGAGTGCC  
TG (SEQ ID NO: 577)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-2 2001 (SEQ ID NO: 1032)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 578)

**Аминокислотная последовательность J43 MP8-2 2001:**

ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1116)

**Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] J43 MP8-2 2001 (SEQ ID NO: 1033)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTGAGGATCATCTGCGACGAA  
GTGGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGCTCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGA  
GACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCACCAG  
CGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCG  
AGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGA  
GGACGAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTT  
GGTCCGGTACCCAGCTGACAGTGTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTTC  
CCCCAAGCCCCGAGGAAGTGAAGACCAACAAGGCCACCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTA  
CCCTGGCAGCGCCACCGTGACCTGGAAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTGAAAAC  
ACCAAGCCCAGCAAGCAGGGCCAGAATACTACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACC  
AGTGAAGTCCCACAACAGAGTGTCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGAAACCGTGAAAAGAG  
CCTGAGCCCTGCCGAGTGCCCTG (SEQ ID NO: 579)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-8 2001 (SEQ ID NO: 1034)]:**

[QGQSGQG] [DAPKTKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGE  
TVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAE  
DEGDYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 580)

**Аминокислотная последовательность J43 MP8-8 2001:**

DAPKTKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQ  
LPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYCFSG  
YVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1117)

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] J43 MP8-8 2001 (SEQ ID NO: 1035):

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATGCTCCTAAGACGAAGTGAATCTGGAGGTGG  
CTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGC  
TCTTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCT  
GTAGCGGCGACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGAGCGACCAGACAAT  
CCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGC  
AGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACT  
ACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACGACAAGCTGTACGTGTTCCGGCTCCGGTACCCAGCT  
GACAGTGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTCCCCCAAGCCCCGAGGAA  
CTGAGGACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCG  
TGACCTGGAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTAAAACCACCAAGCCCAGCAAGCA  
GGGCCAGAАТACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGAAGTCCCACAAC  
AGAGTGTCCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGT  
GCCTG (SEQ ID NO: 581)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-9 2001 (SEQ ID NO: 1036)]:

[QGQSGQG] [DAPATKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGE  
TVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAE  
DEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 582)

Аминокислотная последовательность J43 MP8-9 2001:

DAPATKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKITCSGDQ  
LPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGDYYCFSG  
YVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1118)

Последовательность нуклеиновой кислоты [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP8-9 2001 (SEQ ID NO: 1037)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GATGCTCCTGCGACGAAGTGAATCTGGAGGTGG  
CTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGAGGC  
TCTTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCGAGACAGTGAAGATCACCT  
GTAGCGGCGACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCAGCGGAGCGACCAGACAAT  
CCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCCGAGAGAATCAGCGGAAGC  
AGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCGAGGACGAGGGCGACTACT  
ACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACGACAAGCTGTACGTGTTCCGGCTCCGGTACCCAGCT  
GACAGTGCTGGGCGGACCTAAGAGCAGCCCCAAAGTGACCGTGTCCCCCAAGCCCCGAGGAA  
CTGAGGACCAACAAGGCCACCCTCGTGTGCCTCGTGAACGACTTCTACCCTGGCAGCGCCACCG  
TGACCTGGAAGCCAATGGCGCCACCATCAACGACGGCGTAAAACCACCAAGCCCAGCAAGCA  
GGGCCAGAАТACATGACCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCGCCGACCAGTGAAGTCCCACAAC  
AGAGTGTCCTGCCAAGTGACCCACGAGGGGAAACCGTGAAAAGAGCCTGAGCCCTGCCGAGT  
GCCTG (SEQ ID NO: 583)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-2 2003 (SEQ ID NO: 1119)]:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGSYELTQPPS  
ASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLT  
IRDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1120)

Аминокислотная последовательность J43 MP8-2 2003:

ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGSYELTQPPSASVNVGETVK  
ITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEG  
DYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1119)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP8-2 2003 (SEQ ID NO: 1121)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTGCGACGAA  
GTGGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GCCAATCCTCGTGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGG  
GCGAGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCA  
CCAGCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATC  
CCCGAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGG  
CCGAGACGAGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGT  
GTTCCGGCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID NO: 1122)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-2 2005 (SEQ ID NO: 1123):**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGAVGLLAPPSGRSANPRGGGSYELTQPP  
SASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQTLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATL  
TIRDVRAEDEGDYCFSGYVSDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1124)

**Аминокислотная последовательность J43 MP8-2 2005:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGAVGLLAPPSGRSANPRGGGSYELTQPPSASVNVGETV  
KITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQTLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDE  
GDYCFSGYVSDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1123)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-2 2008 (SEQ ID NO: 1127):**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGSISSGLLSGRSDGHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQTLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCFSGYVSDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1128)

**Аминокислотная последовательность J43 MP8-2 2008:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGSISSGLLSGRSDGHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQTLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDE  
YCFSGYVSDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1127)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP8-2 2008 (SEQ ID NO: 1129):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTGCGACGAA  
GTGGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACCAGCACGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCG  
AGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCA  
GCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCC  
GAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCG  
AGGACGAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTT  
CGGCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID NO: 1130)

**Аминокислотная последовательность J43 MP8-2 2012:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGSISSGLLSGRSANPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQTLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDE  
YCFSGYVSDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1131)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP8-2 2012 (SEQ ID NO: 616):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCCTGCGACGAA  
GTGGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTG.TCCGGCAGATC  
CGCTAATGCGGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGC  
GAGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACC  
AGCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCC  
CGAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCC  
GAGGACGAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACArGCAAGCTGTACGTG  
TTCGGCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID NO: 1133)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43 MP8-2 2011 (SEQ ID NO: 1134):**



[QQQSGQG] [AGRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL] (SEQ ID NO: 1135)

Аминокислотная последовательность J43 MP8-2 2011:

ACRICQDHPATKWNSSGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQILQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI RDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 1134)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [J43 MP8-2 2011 (SEQ ID NO: 1136):

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGTGCCGTATTTGTCAGGATCATCTGCCAGCAA  
GTGGAATTCTGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAAATCCCGGCGGAGGATCCTACGAGCTGACCCAGCCTCCTAGCGCCTCCGTGAATGTGGGCG  
AGACAGTGAAGATCACCTGTAGCGGCGACCAGCTGCCAAGTACTTCGCCGACTGGTTCCACCA  
GCGGAGCGACCAGACAATCCTGCAAGTGATCTACGACGACAACAAGCGGCCAGCGGCATCCCC  
GAGAGAATCAGCGGAAGCAGCAGCGGCACCACCGCCACCCTGACCATTAGAGATGTGCGGGCCG  
AGGACGAGGGCGACTACTACTGCTTTAGCGGCTACGTGGACAGCGACAGCAAGCTGTACGTGTT  
CGGCTCCGGTACCCAGCTGACAGTGCTG] (SEQ ID NO: 1137)

Пример 17. Активируемые антитела J43 против мышиноного PD-1 уменьшают число случаев диабета у NOD мышей.

В данном примере активируемые антитела против PD-1 J43 исследовали на способность защищать от анти-PD-1 индукции диабета у NOD мышей. NOD мыши сублинии NOD/ShiLtJ были получены из Jackson Laboratory в возрасте 8 недель и проходили акклиматизацию в исследовательском центре в течение 2 недель. На 10 неделе мышей проверяли на наличие диабета перед включением в исследование, распределяли в группы и вводили дозы, как указано в табл. 4.

Таблица 4  
Схема дозирования

Группа	Кол-во	Пол	Обработка	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Схема введения	Путь
1	7	F	mIgG2a (C1.18.4)	10	10	Раз в 7 дней	в/б
2	7	F	Антитело к PD-1 J43 m2a	10	10	Раз в 7 дней	в/б
3	7	F	Антитело к PD-1 J43 m2a	3	10	Раз в 7 дней	в/б
4	7	F	Антитело к PD-1 J43 m2a	1	10	Раз в 7 дней	в/б
5	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a	10	10	Раз в 7 дней	в/б
6	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a	3	10	Раз в 7 дней	в/б
7	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a	10	10	Раз в 7 дней	в/б
8	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a	3	10	Раз в 7 дней	в/б

На фиг. 24, на которой представлена зависимость % мышей без диабета от числа дней после введения дозы, показано, что антитело против PD-1 J43 вызывало диабет у NOD мышей с увеличением частоты при увеличении дозы. В день четырнадцать после введения дозы процент мышей без диабета в группах, получавших антитело, составил 14%, 43% и 71% для групп дозы 20 мг/кг, 1 мг/кг и 3 мг/кг, соответственно. Активируемые антитела J43 MP7-1 2001 m2a и J43 MP8-2 2001 m2a потребовали увеличения дозы, чтобы вызвать диабет с частотой, сопоставимой с исходным антителом. В день четырнадцать после введения дозы J43 MP7-1 2001 m2a, 57% в группе 20 мг/кг не имели диабета, и все мыши в группе 3 мг/кг не имели диабета. В день четырнадцать после введения дозы J43 MP8-2 2001 m2a, 71% в группе 20 мг/кг и 86% в группе 3 мг/кг не имели диабета.

Пример 18. Оценка эффективности маскирующих частей.

В данном примере описаны дополнительные активируемые антитела против PD-1, которые показывают пониженное связывание с hPD-1.

Примеры дополнительных активируемых антител согласно настоящему описанию, включающих антитело против PD1 A1.5 и различные комбинации маски и субстрата, были получены с применением способов, описанных в настоящем изобретении.

Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот указанных переменных доменов активируемых антител против PD-1 настоящего описания представлены ниже. Антитела были получены в виде hIgG4, содержащих одну аминокислотную замену, S228P (Angal, et al., 1993. Mol Immunol 30:105-8.) в ТЦ и hK ЛЦ формате.

Эффективность маскирования нескольких таких активируемых антител определяли, как описано в настоящем изобретении. Результаты показаны на фиг. 25A и 25B.

В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело также включает спейсерную последовательность. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с MM активи-

руемого антитела. В некоторых вариантах осуществления спейсер соединен непосредственно с ММ активируемого антитела в следующей структуре, от N-конца к С-концу: спейсер-ММ-СМ-АВ. В некоторых вариантах осуществления спейсер, соединенный непосредственно с N-концом ММ активируемого антитела, выбран из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQG (SEQ ID NO: 362). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSGQ (SEQ ID NO: 913). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQSG (SEQ ID NO: 914). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQS (SEQ ID NO: 915). В некоторых вариантах осуществления, спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QGQ (SEQ ID NO: 916). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотную последовательность QG (SEQ ID NO: 917). В некоторых вариантах осуществления спейсер включает, по меньшей мере, аминокислотный остаток Q. В некоторых вариантах осуществления активируемое антитело не включает спейсерную последовательность. Дополнительные примеры спейсеров включают GQSGQG (SEQ ID NO: 2042), QSGQG (SEQ ID NO: 2043), SGQG (SEQ ID NO: 2044), GQG (SEQ ID NO: 2045), QG (SEQ ID NO: 2046) и G.

Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию могут включать любую подходящую спейсерную последовательность, такую как, например, спейсерная последовательность, выбранная из группы, состоящей из QGQSGQG (SEQ ID NO: 362), QGQSGQ (SEQ ID NO: 913), QGQSG (SEQ ID NO: 914), QGQS (SEQ ID NO: 915), QGQ (SEQ ID NO: 916), QG (SEQ ID NO: 917) и Q. Дополнительные примеры спейсеров включают GQSGQG (SEQ ID NO: 2042), QSGQG (SEQ ID NO: 2043), SGQG (SEQ ID NO: 2044), GQG (SEQ ID NO: 2045), QG (SEQ ID NO: 2046) и G. Хотя последовательности, показанные ниже, включают спейсерную последовательность SEQ ID NO: 362, средним специалистам в данной области также будет известно, что активируемые антитела против PD-1 согласно настоящему описанию в некоторых вариантах осуществления не включают спейсерную последовательность.

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD01 2003 (SEQ ID NO: 1138)]:

[QGQSGQG] [AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSP  
SSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGD  
TDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1139)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD01 2003:

AMSGCSWSAFPCPYLAGGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
VRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGDTDFTLTISS  
MQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1138)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD001 2003 (SEQ ID NO: 1141)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTGGCCC  
GTATTTGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GCCAATCCTCGTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCA  
GCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAG  
CTTCATGAACGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGC  
AATCAGGGCAGCGCGTGCCTAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGCACCGACTTCACCTGA  
CCATCAGCAGCATGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCAAGGACGTGCC  
CTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1142)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD01 2012 (SEQ ID NO: 1144)]:

[QGQSGQG] [AMSGCSWSAFPCPYLGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSS  
LSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGDT  
FTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1143)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD01 2012:

AMSGCSWSAFPCPYLGGSSGGSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRT  
ITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGDTDFTLTISSMQ  
EDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1144)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD01 2012 (SEQ ID NO: 1145)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCC  
GTATTTGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GCTAATCCCGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1146)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD01 2011 (SEQ ID NO: 1148)]:

[QGQSGQG] [AMSGCSWSAFPCPYLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGSDIQLTQSPSS  
LSASVGRVTTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTD  
FTLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1147)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD01 2011:

AMSGCSWSAFPCPYLGGGSSGGSISSGLLSGRSDNPGGSDIQLTQSPSSLSASVGRVTT  
ITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSMQP  
EDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1148)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD01 2011 (SEQ ID NO: 1149)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGATGAGTGGGTGCTCGTGGTCTGCTTTTTGCC  
GTATTTGGCGGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCCCGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1150)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2001 (SEQ ID NO: 1152)]:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGRVTTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
DFLTISSMQPEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1151)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2001:

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSDIQLTQSPSSLSASVGRV  
TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSMQ  
PEDFATYYCQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1152)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2001 (SEQ ID NO: 1153)]:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1154)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 1004/GG/0001 (SEQ ID NO: 1156)]:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1155)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 1004/GG/0001:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSAVGLLAPPGGLSGRSDNHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1156)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2005 (SEQ ID NO: 1160):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSAVGLLAPPSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1159)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2005:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSAVGLLAPPSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1160)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2010 (SEQ ID NO: 1164):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDYHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1163)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2010:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDYHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1164)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2014 (SEQ ID NO: 1168):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNIGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1167)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2014:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSDNIGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1168)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2003 (SEQ ID NO: 1170):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1171)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2003:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGGSSGGSISSGLLSGRSANPRGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1170)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2003 (SEQ ID NO: 1172):**

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAATACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGCAATCCTCGTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCACGGTGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGCAAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAATCAGGGCAGCGGCTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCGTGCCATCAGCAGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCAAGGACGTGCCCTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1173)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2006 (SEQ ID NO:**

1174):

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDDHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1175)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2006:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDDHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQ  
PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1174)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2006 (SEQ ID NO: 1176)]:**

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACGATCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGCGGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1177)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2007 (SEQ ID NO:**

1178):

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1179)

**Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2007:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDIHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQ  
PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1178)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2007 (SEQ ID NO: 1180)]:**

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACATTCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGCGGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1181)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2009 (SEQ ID NO: 1182):**

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDTHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1183)

**Аминокислотная последовательность [PD-1 1.5 PD34 2009:**

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDTHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRT  
TITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISSMQ  
PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1182)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2009 (SEQ ID NO: 1184)]:**

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACACTCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1185)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2008 (SEQ ID NO: 1186)]:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1187)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2008:

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDQHGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1186)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2008 (SEQ ID NO: 1188)]:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACCAGCACGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1189)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2012 (SEQ ID NO: 1190)]:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1191)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2012:

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1190)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2012 (SEQ ID NO: 1192)]:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GCTAATCCCGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCCAGCAAT  
CAGGGCAGCGGCGTGCCAAGCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACCA  
TCAGCAGCATGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
GACSTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1193)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2013 (SEQ ID NO: 1194)]:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGGSDIQLTQSPS  
SLSASVGDVRTITCRASESVDAYGISFMNWFQKPKGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1195)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2013:

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1194)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2013 (SEQ ID NO: 1196)]:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
 TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GCTAATATTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCAACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1197)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD34 2011 (SEQ ID NO: 1198)]:

[QGQSGQG] [TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGSDIQLTQSPS  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGT  
 DFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1199)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD34 2011:

TSYCSIEHYPCNTHHGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 TITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSMQ  
 PEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1198)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1125)] [PD-1 1.5 PD034 2011 (SEQ ID NO: 1200)]:

[CAGGGGCAATCTGGCCAGGGG] [ACGTCTTACTGCAGTATTGAGCATTACCCCTGCAA  
 TACACATCATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCCCGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCG  
 TGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAGCTT  
 CATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAAT  
 CAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCAACCTGACCA  
 TCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCCCTG  
 GACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1201)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PD-1 1.5 PD006 2003 (SEQ ID NO: 1202)]:

[QGQSGQG] [APRCYMFASYCKSQYGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGSDIQLTQSP  
 SLSASVGDRTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSG  
 TDFTLTISSMQPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK] (SEQ ID NO: 1203)

Аминокислотная последовательность PD-1 1.5 PD006 2003:

APRCYMFASYCKSQYGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGSDIQLTQSPSSLSASVGD  
 RTITCRASESVDAYGISFMNWFQQKPGKAPKLLIYAASNQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSM  
 QPEDFATYYCQQSKDVPWTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 1202)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PD-1 1.5 PD006 2003 (SEQ ID NO: 1204)]:

[CAAGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCGCCTAGGTGCTATATGTTTGCCTCGTATTGCAA  
 GAGTCAGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GCCAATCCTCGTGGCGGAGGATCCGATATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCA  
 GCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGACGCTTACGGCATCAG  
 CTTTCATGAACTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGC  
 AATCAGGGCAGCGCGTGCCAAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCAACCTGA  
 CCATCAGCAGCATGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCAAGGACGTGCC  
 CTGGACCTTTGGCCAGGGTACCAAGCTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1205)

Пример 19. Маскирующие части активируемого антитела против PD1 ниволумаба.

В данном примере описана идентификация маскирующих частей (ММ), которые уменьшают связы-

вание антитела против PD1.

Ниволумаба со своей мишенью.

Антитело против PD1 Ниволумаб (NV1) (см., например, US 8,008,449) использовали для скрининга библиотек с применением способа, подобного описанному в международной публикации PCT WO 2010/081173, опубликованной 15 июля 2010 года. Скрининг состоял из одного раунда МАКС и четырех раундов ФАКС сортировки. Для начальной МАКС приблизительно  $6 \times 10^{11}$  клеток инкубировали с антителом NV1 при концентрации 100 нМ и отбирали приблизительно  $3 \times 10^7$  связывающих средств при использовании сфер Dynabeads с белком А (Life Technologies, Carlsbad, CA). Раунды ФАКС проводили посредством мечения клеток антителом NV1, меченным красителем DyLight 650 (Thermo-Fisher), и отбирали клетки с наиболее сильной флуоресценцией следующим образом: 20 нМ NV1-650 с отбором наиболее ярких 13% в раунде ФАКС 1 (F1), 2 нМ NV1-650 с отбором наиболее ярких 2% в раунде ФАКС 2 (F2-1), 1 нМ NV1-650 с отбором наиболее ярких 1% в раунде ФАКС 3 (F3-1b) и 1 нМ NV1-650 с отбором двух популяций, наиболее ярких 88% и наиболее ярких 1% в раунде ФАКС 4 (F4-1b.1 и F4-1b.2). Отдельные клоны пептидов из F4-1b.1 и F4-1b.2 идентифицировали с помощью секвенирования (табл. 19), и затем отобранные клоны пептидов NV01-NV12 подтверждали на их способность связывать NV1 (маскирующая часть NV001 также указана в настоящем изобретении как NV01 и/или NV-01; маскирующая часть NV002 также указана в настоящем изобретении как NV02 и/или NV-02, и так далее).

Таблица 19

Маска	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
NV01	RYCHAANPDRFCGIY	1206
NV02	PRVCS TDGGDYCLLP	1207
NV03	PRPQCHHRHNC PDHP	1208
NV04	KCSRPAHQNPDRCSR	1209
NV05	ASYRCPDYKCSHTKH	1210
NV06	LPRCPDHPIKCIETK	1211
NV07	YTFGCPDRYCDRAAT	1212
NV08	RGCPDFNPPSHCYTA	1213
NV09	RDYCGPQSPDYCHEI	1214
NV10	PNKPCPDLCYVTNY	1215
NV11	PRVACGEPDLCYSNT	1216



NV12	RGCKKHTISTLTCPD	1217
NV13	PAYRCPDRPPCKNQM	1218
NV14	NARCYPYFGDNCHMN	1220
NV15	PTLRCPDRWCYDSFR	1221
NV16	PSNLCPDKWCQTWRS	1222
NV17	TPRYCAASYCPAHGY	1223
NV18	RPGCGAVSPRCPDAP	1224
NV19	VLRCHKQNPDCNNH	1225
NV20	GVKSCREPDFCSRGS	1226
NV21	RNNLCPDYSCNNHNS	1227
NV22	RAACHRLNPDACTNG	1228
NV23	VCQSDRIPDYVTCTD	1229
NV24	RNCRIASINPDYCNI	1230
NV25	KEWRCPDYKCKPSYH	1231
NV26	NLRICHKSLCPDYIK	1232
NV27	NTHKCSNTNICPSFN	1233
NV28	STRYCQASQCQMSFY	1234
NV29	THRFACTASLCNKNTS	1235
NV30	YTLCNTRSPDWCPNK	1236
NV31	IRCTTGQSPDYCPQS	1237
NV32	RCNQPDKNDQMLCNI	1238
NV33	GTCRTDHQSPDYCY	1239
NV34	RGCFRSGDSLGMCPD	1240
NV35	SGCFDSNEHRHCSRI	1241
NV36	NRCMKLWYNPDCVAR	1242
NV37	PLCARPHYWSPCDQS	1243
NV38	DSKCHPNSPDYCFNS	1244
NV39	NGSCRPLGGDFCGNR	1245
NV40	KTRCIEMSGDYCAKS	1246
NV41	IRPCMYNWGDLCNQF	1247
NV42	VKTCMENNPDYCYNN	1248
NV43	LRMCFEASGDYCDQQ	1249
NV44	IRKQLDGPDQCMLT	1250
NV45	KWKCHKNNPNYCNR	1251
NV46	RTMCLDTNPDYQSH	1252
NV47	LAACHSMDSHRCPDY	1253
NV48	RSPCIHNATMCPDYT	1254
NV49	MPRCPDWPPRCSMVI	1255
NV50	VRQLCRLPDYCPGK	1256
NV51	PRPPCAQSLNCPDRA	1257
NV52	SFGRCTLVRTCPDFM	1258

NV53	RDKPCPDFSCATHY	1259
NV54	ATKPCPDRWCTMSTL	1260
NV55	SSNRCPDLRCTHHNM	1261
NV56	RGSMCPDLHCSLSHI	1262
NV57	NYQRCPDRTCMHNI I	1263
NV58	QKRPCPDRKCHAHYN	1264
NV59	QNHRCPDRWCNKTTN	1265
NV60	RLNLCPDKHCHMTNL	1266
NV61	PQDRCPDKRCTNPGN	1267
NV62	SRWRCPDYKCEHGKY	1268
NV63	YENQCPDLYCNRYSM	1269
NV64	TARSCPVFNC PDNNS	1270
NV65	MDQRC PDAWCTSKPK	1271
NV66	GDLRC PDRLCPRHSL	1272
NV67	IQYLCPDYHCASNN	1273
NV68	QHHRC PDRYCNSNNN	1274
NV69	TVALCPDYSCYHINN	1275
NV70	SPWRCPDRYCLSNHD	1276
NV71	SSKRCPDRFCNKTHA	1277
NV72	HTDRCPDYKCSQNHF	1278
NV73	SRSNCTPQRCNSDYH	1279
NV74	FAARCPDKYCAIHTN	1280
NV75	GSARCPDLVCQQTQK	1281
NV76	RNLMCPDKFCNKNTK	1282
NV77	NIRLCPDKVCTPTWV	1283
NV78	MTDLCPDAHCAKTHM	1284
NV79	PYSRLCAYPCPDFVG	1285
NV80	LCGCARSPDYCKCRG	1286
NV81	WGRCERVPDCCCPRG	1287
NV82	TRNTCHTRICYGMAC	1288
NV83	CVCTSCSSYWTLCPD	1289
NV84	LCCSRGSNCPDRCTW	1290
NV85	CCPLCQANMCPDNQS	1291
NV86	ECKLCCPDLYCGGTM	1292
NV87	CSNPMCA YCCPD LIL	1293
NV88	CPRCNTYSKHDCYHQ	1294
NV89	FCCASKMPAPSNCHT	1295

Пример 20. Активируемые Ниволумаб антитела против PD1.

В данном примере описаны примеры активируемых Ниволумаб антител против PD1 согласно настоящему описанию.

Активируемые антитела против PD1 NV1, включающие анти-PD1 NV1 маскирующую часть, расщепляемую часть и антитело против PD1 NV1 согласно настоящему описанию, были получены согласно способам, подобным описанным в публикациях PCT WO 2009/025846 и WO 2010/081173. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1346. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 626. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1346, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 626. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее CDR-области активируемого антитела против PD-1, включающего тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1346, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 626.

Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот нескольких вариативных доменов активируемых антител против PD1 настоящего описания представлены ниже. Антитела получали в виде hIgG4, содержащих одну аминокислотную замену, S228P (Angal, et al., 1993. Mol Immunol 30:105-8), в ТЦ и hK ЛЦ формате.

**Последовательность легкой цепи NV1:**

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIP  
ARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:  
626)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV01 2001 (SEQ ID NO: 1296):**

[QGQSGQG] [RYCHAANPDRFCGIYGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1297)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV01 2001:**

RYCHAANPDRFCGIYGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFA  
VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1296)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV01 2001 (SEQ ID NO: 1298):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CGGTATTGCCATGCTGCGAATCCTGATCGGTTTTG  
CGGTATTTATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
GCAGAAGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
CCCGCCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1299)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV02 2001 (SEQ ID NO: 1300):**

[QGQSGQG] [PRVCSTDGGDYCLLPGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1301)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV02 2001:**

PRVCSTDGGDYCLLPGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFA  
VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1300)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV02 2001 (SEQ ID NO: 1302):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTAGGGTTTGCTCTACTGATGGTGGTGATTATTG  
CTTGCTTCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
GCAGAAGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
CCCGCCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1303)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV03 2001 (SEQ ID NO: 1304):**

[QGQSGQG] [PRPQCHHRHNCPDHPGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1305)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV03 2001:**

PRPQCHHRHNCPDHPGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFA  
VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1304)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV03 2001 (SEQ ID NO: 1306):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCTCGTCCGCAGTGCCATCATCGGCATAATTGTCC  
 TGATCATCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
 GCAGAAGCCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
 CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
 CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
 CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1307)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV04 2001 (SEQ ID NO: 1308):**

[QGQSGQG] [KCSRPAHQNPDRCSRGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1309)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV04 2001:**

KCSRPAHQNPDRCSRGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
 LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1308)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV04 2001 (SEQ ID NO: 1310):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AAGTGTCCGCGCCTGCTCATCAGAATCCGGATCG  
 TTGCTCGCGAGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
 GCAGAAGCCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
 CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
 CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
 CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1311)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV05 2001 (SEQ ID NO: 1312):**

[QGQSGQG] [ASYRCPDYKCSHTKHGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1313)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV05 2001:**

ASYRCPDYKCSHTKHGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
 LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1312)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV05 2001 (SEQ ID NO: 1314):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GCTTCGTATCGGTGCCCTGATTATAAGTGCAGTCA  
 ТАСТААГСАТGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
 GCAGAAGCCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
 CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
 CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
 CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1315)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV06 2001 (SEQ ID NO: 1316):**

[QGQSGQG] [LPRCPDHPIKCIETKGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1317)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV06 2001:**

LPRCPDHPIKCIETKGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
 LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSFTDFTLTISSLEPEDFA  
 VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1316)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV06 2001 (SEQ ID NO: 1318)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTGCCGAGGTGCCCGGATCATCCGATTAAGTGCAT  
 TGAGACTAAGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
 GCAGAAGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
 CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
 CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
 CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1319)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV07 2001 (SEQ ID NO: 1320)]:

[QQQSGQG] [YTFGCPDRYCDRAATGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSFTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1321)

Аминокислотная последовательность NV1 NV07 2001:

YTFGCPDRYCDRAATGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
 LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSFTDFTLTISSLEPEDFA  
 VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1320)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV07 2001 (SEQ ID NO: 1322)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TATACGTTTGGTTGCCCTGATAGGTATTGCGATCG  
 TCGGGCGACGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
 GCAGAAGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
 CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
 CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
 CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1323)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV08 2001 (SEQ ID NO: 1324)]:

[QQQSGQG] [RGCPDFNPPSHCYTAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSFTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1325)

Аминокислотная последовательность NV1 NV08 2001:

RGCPDFNPPSHCYTAGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
 LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSFTDFTLTISSLEPEDFA  
 VYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1324)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV08 2001 (SEQ ID NO: 1326)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CGTGGTTGTCCGATTTAATCCTCCTTCTCATTG  
 CTATACTGCTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
 GCAGAAGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
 CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
 CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
 CACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1327)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV09 2001 (SEQ ID NO: 1328)]:

[QGQSGQG] [RDYCGPQSPDYCHEIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1329)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV09 2001:**

RDYCGPQSPDYCHEIGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1328)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV09 2001 (SEQ ID NO: 1330)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [AGGGATTATTGCGGGCCTCAGAGTCTGATTATTG  
CCATGAGATTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
GCAGAAGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
CCCCCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
CACCAAGGTGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1331)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV10 2001 (SEQ ID NO: 1332)]:**

[QGQSGQG] [PNKPCPDLQCYVTNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1333)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV10 2001:**

PNKPCPDLQCYVTNYGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1332)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV10 2001 (SEQ ID NO: 1334)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCGAATAAGCCTTGGCCGATCTGCAGTCTATGT  
GACGAATTATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
GCAGAAGCCCGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
CCCCCAGATTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
CACCAAGGTGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1335)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV11 2001 (SEQ ID NO: 1336)]:**

[QGQSGQG] [PRVACGEPDLCYSNTGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1337)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV11 2001:**

PRVACGEPDLCYSNTGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT  
ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1336)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV11 2001 (SEQ ID NO: 1338)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CCGCGGGTTGCTTGCGGTGAGCCTGATCTTTGCTA  
TTCTAATACTGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
GCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
CACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1339)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [NV1 NV12 2001 (SEQ ID NO: 1340):**

[QGQSGQG] [RGCKKHTISTLTCPDGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSSTDFLT  
ISSLEPEDFAVYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1341)

**Аминокислотная последовательность NV1 NV12 2001:**

RGCKKHTISTLTCPDGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSSTDFLTISSLEPEDFA  
VYYCQSSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 1340)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [NV1 NV12 2001 (SEQ ID NO: 1342):**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CGGGGGTGCAAGAAGCATACTATTTCCGACGCTTAC  
GTGCCCTGATGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCAGCCAGAGCGTGTCCAGCTACCTGGCCTGGTATCA  
GCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCAGCAATAGAGCCACCGGCATC  
CCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGGAAC  
CCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGCAGCAACTGGCCCCGGACATTTGGCCAGGG  
CACCAAGGTGGAAATCAAG] (SEQ ID NO: 1343)

**Человеческая каппа константная область**

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ  
DSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:  
1344)

**Человеческая каппа константная область**

CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATC  
TGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGG  
AAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG  
ACAGACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGT  
CTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTACAAAGAGCTTCAACAGGGGA  
GAGTGT (SEQ ID NO: 1345)

**Варибельная ТЦ NV1**

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKLEWVAVIWYDGSKRY  
YADSVKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDTAVYYCATNDDDYWGQGLVTVSS (SEQ ID  
NO: 1346)

**Варибельная ТЦ NV1**

CAGGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGAGTGGTGCAGCCTGGCAGAAGCCTGAGACT  
GGACTGCAAGGCCAGCGGCATCACCTTCAGCAACAGCGGCATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCT  
GGAAAAGCCTGGAATGGGTGGCCGTGATTTGGTACGACGGCAGCAAGCGTACTACGCCGACA  
CGGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAATACCCTGTTCTGCAGATGAA  
CAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCCCCACCAACGACGACTATTGGGGCCAG  
GGCACACTCGTGACCGTGTCTCT (SEQ ID NO: 1347)

**Константная hIgG4 S228P**

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS  
 SGLYLSLSSVVTVPSSSLGTQYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF  
 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT  
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG  
 FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNNH  
 YTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 1348)

#### Константная hIgG4 S228P

GCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTGTAGCAGAAGCACCAGCGA  
 GTCTACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGG  
 AACTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCCTCAGGACTCT  
 ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAA  
 CGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAACTAAGTACGGCCCTCCC  
 TGCCCTCCTTGCCAGCCCTGAATTTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAC  
 CCAAGGACACCCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA  
 GGAAGACCCTGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA  
 AAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTCACCCTCCTGCACC  
 AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAGGCCTGCCAGTCCAT  
 CGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCA  
 TCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA  
 GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCC  
 CGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAGACTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG  
 CAGGAAGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA  
 AGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA (SEQ ID NO: 1349)

#### Пример 21. Исследование активируемых антител против PD1 NV1.

В данном примере описаны активируемые антитела против PD1 NV1 с пониженным связыванием с hPD1.

Эффективность маскирования оценивали с помощью стандартного планшетного ELISA. Коротко, человеческий PD1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенные антитела NV1 и активируемые антитела NV1 наносили на планшет в серийном разведении и позволяли связываться. Связанное антитело и активируемые антитела детектировали HRP-конъюгатом против Fab человека (Sigma, St Louis, MO) и визуализировали хромогенным субстратом TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL). Кривые строили в Prizm (Sigma Plot). Все активируемые антитела NV1 показывали уменьшенное связывание по сравнению с исходным NV1, как показано на фиг. 26.

#### Пример 22. Маскирующие части активируемого пембролизумаба против PD1.

В данном примере описана идентификация маскирующих частей (ММ), которые уменьшают связывание антитела против PD1 пембролизумаба со своей мишенью.

Антитело против PD1 Пембролизумаб (PM1) (см., например, US 8,354,509) использовали для скрининга библиотек с применением способа, подобного описанному в международной публикации PCT WO 2010/081173, опубликованной 15 июля 2010 года. Скрининг состоял из одного раунда МАКС и трех раундов ФАКС сортировки. Для начальной МАКС приблизительно  $1,6 \times 10^{12}$  клеток инкубировали с антителом PM1 при концентрации 200 нМ и отбирали приблизительно  $8 \times 10^6$  связывающих средств при использовании сфер Dynabeads с белком А (Life Technologies, Carlsbad, CA). Раунды ФАКС проводили посредством мечения клеток антителом PM1, меченным красителем DyLight 650 (Thermo-Fisher) и отбирали клетки с наиболее сильной флуоресценцией следующим образом: 100 нМ PM1-650 с отбором наиболее ярких 10% в раунде ФАКС 1 ( $5,6 \times 10^5$  для F1), 10 нМ PM1-650 с отбором наиболее ярких 1,5% в раунде ФАКС 2 ( $1,4 \times 10^4$  для F2), 1 нМ PM1-650 с отбором всех связывающих средств с превышением фона (4000) и наиболее ярких 0,2% (820) в раунде ФАКС 3 (F3). Отдельные клоны пептидов из двух популяций F3 идентифицировали с помощью секвенирования (табл. 20), и затем отобранные клоны пептидов PM01-PM12 подтверждали на их способность связывать PM1 (маскирующая часть PM001 также указана в настоящем изобретении как PM01 и/или PM-01; маскирующая часть PM002 также указана в настоящем изобретении как PM02 и/или PM-02, и так далее).



Таблица 20

Маска	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
PM01	GCDFTSAKHNCGSGW	1351
PM02	VGSNCWTGPACALTS	1352
PM03	FCAVMFDLSDRCLH	1353
PM04	FCPPWLDYLGKNCMT	1354
PM05	MSCWDFSSAQGCGQH	1355
PM06	LMCADLHYNHYNCKY	1356
PM07	ELCGWQSFSGVCTSE	1357
PM08	WTYENCWASCQPHLE	1358
PM09	KLTEDFSSAA	1359
PM10	VGQSCFSGLVCDRQL	1360
PM11	ISHYCFSGKSCRD	1361
PM12	HCIPDFTSAAGDCMR	1362
PM13	RLVSAYSFS	1363
PM14	KFHHSPLVHDF TSA	1364
PM15	ASYPDFSSANGVGLR	1365
PM16	GLATTLNVDFTSAG	1366
PM17	DFTSANSAFSGDAST	1367
PM18	GRLPGHSVVDFTSAW	1368
PM19	SGSFYSSSAFD TSA	1369
PM20	CDDFTSAQH SRINEC	1370
PM21	CDFTSAQGGKCR TAL	1371
PM22	YYIDKYQSPSYGPVL	1372
PM23	FSVARARSSADFTSS	1373
PM24	DSDFTSAGSADSR SR	1374
PM25	CDFTSATSISKRC DH	1375
PM26	IESSASSWGLQASRN	1376
PM27	PRYHNLNFTT PALSPGS	1377
PM28	DLFARFPLDRDFTSA	1378
PM29	HCNFTTPPYCSSTLW	1379
PM30	NVPIILLTDRQLLSG	1380
PM31	NPTACDFTSSMATYC	1381
PM32	FVRTVRFNSMFSVP	1382
PM33	YDFSSASNSSPSRQT	1383
PM34	AHPDFSSAMRGNLLG	1384
PM35	SSHVVHKDFTSANSR	1385
PM36	CPDFTSANGGGCWQM	1386
PM37	SLGQSYPTDFTCPGC	1387
PM38	ASMRSHEQRDFTSAY	1388
PM39	SCQFWFTLCSGGVFH	1389
PM40	PYPNNRTGMHDFTSA	1390
PM41	KFPFIDFTSAGTSGT	1391
PM42	SIKSFIPRDDFTSAA	1392
PM43	GIKNPATPFVDFTSA	1393
PM44	LSHTYPRGSSTIEAS	1394
PM45	PSLDFSSAT	1395
PM46	AFTPRIAPTFDVMKE	1396
PM47	LCGLQIPDCERS	1397
PM48	AAKMVSHSERDFTSA	1398
PM49	VSVECFSGMQCPHY	1399
PM50	ASKCRLPCMASTQIY	1400
PM51	GLRSCNIYFSIPCTY	1401
PM52	RGTS DGTLDFTTARS	1402
PM53	SMYPSASRLLHPQYP	1403

PM54	HCISCYDFTSAAGSF	1404
PM55	SSGRWGDWACARIC	1405
PM56	RVFSDFTSASHSFGG	1406
PM57	TDRHSASGRDFTSAH	1407
PM58	AHCEDFSSAERIATMGC	1408
PM59	ACDPYSFSIPCDDRL	1409
PM60	NSPFTLSHIYDR	1410
PM61	IGTNFTTPSAFVAFP	1411
PM62	RDAFPIYRNADFSTP	1412
PM63	SIPNASSYNFTSSSG	1413
PM64	AGIPDKRHTYDFTSA	1414
PM65	WPLAHSRDNFTTP	1415
PM66	RHSPSSGHVDFTSAG	1416
PM67	SCFAWTDPVWNRCSW	1417
PM68	MPCDWTGPGKIWCGG	1418
PM69	RDCDFSTANFRSCNK	1419
PM70	LSCVVSPNYLHCNDH	1420
PM71	FVCGLYSFGVCQGV	1421
PM72	IGLMCFSGLQCPMLA	1422
PM73	PGMNCFSGEICQMST	1423
PM74	GDVGSCWASGLQGG	1424
PM75	SQFQDCWASCGASFT	1425
PM76	VGSLNCWYSCGDIWL	1426
PM77	MCESWLNFLGDQCGM	1427
PM78	RCMISQSSFSGMCGM	1428
PM79	NCAPWTSNMSNHCLK	1429
PM80	LCGVGSATGLELCGV	1430
PM81	GCDFSSLGGRQPCTP	1431
PM82	MGCNFTTYPYHTCNT	1432
PM83	GSCDFTSGAGKCGS	1433
PM84	VSCDFTSSHARMCSR	1434
PM85	MRCTDFYYNHTNCIG	1435
PM86	RSCDFTSAANKYCAT	1436
PM87	LYCDSFSVPRPNCAP	1437
PM88	NSCDFTSARVSKCST	1438
PM89	STCSDNFTTPMPCNT	1439
PM90	DICNDRPNLTHCHYF	1440
PM91	LRCDDFTSAIGCRGY	1441
PM92	EGCDFTSALHSCNNY	1442
PM93	RKGCDFTSASCFVV	1443
PM94	GMLCAGSSFGLCESM	1444

PM95	RESCFGSSSLGLCTNK	1445
PM96	ILRCYDIPTNCMNFN	1446
PM97	NSECTFGAMYCRNKP	1447
PM98	ASGCFDEDIRCSGGA	1448
PM99	HYFCNQSNPSCQTAP	1449
PM100	AMGCELGGAGCIGSP	1450
PM101	TLKCHMPRKLCDNDP	1451
PM102	RPACRDLPHNCITST	1452
PM103	QMSCHGNFTTCHSNP	1453
PM104	LTGCARGARPCRLRV	1454
PM105	WSELCLAGPSCGWVG	1455
PM106	VTKSCWQLPHCITAP	1456
PM107	KAASCPHNQICNMTA	1457
PM108	VSKNCFSGMMCPVFA	1458
PM109	NRSSCWGTGPTCHVLH	1459
PM110	ARTGCSGPVCLNDVS	1460
PM111	STRTCLAFTCINGNT	1461
PM112	MLDGNCWYACSYKNT	1462
PM113	FSRSDCWASACAPWRV	1463
PM114	GGRMDCWASCQPLSR	1464
PM115	NSPHSCMTNCDFTSA	1465

Пример 23. Активируемые пембролизумаб антитела против PD1.

В данном примере описаны примеры активируемых пембролизумаб антител против PD1 согласно настоящему описанию.

Активируемые антитела против PD1 PM1, включающие анти-PD1 PM1 маскирующую часть, расщепляемую часть и антитело против PD1 PM1 согласно настоящему описанию, получали согласно способам, подобным описанным в публикациях PCT WO 2009/025846 и WO 2010/081173. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1514. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 638. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1514, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 638. Одним из вариантов осуществления настоящего описания является активируемое антитело против PD-1, включающее CDR-области активируемого антитела против PD-1, включающего тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1514, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 638.

Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот нескольких вариативных доменов активируемых антител против PD1 настоящего описания представлены ниже. Антитела были получены в виде hIgG4, содержащих одну аминокислотную замену, S228P (Angal, et al., 1993. Mol Immunol 30:105-8.), в ТЦ и hK ЛЦ формате.

Аминокислотная последовательность легкой цепи PM1:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA  
 SYLESGV  
 PARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGG  
 TKVEIK (SEQ ID NO: 638)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM01 2001 (SEQ ID NO: 1466)]:

[QQGSGQG] [CDF TSAKHNCGSGWGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSL  
 SPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA  
 SYLESGV  
 PARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGG  
 TKVEIK] (SEQ ID NO: 1467)

Аминокислотная последовательность PM1 PM01 2001:

CDF TSAKHNCGSGWGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC  
 RASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLA  
 SYLESGV  
 PARFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGG  
 TKVEIK (SEQ ID NO: 1466)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1126)] [PM1 PM01 2001 (SEQ ID NO: 1468)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGA] [TGCGATTTTACTTCTGCCAAGCACAATTGCGGCTC  
 TGGCTGGGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCAC  
 GGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAAAGAG  
 CCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACTGGTA  
 TCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAGCGGC  
 GTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGG  
 AACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTGGCGG  
 AGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1469)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM02 2001 (SEQ ID NO: 1470)]:**

[QGQSGQG] [VGSNCWTGPACALTSGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTD  
 FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1471)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM02 2001:**

VGSNCWTGPACALTSGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
 LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTISSLEP  
 EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1470)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM02 2001 (SEQ ID NO: 1472)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTTGGTTCGAATTGCTGGACGGGGCCGGCGTGCGC  
 TTTGACGTCGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCT  
 GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
 GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
 GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGAC  
 ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1473)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM03 2001 (SEQ ID NO: 1474)]:**

[QGQSGQG] [FCAVMFDFLSDRCLHGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTD  
 FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1475)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM03 2001:**

FCAVMFDFLSDRCLHGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
 LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTDFTLTISSLEP  
 EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1474)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM03 2001 (SEQ ID NO: 1476)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTTTGCGCTGTGATGTTGATTTTCTGTCTGATCG  
 GTGCCCTGCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
 GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
 GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCT  
 GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
 GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
 GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGAC  
 ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1477)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM04 2001 (SEQ ID NO: 1478)]:**

[QGQSGQG] [FCPPWLDYLGKCMGTGGGSSGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
 LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGTD  
 FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1479)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM04 2001:**

FCPPWLDYLGKNCMTGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGFSGSGSGTDFTLTISSLEP  
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1478)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM04 2001 (SEQ ID NO: 1480)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTTTGCCCGCCGTGGTTGGATTATTTGGGTAATAA  
GTGCATGACGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGTACCT  
GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCGGGACCTGCCCTTGAC  
ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1481)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM05 2001 (SEQ ID NO: 1482)]:

[QQQSGQG] [MSCWDFSSAQGCGQHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGFSGSGSGTD  
FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1483)

Аминокислотная последовательность PM1 PM05 2001:

MSCWDFSSAQGCGQHGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGFSGSGSGTDFTLTISSLEP  
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1482)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM05 2001 (SEQ ID NO: 1484)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [ATGTCTTGCTGGGATTTTCTTCGGCTCAGGGGTG  
CGGTCAGCATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGTACCT  
GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCGGGACCTGCCCTTGAC  
ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1485)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM06 2001 (SEQ ID NO: 1486)]:

[QQQSGQG] [LMCADLHYNHYNCKYGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGFSGSGSGTD  
FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1487)

Аминокислотная последовательность PM1 PM06 2001:

LMCADLHYNHYNCKYGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGFSGSGSGTDFTLTISSLEP  
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1486)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM06 2001 (SEQ ID NO: 1488)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TTGATGTGCGCTGATTTGCATTATAATCATTATAA  
TTGCAAGTATGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGTACCT  
GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCGGGACCTGCCCTTGAC  
ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1489)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM07 2001 (SEQ ID NO: 1490)]:

[QGQSGQG] [ELCGWQSFSGVCTSEGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGSDT  
FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1491)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM07 2001:**

ELCGWQSFSGVCTSEGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGSDTFTLTISSLEP  
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1490)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM07 2001 (SEQ ID NO: 1492)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GAGTTGTGCGGTTGGCAGAGTTTTTCGGGGGTTTG  
CACTAGTGAGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCT  
GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTAATACTGACAGCAGAGGACCTGCCCTGAC  
ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1493)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM08 2001 (SEQ ID NO: 1494)]:**

[QGQSGQG] [WTYENCWASCQPHLEGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGSDT  
FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1495)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM08 2001:**

WTYENCWASCQPHLEGGGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGSDTFTLTISSLEP  
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1494)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM08 2001 (SEQ ID NO: 1496)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [TGGACTTATGAGAATTGCTGGGCTTCGTGCCAGCC  
TCATTTGAGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCT  
GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTAATACTGACAGCAGAGGACCTGCCCTGAC  
ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1497)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 913)] [PM1 PM09 2001 (SEQ ID NO: 1498)]:**

[QGQSGQ] [KLTEDFSSAAGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGER  
ATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGSDTFTLTISL  
EPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1499)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM09 2001:**

KLTEDFSSAAGSSGGSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASK  
GVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLASYLESVGPARGSGSGSDTFTLTISSLEPEDFAVYY  
CQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1498)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1518)] [PM1 PM09 2001 (SEQ ID NO: 1500)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCA] [AAGCTTACTGAGGATTTTTCTAGCGCAGCAGGCTCGAG  
CGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGATCCGAGATC

GTGCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTA  
GAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGG  
CCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTT  
TCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCG  
CCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGA  
AATCAAG] (SEQ ID NO: 1501)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM10 2001 (SEQ ID NO: 1502)]:**

[QGQSGQG] [VGQSCFSLVCDRLGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLESVGPARGSGSGTD  
FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1503)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM10 2001:**

VGQSCFSLVCDRLGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLESVGPARGSGSGTDFTLTSSLEP  
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1502)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM10 2001 (SEQ ID NO: 1504)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [GTGGGGCAGAGTTGCTTTTCTGGGCTGGTTTGC  
TAGGCAGCTGGGAGGTGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAATCACGGCGGATCCGAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCT  
GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTG  
GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGAC  
ATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1505)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 913)] [PM1 PM11 2001 (SEQ ID NO: 1506)]:**

[QGQSGQ] [ISHYCFSGKSCRDGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSP  
GERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLESVGPARGSGSGTDFTLTI  
SSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1507)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM11 2001:**

ISHYCFSGKSCRDGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCR  
ASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLESVGPARGSGSGTDFTLTSSLEPEDFA  
VYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1506)

**Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 1518)] [PM1 PM11 2001 (SEQ ID NO: 1508)]:**

[CAAGGCCAGTCTGGCCAA] [ATCTCTCACTATTGTTTCAGTGGCAAATCCTGCAGGGA  
CGGCTCGAGCGGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCCGACAATCACGGCGGA  
TCCGAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTGGCGAAAGAGCCACCC  
TGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCTGCACTGGTATCAGCA  
GAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCCTACCTGGAAGCGGCGTGCCC  
GCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGGAACCCG  
AGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGACATTTGGCGGAGGCAC  
CAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1509)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [PM1 PM12 2001 (SEQ ID NO: 1510)]:**

[QGQSGQG] [HCIPDFTSAAGDCMRGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPAT  
LSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLESVGPARGSGSGTD  
FTLTISSLEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK] (SEQ ID NO: 1511)

**Аминокислотная последовательность PM1 PM12 2001:**

HCIPDFTSAAGDCMRGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNHGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT  
LSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAAYLESVGPARGSGSGTDFTLTSSLEP  
EDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 1510)

Нуклеотидная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 918)] [PM1 PM12 2001 (SEQ ID NO: 1512)]:

[CAAGGCCAGTCTGGCCAAGGT] [CATTGCATTCCTGATTTTACTTCTGCTGCTGGTGA  
TTGCATGAGGGGAGGTGGCTCGAGCGCGGCTCTATCTCTCCGGACTGCTGTCCGGCAGATCC  
GACAAATCACGGCGGATCCGAGATCGTCTGACACAGAGCCCTGCCACCCTGTCTCTGAGCCCTG  
GCGAAAGAGCCACCCTGAGCTGTAGAGCCTCTAAGGGCGTGTCCACCAGCGGCTACAGCTACCT  
GCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGACTGCTGATCTACCTGGCCTCTACCTG  
GAAAGCGGCGTGCCCGCCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCA  
GCAGCCTGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCACAGCAGGGACCTGCCCTGAC  
ATTTGGCGGAGGCCAAGGTGGAATCAAG] (SEQ ID NO: 1513)

#### Варибельная ТЦ PM1

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSKASGYTFNYYMYWVRQAPGQGLEWMGGINPSNGGTN  
FNEKFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSS  
(SEQ ID NO: 1514)

#### Варибельная ТЦ PM1

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGTGGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGT  
GTCTTGCAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAACTACTACATGTACTGGGTGCGCCAGGCCCCA  
GGCCAGGACTGGAATGGATGGGCGGCATCAACCCAGCAACGGCGGCACCAACTTCAACGAGA  
AGTTCAAGAACAGAGTGACCCGTACCACCGACAGCAGCACCACCACCGCCTACATGGAATGAA  
GTCCCTGCAGTTCGACGACACCGCGTGTACTACTGCGCCAGACGGGACTACAGATTCGACATG  
GGCTTCGACTACTGGGCGCCAGGGCACAACCGTGACCGTGTCTAGT (SEQ ID NO: 1515)

#### Пример 24. Исследование активируемых PM1 антител против PD1.

В данном примере описаны активируемые PM1 антитела против PD1 с пониженным связыванием с hPD1.

Эффективность маскирования оценивали с помощью стандартного планшетного ELISA. Коротко, человеческий PD1-Fc (R and D systems, Minneapolis, MN) адсорбировали в лунках 96-луночного планшета для ELISA. Очищенные антитела PM1 и активируемые антитела PM1 наносили на планшет в серийном разведении и позволяли связываться. Связанное антитело и активируемые антитела детектировали HRP-конъюгатом против Fab человека (Sigma, St Louis, MO) и визуализировали хромогенным субстратом TMB (Thermo Scientific, Rockford, IL). Кривые строили в Prizm (Sigma Plot). Все активируемые антитела PM1 показали уменьшенное связывание по сравнению с исходным PM1, как показано на фиг. 27A, 27B и 27C.

#### Пример 25. Исследование активируемых антител против PD1 согласно настоящему описанию.

Оценивали связывающие свойства нескольких маскирующих частей согласно настоящему описанию, идентифицированных для антител A1.5 (PD), NV1 (NV) и PM1 (PM). Восемь клонов пептидов из каждого эксперимента по поиску маски выращивали в течение ночи при 37°C, 850 об/мин в плашете с глубокими 2 мл лунками, в LB+хлорамфеникол+0,2% глюкозы, разводили 1:20 в LB+хлорамфеникол и выращивали 105 мин при 37°C, 850 об/мин. Экспрессию пептидов индуцировали при добавлении 0,04% арабинозы в течение 35 мин и окрашивали клоны 1 нМ A1.5-DyLight 650, 1 нМ NV1-DyLight 650 и 1 нМ PM1-DyLight 650 в холодном PBS+0,5% BSA. Клоны центрифугировали, удаляли окрашивающий раствор и ресуспендировали клетки в PBS+1% формальдегида. Флуоресценцию измеряли на проточном цитометре MACSQuant Analyser 10 производства Miltenyi Biotec, Inc. (San Diego, CA). Как показано на фиг. 28, маскирующие части были связаны с антителом против PD1, используемым в скрининге библиотеке, в результате которого они были идентифицированы.

Пример 26. Оценка связывания маскирующей части эффекторно-негативными активируемыми антителами.

В данном примере описаны дополнительные активируемые антитела против PD-1 J43, которые демонстрируют пониженное связывание с мышинным PD-1.

Примеры дополнительных активируемых антител согласно настоящему описанию, включающих эффекторно-негативное (EN) IgG2a антитело против PD1 J43 (J43 m2a EN) и различные комбинации маски и субстрата, были получены с применением способов, описанных в настоящем изобретении. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот константной области антитела IgG2a EN представлены ниже. Плазмида, кодирующая указанную эффекторно-негативную Fc-область, pFUSE-mIgG2Ae1-Fc, доступна от InvivoGen, San Diego, CA. Fc-область mIgG2a сконструировали посредством мутации следующих аминокислот для уменьшения связывания с FcR и C1q: L235E и E318A/K320A/K322A.



> mIgG2a EN

AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS  
DLYTLSSSVTVTSSWPSQSI TCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLEGGPSV  
FIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVS  
ALPIQHQQDWMGKAFACAVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTIM  
BTDMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGDGYSFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGL  
HNHHTTKSFSRTPGK (SEQ ID NO: 1516)

> mIgG2a EN

GCCAAGACAACAGCCCCAGCGTGTAACCTCTGGCCCCGTGTGTGTGGCGATAACCACAGG  
CAGCTCTGTGACCTGGGCTGCCTCGTGAAGGGCTACTTCCCTGAGCCAGTGACCCTGACCTGG  
AACAGCGGCTCTCTGTCTAGCGGCGTGACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCGACCTGTACA  
CCCTGAGCAGCAGCGTGACCGTGACCAGCAGCACATGGCCCAGCCAGAGCATCACCTGTAACGT  
GGCCACCCCTGCCAGCTCCACCAAGGTGGACAAGAAGATCGAGCCCAGAGGCCCCACCATCAAG  
CCTTGCCCCCTTGCAAATGCCCTGCCCAATCTGGAAGGCGGCCCTAGCGTGTTCATCTTCC  
CACCAAGATCAAGGACGTGCTGATGATCAGCCTGAGCCCCATCGTGACCTGCGTGGTGGTGA  
CGTGTCCGAGGACGACCCCGATGTGCAGATCAGTTGGTTCGTGAACAACGTGGAAGTGACACAC  
GCCAGACCCAGACACACAGAGAGGACTACAACAGCACCCCTGAGAGTGGTGTCCGCCCTGCCCA  
TCCAGCACAGGATGGATGAGCGGCAAGGCCTTCGCCTGCGCTGTGAACAACAAGGACCTGCC  
AGCCCCATCGAGCGGACCATCTCTAAGCCTAAGGGCAGCGTGCGGGCTCCCAGGTGTACGTG  
CTGCCTCCTCCAGAGGAAGAGATGACCAAGAAACAAGTGACACTGACATGCATGGTCACCGACT  
TCATGCCCGAGGACATCTACGTGGAATGGACCAACAACGGAAGACCGAGCTGAACACAAAGAA  
CACCGAGCCCGTGTGGACAGCGACGGCAGCTACTTCATGTACAGCAAGCTGCGGGTGGAAAAG  
AAAACTGGGTGGAACGGAACAGCTACAGCTGCAGCGTGGTGCACGAGGGCCTGCACAATCAC  
ACACCACCAAGAGCTTCAGCCGGACCCCTGGAAAA (SEQ ID NO: 1517)

Эффективность маскирования нескольких таких активируемых антител определяли, как описано в настоящем изобретении. Результаты показаны на фиг. 29А и фиг. 29В.

ЛЦ активируемых антител J43m2a EN.

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2001 (SEQ ID NO: 1808)]:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTLVGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
LVNDFYPGSA TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
ETVEKSLSPAEL] (SEQ ID NO: 1809)

Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2001:

ACRICQDHPATKWNSSGGSSGSSISSGLLSGRSDNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI RDVRAEDEGD  
YCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTLVGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
ECL (SEQ ID NO: 1808)

Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2011 (SEQ ID NO: 1810)]:

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSSGGSSGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSDDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTI  
RDVRAEDEGDYCYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTLVGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
LVNDFYPGSA TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
ETVEKSLSPAEL] (SEQ ID NO: 1811)

Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2011:

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDNPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
 TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
 YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDYFPGSA  
 TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKLSLSPA  
 ECL (SEQ ID NO: 1810)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2012 (SEQ ID NO: 1812)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSYELTQPPSA  
 SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
 RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
 LVNDYFPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
 ETVEKLSLSPAEL] (SEQ ID NO: 1813)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2012:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
 TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
 YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDYFPGSA  
 TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKLSLSPA  
 ECL (SEQ ID NO: 1812)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2002 (SEQ ID NO: 1814)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSGNHGGGSYELTQPPSA  
 SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
 RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
 LVNDYFPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
 ETVEKLSLSPAEL] (SEQ ID NO: 1815)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2002:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSGNHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
 TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
 YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDYFPGSA  
 TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKLSLSPA  
 ECL (SEQ ID NO: 1814)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2003 (SEQ ID NO: 1816)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGGSYELTQPP  
 SASVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATL  
 TIRDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATL  
 VCLVNDYFPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTH  
 EGETVEKLSLSPAEL] (SEQ ID NO: 1817)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2003:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSANPRGGGGSYELTQPPSASVNVGETV  
 KITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDE  
 GDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDYFPG  
 SATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKLS  
 PAEL (SEQ ID NO: 1816)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2006 (SEQ ID NO: 1818)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDDHGGGSYELTQPPSA  
 SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
 RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQTLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
 LVNDYFPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
 ETVEKLSLSPAEL] (SEQ ID NO: 1819)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2006:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDDHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
 TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
 YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
 TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
 ECL (SEQ ID NO: 1818)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2007 (SEQ ID NO: 1820)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDIHGGGSYELTQPPSA  
 SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
 RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
 LVNDFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
 ETVEKSLSPAECLE] (SEQ ID NO: 1821)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2007:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDIHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
 TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
 YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
 TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
 ECL (SEQ ID NO: 1820)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2008 (SEQ ID NO: 1822)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDQHGGGSYELTQPPSA  
 SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
 RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
 LVNDFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
 ETVEKSLSPAECLE] (SEQ ID NO: 1823)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2008:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDQHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
 TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
 YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
 TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
 ECL (SEQ ID NO: 1822)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2009 (SEQ ID NO: 1824)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDTHGGGSYELTQPPSA  
 SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
 RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
 LVNDFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
 ETVEKSLSPAECLE] (SEQ ID NO: 1825)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2009:**

ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDTHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
 TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
 YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
 TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
 ECL (SEQ ID NO: 1824)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2010 (SEQ ID NO: 1826)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGGSSGGSSISSGLLSGRSDYHGGGSYELTQPPSA  
 SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSPGIPERISGSSSGTTATLTI  
 RDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVC  
 LVNDFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGQNYMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
 ETVEKSLSPAECLE] (SEQ ID NO: 1827)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2010:**

ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSDYHGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGNMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
ECL (SEQ ID NO: 1826)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2013 (SEQ ID NO: 1828)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLT  
IRDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLV  
LVNDFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGNMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
ETVEKSLSPAЕCL] (SEQ ID NO: 1829)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2013:**

ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSANIGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGNMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
ECL (SEQ ID NO: 1828)

**Аминокислотная последовательность [спейсер (SEQ ID NO: 362)] [J43m2a EN MP8-2 2014 (SEQ ID NO: 1830)]:**

[QGQSGQG] [ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSDNIGGGSYELTQPPSA  
SVNVGETVKITCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLT  
IRDVRAEDEGDYYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLV  
LVNDFYPGSATVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGNMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEG  
ETVEKSLSPAЕCL] (SEQ ID NO: 1831)

**Аминокислотная последовательность J43m2a EN MP8-2 2014:**

ACRICQDHPATKWNSGGSSGGSSISSGLLSGRSDNIGGGSYELTQPPSASVNVGETVKI  
TCSGDQLPKYFADWFHQRSQDQITLQVIYDDNKRPSGIPERISGSSSGTTATLTIRDVRAEDEGD  
YYCFSGYVDSKLYVFGSGTQLTVLGGPKSSPKVTVFPPSPEELRTNKATLVCLVNDFYPGSA  
TVTWKANGATINDGVKTTKPSKQGNMTSSYLSLTADQWKSHNRVSCQVTHEGETVEKSLSPA  
ECL (SEQ ID NO: 1830)

**Пример 27.** Активируемые антитела J43 m2a EN против мышиноного PD-1 уменьшают число случаев диабета у NOD мышей.

В данном примере активируемые антитела против PD1 J43 m2a EN (эффекторно-негативные) исследовали на способность защищать от индукции PD-1 m2a EN-опосредованного диабета у NOD мышей.

NOD мыши сублинии NOD/ShiLtJ были получены из Jackson Laboratory в возрасте 8 недель и проходили акклиматизацию в исследовательском центре в течение 2 недель. На 10 неделе мышей проверяли на наличие диабета перед включением в исследование, распределяли в группы и вводили дозы, как указано в табл. 21.

Таблица 21

Группа	Кол-во	Пол	Обработка	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Схема введения	Путь
1	7	F	mIgG2a (C1.18.4)	10	10	Раз в 7 дней	в/б
2	7	F	Антитело к PD-1 J43 m2a EN	10	10	Раз в 7 дней	в/б
3	7	F	Антитело к PD-1 J43 m2a EN	3	10	Раз в 7 дней	в/б
4	7	F	Антитело к PD-1 J43 m2a EN	1	10	Раз в 7 дней	в/б
5	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a EN	10	10	Раз в 7 дней	в/б
6	7	F	J43 MP7-1 2001 m2a EN	3	10	Раз в 7 дней	в/б
7	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	10	Раз в 7 дней	в/б
8	7	F	J43 MP8-2 2001 m2a EN	3	10	Раз в 7 дней	в/б

На фиг. 30, на которой представлена зависимость % мышей без диабета от числа дней после введения дозы, показано, что антитело против PD-1 J43 вызывало диабет у NOD мышей с увеличением частоты при увеличении дозы. В день одиннадцать после введения дозы процент мышей без диабета в группах, получавших антитело, составил 29%, 43% и 71% для групп дозы 10 мг/кг, 3 мг/кг и 1 мг/кг, соответственно. Активируемые антитела J43 MP7-1 2001 m2a EN и J43 MP8-2 2001 m2a EN потребовали увеличения дозы, чтобы вызвать диабет с частотой, сопоставимой с исходным антителом. В день одиннадцать

после введения дозы J43 MP7-1 2001 m2a EN, 71% в группе 10 мг/кг не имели диабета, и 86% в группе 3 мг/кг не имели диабета. В день четырнадцать после введения дозы J43 MP8-2 2001 m2a EN, 86% в группе 10 мг/кг и 100% в группе 3 мг/кг не имели диабета.

Пример 28. Активируемые антитела J43 m2a EN против мышинного PD-1 демонстрируют эффективность в модели сингенной опухоли MC38.

В данном примере продемонстрировано, что активируемые антитела вариантов осуществления способны уменьшать рост сингенных опухолей MC38.

В данном примере активируемые антитела против PD1 J43 MP7-1 2001 m2a EN и J43 MP8-2 2001 m2a EN исследовали на способность уменьшать рост сингенных опухолей MC38.

Линия клеток карциномы толстой кишки мыши MC38 была получена из ATCC. MC38 выращивали в RPMI-1640 с добавкой 10% эмбриональной бычьей сыворотки при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в воздухе. Клетки собирали в течение периода логарифмического роста, ресуспендировали в PBS до надлежащей концентрации клеток и держали во льду для индукции роста опухоли.

Каждой мышке подкожно, в правый бок, инокулировали 1,5×10<sup>6</sup> клеток MC38 в PBS для развития опухоли. Лечение начинали, когда средний размер опухоли достигал приблизительно 80 мм<sup>3</sup> (60-120 мм<sup>3</sup>). Размеры опухоли измеряли два раза в неделю по двум измерениям при помощи штангенциркуля и выражали объем в мм<sup>3</sup> при использовании формулы:  $V=0,5a \times b^2$ , где a и b - больший и меньший диаметры опухоли, соответственно.

Мышей распределяли в группы и производили дозирование, как указано в табл. 22.

Таблица 22

Группа	Кол-во	Обработка	Доза (мг/кг)	Объем доз (мл/кг)	Схема введения	Путь
1	10	mIgG1 MOPC-21+mIgG12b MPC-11	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
2	10	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
3	10	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
4	10	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
5	10	J43 MP7-1 2001 m2a EN	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
6	10	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)+антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
7	10	J43 MP8-2 2001 m2a EN+антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
8	10	J43 MP7-1 2001 m2a EN+антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б

На фиг. 31A и 31B, на которой представлена зависимость объема опухоли от количества дней после введения начальной дозы, продемонстрировано, что активируемые антитела против PD1 MP7-1 2001 m2a EN и MP8-2 2001 m2a EN ингибируют рост сингенных опухолей MC38 аналогично антителу J43 m2a EN против PD1 положительного контроля как в качестве отдельных средств, так и в комбинации с антителом против CTLA4 9D9 mIgG2b (BioXCell, West Lebanon, NH).

Пример 29. Оценка антител против человеческого PD-1 и активируемых антител против человеческого PD-1 в тесте с вторичной активацией антигеном.

В данном примере продемонстрировано, что антитела против PD1 и активированные активируемые антитела против PD1 вариантов осуществления (т.е. активируемые антитела, в которых CM была расщеплена протеазой) способны блокировать связывание PD-L1/PD-L2 с PD-1 и активировать Т-клетки в тесте с вторичной активацией антигеном.

Как показано на фиг. 32A-32E, антитело против человеческого PD-1, указанное в настоящем изобретении как A1.5 Ab (т.е. VH SEQ ID NO: 21 и VL SEQ ID NO: 47), блокирует связывание PD-L1/PD-L2 с PD-1 и мощно активирует Т-клетки в тесте с вторичной активацией антигеном. Связывание A1.5 Ab против человеческого PD-1 с иммобилизованным человеческим PD-1, детектированное с помощью стандартного планшетного ELISA, показано на фиг. 32A, и связывании A1.5 Ab с PD-1 яванского макака (также указанным в настоящем изобретении как супо-PD1, Sino Biological, кат. 90311-C02H), детектированное с помощью ELISA, показано на фиг. 32B. Ингибирование связывания биотинилированного человеческого PD-L1 (также указанного в настоящем изобретении как биотин-PD-L1) с иммобилизованным PD1 при воздействии A1.5 Ab, как определяли с помощью ELISA, показано на фиг. 32C, и ингибирование связывания биотинилированного человеческого PD-L2 (также указанного в настоящем изобретении как биотин-PD-L2) с иммобилизованным PD-1, при определении с помощью ELISA, показано на фиг. 32D.

Как показано на фиг. 32E, A1.5 Ab увеличивает продукцию IFN-γ в тесте с повторной стимуляцией

Т-клеток ЦМВ. Коротко, ЦМВ<sup>+</sup> человеческие МКПК сеяли в количестве 250000 клеток/лунка с изотипическим контрольным антителом или с А1.5 Ab и стимулировали 5 мкг/мл ЦМВ лизата в течение 4 дней. Уровни IFN- $\gamma$  в супернатанте измеряли с помощью ELISA.

Как показано на фиг. 33А и 33В, активируемое антитело против PD1, указанное в настоящем изобретении как А1.5 PD34 2001 (т.е. VH SEQ ID NO: 21, VL SEQ ID NO: 47, маскирующая часть SEQ ID NO: 99 и расщепляемая часть SEQ ID NO: 214), связывает человеческий PD-1 с пониженной аффинностью по сравнению с исходным антителом к PD-1, т.е. А1.5 Ab (фиг. 33А), и активируемое антитело А1.5 PD34 2001 показывает функциональное маскирование в тесте с вторичной активацией Т-клеток ЦМВ антигеном (фиг. 33В). Коротко, 4 мкг/мл активируемого антитела А1.5 PD34 2001 объединяли с 0 мкг/мл или 60 мкг/мл рекомбинантной человеческой урокиназы (rh uPA, R&D, кат. 1310-SE) и инкубировали при 37°C в течение ночи. Связывание активируемого антитела, инкубированного с uPA, с hPD1, анализировали с помощью стандартного планшетного ELISA. Как показано на фиг. 33, активируемые антитела против PD1 согласно настоящему описанию снова приобретают полное связывание после активации протеазой.

Пример 30. Фармакокинетическая оценка активируемых антител против человеческого PD-1 в модели на не относящихся к человеку приматах.

В данном примере продемонстрированы фармакокинетические данные и данные дозопропорциональности для антител против PD-1 и активируемых антител против PD-1 согласно вариантам осуществления.

Коротко, самкам яванских макаков (n=2/группа) вводили однократную в/в болюсную дозу антитела А1.5 или активируемого антитела, указанного в настоящем изобретении как А1.5 PD34 2001, в дозе 1 мг/кг или 5 мг/кг. Образцы плазмы исследовали на концентрацию А1.5 и А1.5 PD34 2001 с помощью сертифицированного сэндвич-ELISA против человеческих антител. Результаты показаны на фиг. 34, где каждая линия соответствует одному индивиду. Средние параметры ФК показанные для А1.5 и для PD34 А1.5 2001. Аналогичные результаты наблюдали для активируемых антител PD34 А1.5 2012 и PD34 А1.5 2011, вводимых яванским макакам в подобном исследовании.

Пример 31. Активируемые антитела J43 против мышинного PD-1 уменьшают число случаев диабета у NOD мышей, получавших антитело против CTLA4.

В данном примере активируемые антитела против PD-1 J43 исследовали на способность защищать от индукции анти-PD-1 диабета у NOD мышей при введении одновременно с антителом против CTLA-4 9D9 mIgG2b (BioXCell кат. #BE0164). NOD мыши сублинии NOD/ShiLtJ были получены из Jackson Laboratory в возрасте 4 недели и проходили акклиматизацию в исследовательском центре в течение 1 недели. На 5 неделе мышей проверяли на наличие диабета перед включением в исследование, распределяли в группы и вводили дозы, как указано в табл. 23. При использовании в настоящем изобретении антитело, указанное как "J43 m2a EN" (и соответствующие вариации) включает тяжелую цепь (ТЦ) SEQ ID NO: 546; легкую цепь (ЛЦ) SEQ ID NO: 543; и константную область SEQ ID NO: 1516. При использовании в настоящем изобретении активируемое антитело, указанное как "J43 MP8-2 2012 m2a EN", является активируемым антителом, включающим антитело J43 m2a EN, маскирующую часть MP8-2 (SEQ ID NO: 549) и субстрат 2012 (SEQ ID NO: 1101), и активируемое антитело, указанное как "J43 MP8-2 2001 m2a EN", является активируемым антителом, включающим антитело J43 m2a EN, маскирующую часть MP8-2 (SEQ ID NO: 549) и субстрат 2001 (SEQ ID NO: 214).

Таблица 23  
Схема дозирования

Группа	Кол-во	Обработка				Объем дозы (мл/кг)	Схема введения	Путь
		Изделие #1	Доза (мг/кг)	Изделие #2	Доза (мг/кг)			
1	8	mIgG1 MPC-21	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	в/б
2	8	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	mIgG1 MPC-21	10	10	d0, d4, d7	в/б
3	8	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	в/б
4	8	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	1	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	в/б
5	8	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	10	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	в/б
6	8	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	1	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	в/б
7	8	J43 MP8-2 2012 m2a EN	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	в/б
8	8	J43 MP8-2 2012 m2a EN	10	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	в/б

9	8	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	в/б
10	8	J43 MP8-2 2001 m2a EN	10	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	в/б

На фиг. 35, на которой представлена зависимость % мышей без диабета от количества дней после введения начальной дозы, показано, что комбинация 10 мг/кг антитела против PD-1 J43 плюс 10 мг/кг антитела против CTLA-4, вводимая в дни 0, 4 и 7, индуцировала диабет у 50% NOD мышей в день одиннадцать, хотя такая же схема дозирования активируемых антител против PD-1 J43 с антителом CTLA-4 не приводила к индукции диабета до дня восемнадцать.

Пример 32. Активируемые антитела J43 m2a EN против мышинного PD-1 демонстрируют повышенную эффективность при совместном введении с антителом против CTLA4 в модели сингенной опухоли MC38.

В данном примере продемонстрировано, что активируемые антитела согласно вариантам осуществления способны уменьшать рост сингенных опухолей MC38 в качестве отдельных средств и вызывать регрессию опухоли MC38 при использовании совместно с антителом против CTLA4 9D9 mIgG2b.

В данном Примере активируемые антитела против PD1 J43 MP8-2 2011 m2a EN и J43 MP8-2 2012 m2a EN исследовали на способность замедлять рост или, в комбинации с антителом против CTLA4, вызывать регрессию сингенных опухолей MC38. При использовании в настоящем изобретении антитело, указанное как "J43 m2a EN" (и соответствующие вариации), включает тяжелую цепь (ТЦ) SEQ ID NO: 546; легкую цепь (ЛЦ) SEQ ID NO: 543; и константную область SEQ ID NO: 1516. При использовании в настоящем изобретении активируемое антитело, указанное как "J43 MP8-2 2011 m2a EN", является активируемым антителом, включающим антитело J43 m2a EN, маскирующую часть MP8-2 (SEQ ID NO: 549) и субстрат 2011 (SEQ ID NO: 1100), и активируемое антитело, указанное как "J43 MP8-2 2012 m2a EN", является активируемым антителом, включающим антитело J43 m2a EN, маскирующую часть MP8-2 (SEQ ID NO: 549) и субстрат 2012 (SEQ ID NO: 1101).

Линия клеток карциномы толстой кишки мыши MC38 была получена из ATCC. Клетки MC38 выращивали в RPMI-1640 с добавкой 10% эмбриональной бычьей сыворотки при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в воздухе. Клетки собирали в течение периода логарифмического роста, ресуспендировали в PBS до надлежащей концентрации клеток и держали во льду для индукции роста опухоли.

Каждой мышке подкожно, в правый бок, инокулировали  $1,5 \times 10^6$  клеток MC38 в PBS для развития опухоли. Лечение начинали, когда средний размер опухоли достигал приблизительно 60 мм<sup>3</sup> (45-80 мм<sup>3</sup>). Размеры опухоли измеряли два раза в неделю, по двум измерениям, с помощью штангенциркуля и выражали объем в мм<sup>3</sup> при использовании формулы:  $V=0,5 \times a \times b^2$ , где a и b - больший и меньший диаметры опухоли, соответственно.

Мышей распределяли в группы и вводили дозы, как указано в табл. 24.

Таблица 24

Группа	Кол-во	Обработка	Доза (мг/кг)	Объем дозы (мл/кг)	Схема введения	Путь
1	10	mIgG1 MOPC-21+mIgG12b MPC-11	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
2	10	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
3	10	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
4	10	J43 MP8-2 2012 m2a EN	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
5	10	J43 MP8-2 2011 m2a EN	10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
6	10	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)+антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
7	10	J43 MP8-2 2012 m2a EN+антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б
8	10	J43 MP8-2 2011 m2a EN+антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10+10	10	2 раза в неделю в течение 3 недель	в/б

На фиг. 36, на которой представлена зависимость объема опухоли от количества дней после введения начальной дозы, продемонстрировано, что активируемые антитела против PD1 MP8-2 2012 m2a EN и MP8-2 2011 m2a EN ингибируют рост сингенных опухолей MC38 аналогично антителу J43 m2a EN против PD1 положительного контроля как в качестве отдельных средств, так и в комбинации с антителом против CTLA4 9D9 mIgG2b (BioXCell, West Lebanon, NH).

Пример 33. Активируемые антитела J43 m2a EN против мышинного PD-1 показывают стойкую про-

тивоопухолевую активность при совместном введении с антителом против CTLA4 в модели сингенной опухоли MC38.

В данном примере продемонстрировано, что активируемые антитела против PD-1 согласно вариантам осуществления в комбинации с антителами против CTLA4 индуцируют стойкие полные противоопухолевые ответы в модели сингенной опухоли MC38.

В данном примере всем животным, получавшим комбинации средств против CTLA4 и против PD1 из примера 28, которые показали длительную регрессию опухоли ((i) антитело против PD-1 J43 m2aEN+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b (указанные на фиг. 37 как "антитело против PD-1 J43 m2aEN"+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b") (n=8), (ii) активируемое антитело против PD-1 J43 MP8-2 2012 m2a EN+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b (указанные на фиг. 37 как "AA m2a EN J43 MP8-2 2012"+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b", где AA обозначает активируемое антитело) (n=8) и активируемое антитело против PD-1 J43 MP8-2 2011 m2a EN+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b (указанные на фиг. 37 как "AA m2a EN J43 MP8-2 2011"+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b", где AA обозначает активируемое антитело) (n=6)), в день 38 имплантировали  $1,5 \times 10^6$  опухолевых клеток MC38 в левый бок, напротив исходной имплантации MC38. Пяти необработанным мышам имплантировали  $1,5 \times 10^6$  опухолевых клеток MC38 для подтверждения опухолевой активности клеток MC38.

На фиг. 37 показано, что ни одна мышь, ранее получавшая комбинации средств против PD1 и против CTLA4, не показала возобновление роста на исходных участках опухоли (правый бок) или рост новых опухолей (левый бок), тогда как все пять необработанных контрольных мышей показали быстрый рост опухоли.

Пример 34. Активируемые антитела J43 против мышинного PD-1 уменьшают число случаев диабета у NOD мышей, одновременно получавших антитело против CTLA4.

В данном примере продемонстрировано, что активируемые антитела против PD-1 согласно вариантам осуществления в комбинации с антителами против CTLA4 защищали NOD мышей от индукции PD-1 m2a EN-опосредованного диабета.

В данном примере активируемое антитело против PD-1 J43 MP8-2 2011 m2aEN исследовали на способность защищать от анти-PD-1 индукции диабета у NOD мышей при одновременном введении с антителом против CTLA-4 9D9 mIgG2b (BioXcell кат. #BE0164). NOD мыши сублинии NOD/ShiLtJ были получены из Jackson Laboratory в возрасте 4 недель и проходили акклиматизацию в исследовательском центре в течение 1 недели. На 5 неделе мышей проверяли на наличие диабета перед включением в исследование, распределяли в группы и вводили дозы, как указано в табл. 25.

Таблица 25  
Схема дозирования

Группа	Кол-во	Обработка				Объем дозы (мл/кг)	Схема введения	Путь
		Изделие #1	Доза (мг/кг)	Изделие #2	Доза (мг/кг)			
1	8	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	mIgG1 MOPC-21	10	10	d0, d4, d7	в/б
2	8	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	в/б
3	8	Антитело к PD-1 (J43 m2a EN)	10	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	в/б
4	8	J43 MP8-2 2011 m2a EN	10	mIgG2b MPC-11	10	10	d0, d4, d7	в/б
5	8	J43 MP8-2 2011 m2a EN	10	Антитело к CTLA4 9D9 mIgG2b	10	10	d0, d4, d7	в/б

На фиг. 38, на которой представлена зависимость % мышей без диабета от количества дней после введения начальной дозы, показано, что отдельное средство антитело против PD-1 J43 (указанное на фигуре как "Ат против PD1 J43") и комбинация 10 мг/кг антитела против PD-1 J43 плюс 10 мг/кг антитела против CTLA4 (указанные на фигуре как "Ат против PD1 J43"+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b"), вводимые в дни 0, 4 и 7, вызывали диабет у 25% NOD мышей в день девять. Напротив, такая же схема дозирования активируемого антитела против PD-1 J43 MP8-2 2011 m2a EN (указанного на фигуре как "m2a EN AA J43 MP8-2 2011", где AA обозначает активируемое антитело) в качестве отдельного средства или в комбинации с антителом против CTLA4 (указанной на фигуре как "AA m2a EN J43 MP8-2 2011"+антитело против CTLA4 9D9 mIgG2b", где AA обозначает активируемое антитело) не приводила к индукции диабета до дня пятнадцать.

Пример 35. Активируемые ниволумаб антитела против PD-1 вариантов осуществления функционально маскированы в тесте с повторной стимуляцией человеческих Т-клеток.

В данном примере описано влияние маскирующих частей на биологическую функцию антитела против PD-1 ниволумаба.

МКПК ЦМВ-положительного донора (Nemasage) сеяли в количестве  $2 \times 10^5$  клеток/лунка в присут-



ствии ЦМВ вирусного лизата (Astarte) и антитела против PD-1 A1.5, активируемого антитела против PD-1 A1.5 PD34 2001, антитела против PD-1 ниволумаба (NV1), активируемого ниволумаб антитела против PD-1 NV1 NV07 2001 или изотипического контрольного hIgG4 антитела. Через четыре дня супернатант удаляли из каждой лунки и уровни IFN-гамма анализировали при использовании набора для ELISA анализа IFN-гамма (Life Technologies, Carlsbad, CA).

На фиг. 39 продемонстрировано, что активируемое антитело против PD-1 A1.5 PD34 2001 (указанное на фигуре как "AA A1.5 PD34 2001", где AA обозначает активируемое антитело) и активируемое ниволумаб антитело против PD1 NV1 NV07 2001 (указанное на фигуре как "AA NV1 NV07 2001", где AA обозначает активируемое антитело) вызывали увеличение ЦМВ-стимулируемой секреции IFN-гамма по сравнению с контрольным hIgG4 антителом (указанным на фигуре как hIgG4), но обладали пониженной активностью по сравнению с исходным антителом против PD-1 A1.5 (указанным на фигуре как A1.5) или исходным антителом против PD-1 ниволумабом (указанным на фигуре как NV1).

Пример 36. Активируемые пембролизумаб антитела против PD-1 вариантов осуществления функционально маскированы в тесте с повторной стимуляцией человеческих Т-клеток.

В данном примере описано влияние маскирующих частей на биологическую функцию антитела против PD-1 пембролизумаба.

МКПК ЦМВ-положительного донора (Hemacare) сеяли в количестве  $2 \times 10^5$  клеток/лунка в присутствии 4 мкг/мл ЦМВ вирусного лизата (Astarte) и антитела против PD-1 A1.5, антитела против PD-1 пембролизумаба (PM1), активируемого пембролизумаб антитела против PD-1 PM1 PM07 2001 или изотипического контрольного hIgG4 антитела. Через четыре дня супернатант удаляли из каждой лунки и анализировали уровни IFN-гамма при использовании набора для ELISA анализа IFN-гамма (Life Technologies, Carlsbad, CA).

На фиг. 40 продемонстрировано, что активируемое пембролизумаб антитело против PD1 PM1 PM07 2001 (указанное на фигуре как "AA PM1 PM07 2001", где AA обозначает активируемое антитело) вызывало увеличение ЦМВ-стимулируемой секреции IFN-гамма по сравнению с контрольным hIgG4 антителом (указанным на фигуре как hIgG4), но обладало пониженной активностью по сравнению с исходным антителом против PD-1 A1.5 (указанным на фигуре как A1.5) или исходным антителом против PD-1 пембролизумабом (указанным на фигуре как PM1).

#### Другие варианты осуществления

Хотя изобретение было описано в соответствии с его подробным описанием, предыдущее описание предназначено для иллюстрации, а не ограничения объема изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в рамках следующего.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB), которое специфично связывается с PD-1 млекопитающего, где AB содержит:

VH CDR1, включающую аминокислотную последовательность GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);

VH CDR2, включающую аминокислотную последовательность YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658);

VH CDR3, включающую аминокислотную последовательность EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);

VL CDR1, включающую аминокислотную последовательность RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675) или RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676);

VL CDR2, включающую аминокислотную последовательность AASNQGS (SEQ ID NO: 678); и

VL CDR3, включающую аминокислотную последовательность QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683).

2. Активируемое антитело, которое в активированном состоянии специфично связывается с PD-1 млекопитающего, где указанное активируемое антитело содержит:

антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB), которое специфично связывается с PD-1 млекопитающего, где AB включает:

VH CDR1, включающую аминокислотную последовательность GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);

VH CDR2, включающую аминокислотную последовательность YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658);

VH CDR3, включающую аминокислотную последовательность EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);

VL CDR1, включающую аминокислотную последовательность RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675) или RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676);

VL CDR2, включающую аминокислотную последовательность AASNQGS (SEQ ID NO: 678); и

VL CDR3, включающую аминокислотную последовательность QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683);

маскирующую часть (MM), которая ингибирует связывание AB с PD-1 млекопитающего, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, где MM содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; и

расщепляемую часть (CM), соединенную с AB, где CM является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы, где CM содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1100.

3. Активируемое антитело, которое в активированном состоянии:

(a) специфично связывается с PD-1 млекопитающего; и

(b) специфично блокирует связывание природного лиганда PD-1 с PD-1 млекопитающего, где активируемое антитело включает:

антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (AB), который специфично связывается с PD-1 млекопитающего, где AB включает:

VH CDR1, включающую аминокислотную последовательность GFTFSGYAMS (SEQ ID NO: 653);

VH CDR2, включающую аминокислотную последовательность YISNSGGNAH (SEQ ID NO: 658);

VH CDR3, включающую аминокислотную последовательность EDYGTSPFVY (SEQ ID NO: 664);

VL CDR1, включающую аминокислотную последовательность RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675) или RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676);

VL CDR2, включающую аминокислотную последовательность AASNQGS (SEQ ID NO: 678); и

VL CDR3, включающую аминокислотную последовательность QQSKDVPWT (SEQ ID NO: 683);

маскирующую часть (MM), которая ингибирует связывание AB с PD-1 млекопитающего, когда активируемое антитело находится в нерасщепленном состоянии, где MM содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 99; и

расщепляемую часть (CM), соединенную с AB, где CM является полипептидом, который функционирует в качестве субстрата для протеазы, где CM содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1100.

4. Антитело по п.1 или активируемое антитело по п.2 или 3, где антигенсвязывающий фрагмент выбран из группы, состоящей из Fab-фрагмента, F(ab')<sub>2</sub> фрагмента, scFv, scAb, dAb, антитела на основе одного домена тяжелой цепи и антитела на основе одного домена легкой цепи.

5. Антитело по любому из пп.1 или 4 или активируемое антитело по пп.2-4, где AB включает переменную область тяжелой цепи (VH), включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и переменную область легкой цепи (VL), включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47.

6. Активируемое антитело по любому из пп.2-5, где AB связан с CM; и/или MM связан с CM так, что активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет последовательность структур от N-конца до C-конца как указано: MM-CM-AB или AB-CM-MM.

7. Активируемое антитело по любому из пп.2-6, включающее аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2056 или 2057.

8. Конъюгированное антитело, включающее антитело по любому из пп.1, 4 или 5, конъюгированное с диагностическим средством.

9. Фармацевтическая композиция для лечения PDL1-опосредованного нарушения или заболевания, включающая антитело по любому из пп.1, 4 или 5, или активируемое антитело по любому из пп.2-7 или конъюгированное антитело, или конъюгированное активируемое антитело по п.35 или 37 и вспомогательное вещество.

10. Фармацевтическая композиция для лечения PDL1-опосредованного нарушения или заболевания, включающая антитело по любому из пп.1, 4 или 5 или активируемое антитело по любому из пп.2-7, носитель и дополнительное терапевтическое средство.

11. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая активируемое антитело по любому из пп.2-7.

12. Экспрессионный вектор, включающий выделенную молекулу нуклеиновой кислоты по п.11.

13. Способ получения активируемого антитела посредством культивирования клетки при условиях, которые приводят к экспрессии активируемого антитела, где клетка включает молекулу нуклеиновой кислоты по п.11.

14. Способ производства активируемого антитела, которое в активированном состоянии связывает PD-1, где способ включает:

(a) культивирование клетки, включающей конструкцию нуклеиновой кислоты, которая кодирует активируемое антитело, при условиях, которые приводят к экспрессии активируемого антитела по любому из пп.2-7; и

(b) выделение активируемого антитела.

15. Способ уменьшения связывания лиганда, выбранного из группы, состоящей из PDL1 или PDL2, с PD-1 на Т-клетках, включающий введение пациенту эффективного количества антитела по любому из пп.1, 4 или 5 или активируемого антитела по любому из пп.2-7, или фармацевтической композиции по п.9 или 10.

16. Способ по п.15, где способ включает введение дополнительного терапевтического средства.

17. Способ уменьшения иммунной супрессии, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1, 4 или 5 или активируемого антитела по любому из пп.2-7, или конъюгированного антитела, или конъюгированного активируемого антитела по п.8, или фармацевтической композиции по любому из пп.9 или 10.

18. Способ по п.17, где иммунная супрессия опосредована связыванием PD-1 на Т-клетках с PDL1

или PDL2 на опухолевых клетках; и где способ включает введение дополнительного терапевтического средства.

19. Способ лечения, облегчения симптома или задержки прогрессирования нарушения или заболевания, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1, 4 или 5 или активируемого антитела по любому из пп.2-7, или фармацевтической композиции по любому из пп.9 или 10; где способ включает введение дополнительного терапевтического средства.

20. Способ по п.19, где PDL1-опосредованным нарушением или заболеванием является рак;

где рак выбран из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака костей, рака молочной железы, карциноида, рака шейки матки, холангиокарциномы, рака толстой кишки, рака эндометрия, глиомы, рака головы и шеи, рака печени, рака легкого, лимфомы, меланомы, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака почки, саркомы, рака кожи, рака желудка, рака яичка, рака тимуса, рака щитовидной железы, рака мочеполовой системы или уротелиального рака, меланомы (MEL), почечно-клеточной карциномы (RCC), плоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), неплоскоклеточного NSCLC, рака толстой и прямой кишки (CRC), кастрационно-резистентного рака предстательной железы (CRPC), печеночноклеточной карциномы (HCC), плоскоклеточной карциномы головы и шеи, тимомы, карцином пищевода, яичника, желудочно-кишечного тракта и молочной железы, и гематобластома, такого как множественная миелома, В-клеточная лимфома, Т-клеточная лимфома, лимфома Ходжкина, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома или хронический миелогенный лейкоз; и где способ включает введение дополнительного терапевтического средства.

21. Антитело по п.1 или 4 или активируемое антитело по пп.2-4, где АВ включает VH, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, и VL, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 45.

22. Активируемое антитело по п.6, где АВ непосредственно связан с СМ, или АВ связан с СМ через соединительный пептид.

23. Активируемое антитело по п.6 или 22, где активируемое антитело включает соединительный пептид между ММ и СМ, или где активируемое антитело включает соединительный пептид между СМ и АВ, или где активируемое антитело включает первый соединительный пептид (LP1) и второй соединительный пептид (LP2), и где активируемое антитело в нерасщепленном состоянии имеет следующую структуру, от N-конца к С-концу: ММ-LP1-СМ-LP2-АВ или АВ-LP2-СМ-LP1-ММ; где каждый из LP1 и LP2 является пептидом длиной приблизительно 1-20 аминокислот.

24. Конъюгированное антитело по п.8, где диагностическое средство конъюгировано с антителом через линкер.

25. Конъюгированное антитело по п.24, где линкер является расщепляемым или нерасщепляемым линкером.

26. Конъюгированное антитело по п.24, где диагностическое средство представляет собой детектируемую группу.

27. Активируемое антитело по п.7, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2053.

28. Активируемое антитело по п.27, где активируемое антитело содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2056.

29. Активируемое антитело по п.27, где активируемое антитело содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2056, и где активируемое антитело включает тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2052.

30. Активируемое антитело по п.27, где активируемое антитело содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2057, и где активируемое антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2052.

31. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело по любому из пп.1, 4 или 5.

32. Вектор экспрессии, содержащий выделенную молекулу нуклеиновой кислоты по п.31.

33. Антитело по п.1 или 4 или активируемое антитело по любому из пп.2-4, где VL CDR1 содержит аминокислотную последовательность RASESVDSYGISFMN (SEQ ID NO: 675).

34. Антитело по любому из п.1 или 4 или активируемое антитело по любому из пп.2-4, где VL CDR1 содержит аминокислотную последовательность RASESVDAYGISFMN (SEQ ID NO: 676).

35. Конъюгированное антитело, содержащее антитело по любому из пп.1, 4 или 5, конъюгированное с терапевтическим средством.

36. Активируемое антитело по любому из пп.2-7, конъюгированное с диагностическим средством.

37. Активируемое антитело по любому из пп.2-7, конъюгированное с терапевтическим средством.

38. Конъюгированное антитело по п.35, где терапевтическое средство конъюгировано с антителом через линкер.

39. Активируемое антитело по п.36, где диагностическое средство конъюгировано с активируемым антителом через линкер.

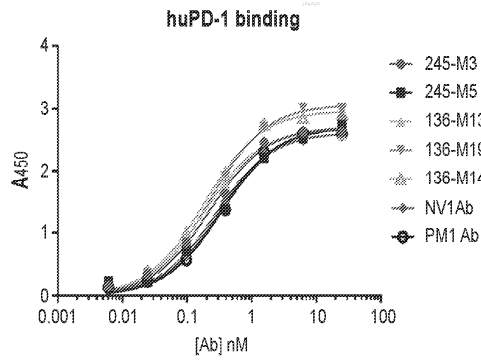
40. Активируемое антитело по п.37, где терапевтическое средство конъюгировано с активируемым антителом через линкер.

41. Конъюгированное антитело по п.38, где линкер представляет собой расщепляемый или нерасщепляемый линкер.

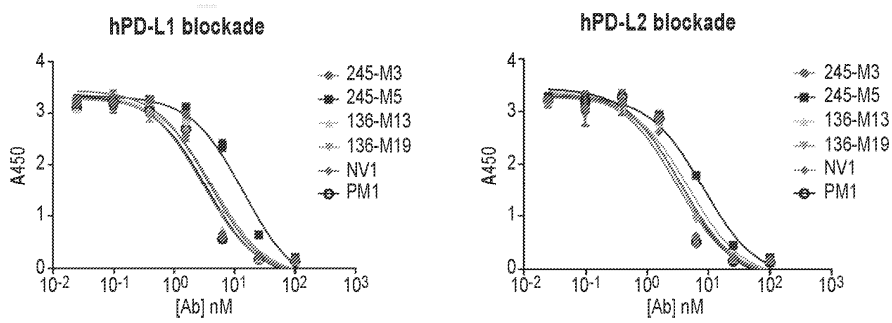
42. Активируемое антитело по п.39, где линкер представляет собой расщепляемый или нерасщепляемый линкер.

43. Активируемое антитело по п.40, где линкер представляет собой расщепляемый или нерасщепляемый линкер.

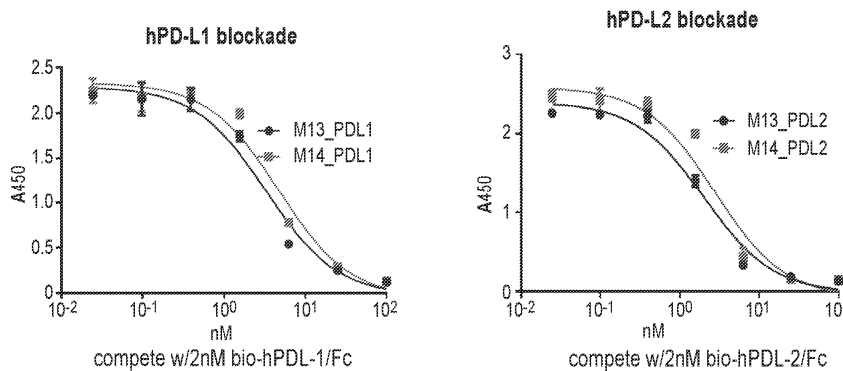
44. Активируемое антитело по п.39, где диагностическое средство представляет собой детектируемую группу.



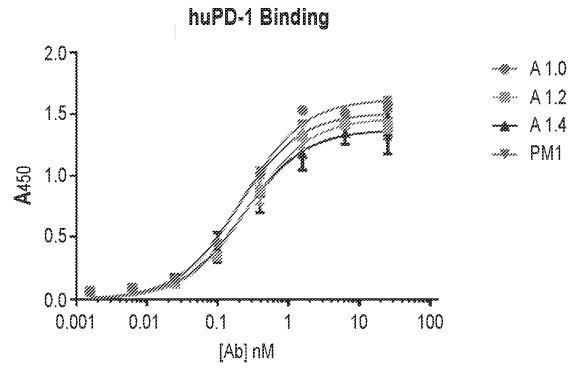
Фиг. 1



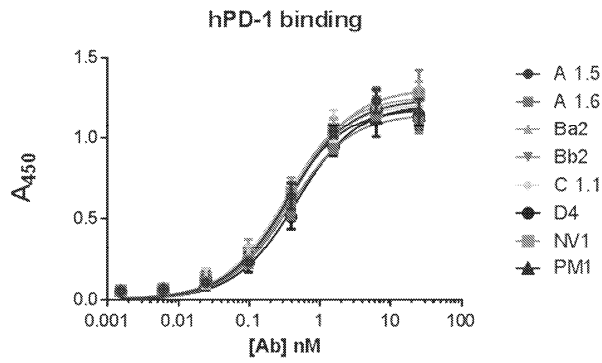
Фиг. 2



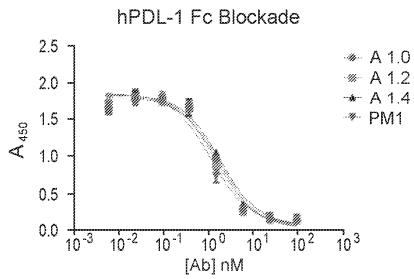
Фиг. 3



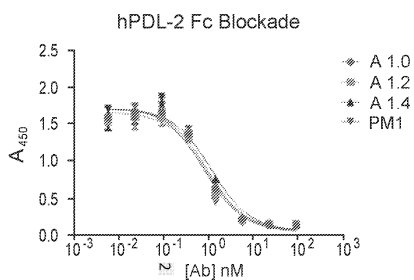
Фиг. 4



Фиг. 5



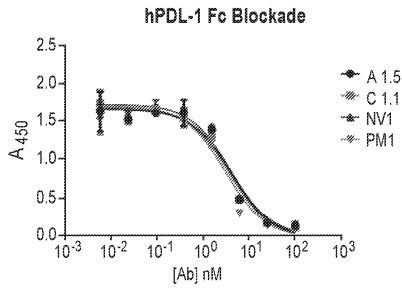
	A 1.0	A 1.2	A 1.4	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)				
Best-fit values				
Bottom	0.02473	0.03887	0.06139	0.07407
Top	1.824	1.869	1.862	1.876
LogIC50	0.2671	0.1900	0.2838	0.08867
IC50	1.850	1.549	1.922	1.227
Span	1.800	1.830	1.800	1.802



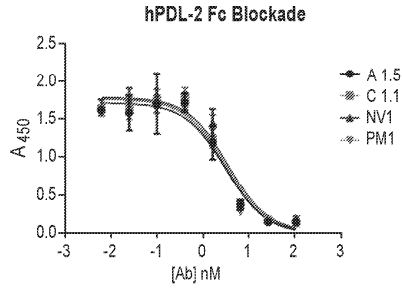
	A 1.0	A 1.2	A 1.4	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)				
Best-fit values				
Bottom	0.05839	0.06423	0.06416	0.05329
Top	1.742	1.687	1.734	1.750
LogIC50	0.01826	0.002967	0.1109	-0.05539
IC50	1.043	1.007	1.291	0.8803
Span	1.663	1.622	1.670	1.696

2nM of hPDL-1 Fc/hPDL-2Fc as blockade

Фиг. 6

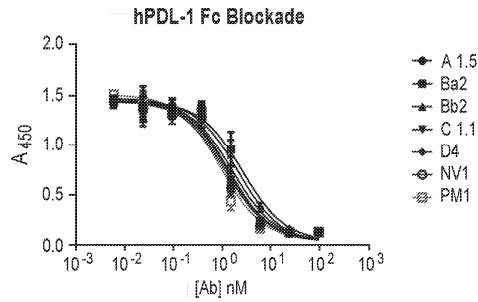


	A 1.5	C 1.1	NV1	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)				
Best-fit values				
Bottom	-0.01122	-0.002852	0.01597	-0.01207
Top	1.672	1.691	1.735	1.710
LogIC50	0.6269	0.5712	0.6045	0.5045
IC50	4.255	3.726	4.023	3.196



	A 1.5	C 1.1	NV1	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)				
Best-fit values				
Bottom	0.01162	0.002368	0.02642	0.003166
Top	1.733	1.784	1.804	1.779
LogIC50	0.4676	0.4875	0.5231	0.4797
IC50	2.935	3.073	3.335	3.018

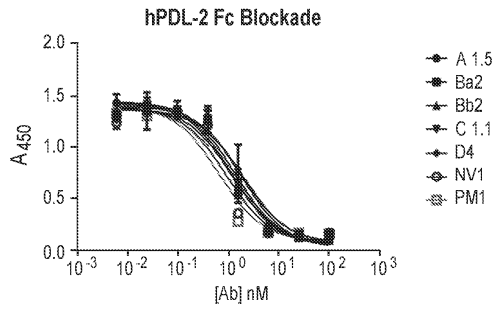
Фиг. 7



	A 1.5	Ba2	Bb2	C 1.1	D4	NV1	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)							
Best-fit values							
Bottom	0.03776	0.03156	0.04762	0.05233	0.04490	0.05720	0.04908
Top	1.494	1.469	1.471	1.472	1.460	1.461	1.529
LogIC50	0.1465	0.3417	0.2221	0.1209	0.4346	0.07608	-0.01427
IC50	1.401	2.196	1.668	1.321	2.720	1.191	0.9677
Span	1.457	1.437	1.423	1.420	1.415	1.404	1.480

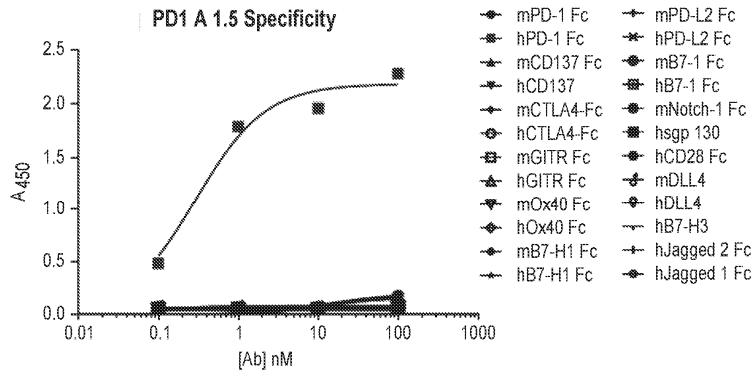
1.4571.4371.4231.4201.4151.4041.480

Фиг. 8



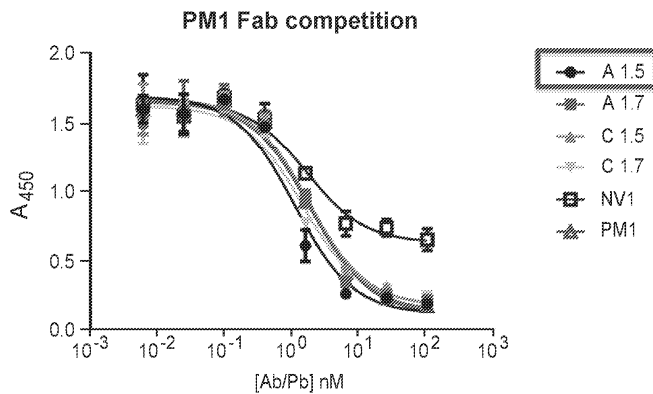
	A 1.5	Ba2	Bb2	C 1.1	D4	NV1	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)							
Best-fit values							
Bottom	0.05123	0.04694	0.02765	0.06529	0.06849	0.06895	0.08572
Top	1.445	1.430	1.404	1.385	1.370	1.391	1.404
LogIC50	0.1290	0.08061	0.2635	0.07807	0.2893	-0.03908	-0.1851
IC50	1.346	1.294	1.834	1.197	1.947	0.9140	0.6529
Span	1.344	1.383	1.376	1.320	1.302	1.322	1.318

Фиг. 9



Kd of A1.5 = 0.2948

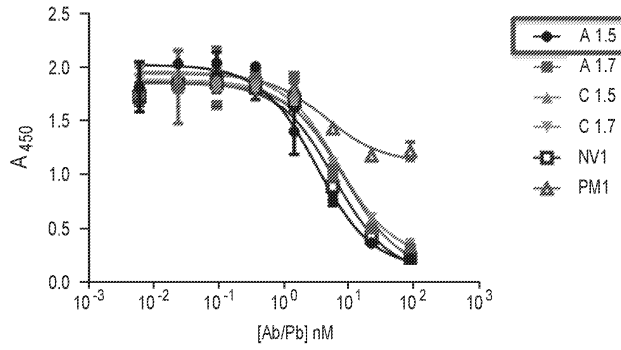
Фиг. 10



	A 1.5	A 1.7	C 1.5	C 1.7	NV1	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)						
Best-fit values						
Bottom	0.1248	0.1450	0.1778	0.1928	0.6340	0.1206
Top	1.694	1.653	1.678	1.626	1.660	1.676
LogIC50	0.03121	0.2458	0.2429	0.1508	0.2042	0.2741
IC50	1.075	1.761	1.749	1.415	1.600	1.880

Фиг. 11a

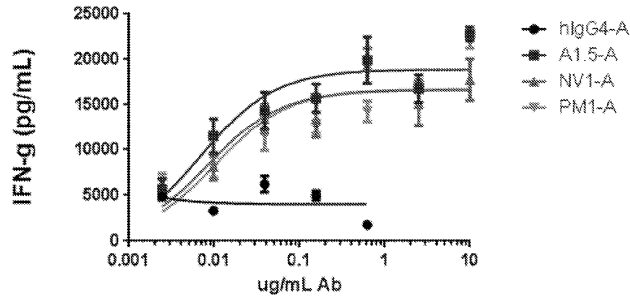
NV1 Fab competition



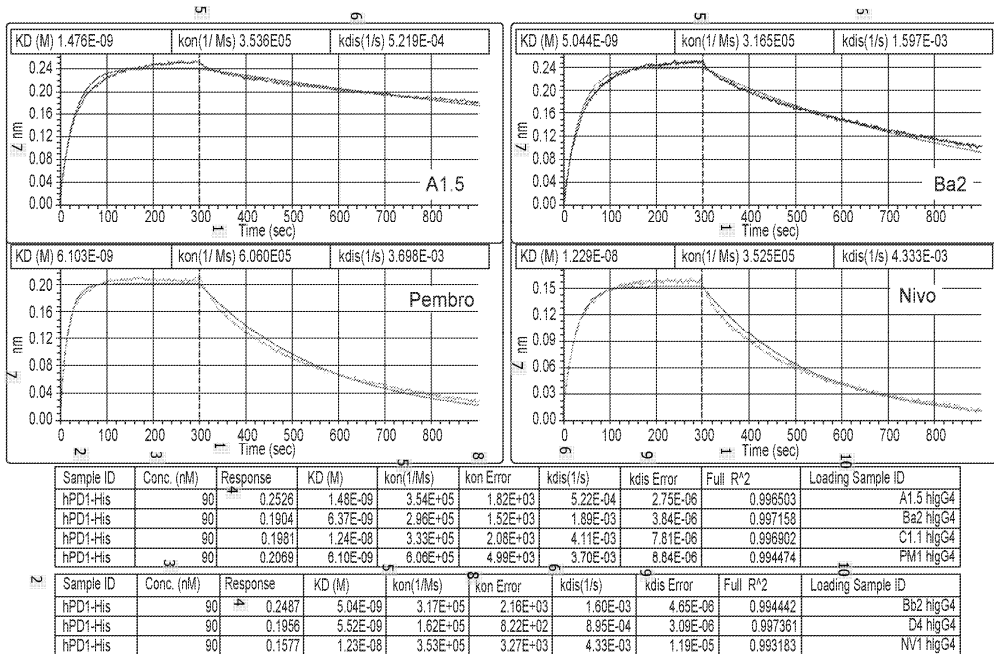
	A 1.5	A 1.7	C 1.5	C 1.7	NV1	PM1
log(inhibitor) vs. response (three parameters)						
Best-fit values						
Bottom	0.1491	0.1158	0.2335	0.2426	0.09043	1.140
Top	2.065	1.891	2.000	1.924	1.902	1.985
LogIC50	0.5390	0.9690	0.8798	0.8837	0.8130	0.6772
IC50	3.459	9.310	7.582	7.651	6.501	4.756

Фиг. 11b

T-cell restimulation by CMV antigen

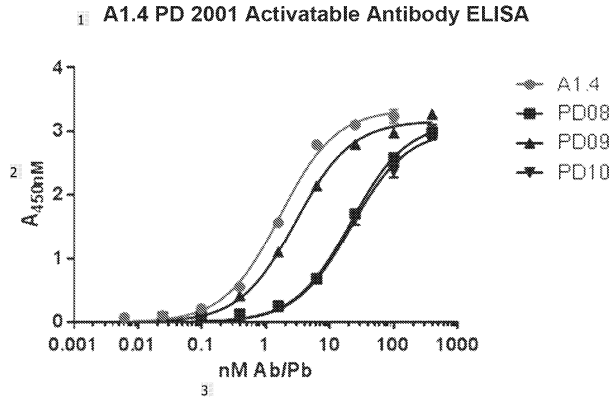
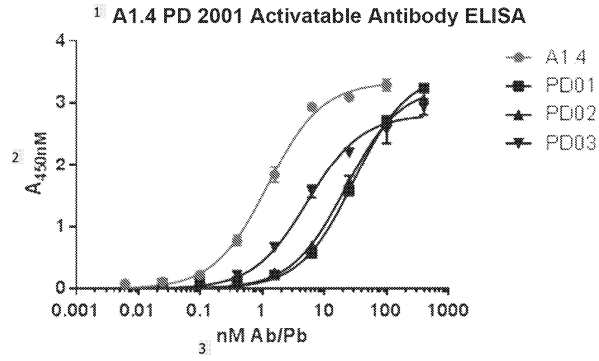


Фиг. 12

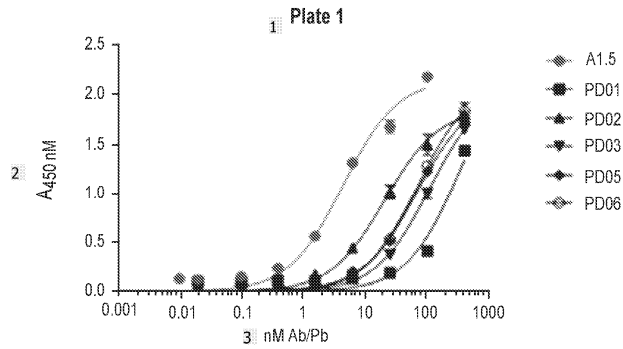


Фиг. 13

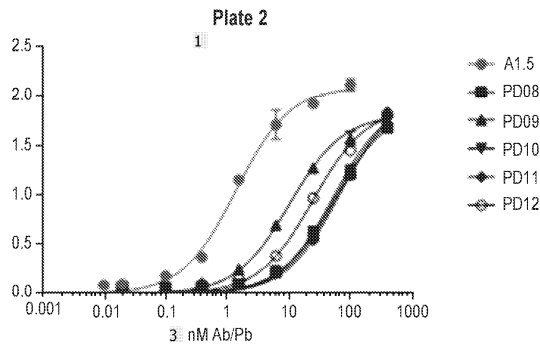




Фиг. 14

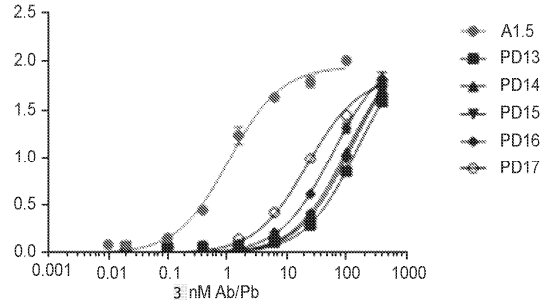


	A1.5	PD01	PD02	PD03	PD05	PD06
4: One site - Specific binding		Hit constraint				
5: Best-fit values		6				
Bmax	2.145	-2.500	1.852	2.091	2.009	2.158
Kd	4.259	347.8	20.64	109.3	67.61	11.01



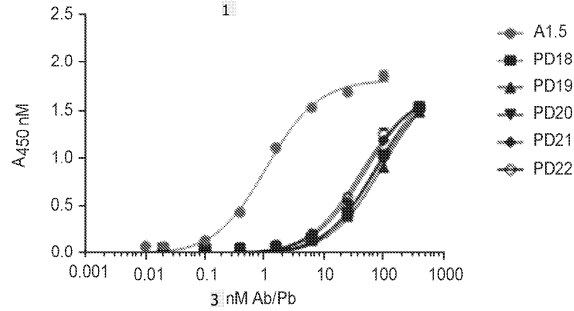
	A1.5	PD08	PD09	PD10	PD11	PD12
4: One site - Specific binding						
5: Best-fit values						
Bmax	2.100	1.899	1.815	1.910	2.017	1.859
Kd	1.417	55.20	10.25	52.97	67.47	24.69

1 | Plate 3



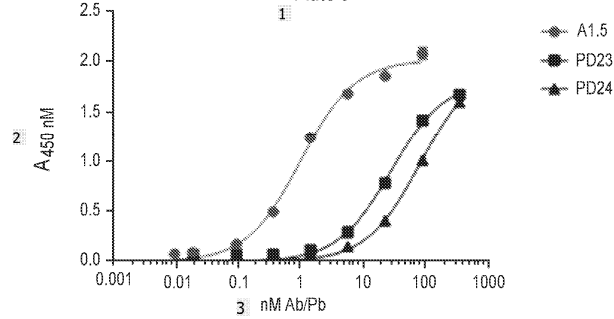
	A1.5	PD13	PD14	PD15	PD16	PD17
4   One site -- Specific binding		Hit constraint		Hit constraint		
5   Best-fit values		6		6		
Bmax	1.987	-2.200	2.162	-2.200	2.084	1.885
Kd	1.073	151.2	100.3	117.0	58.81	21.95

1 | Plate 4



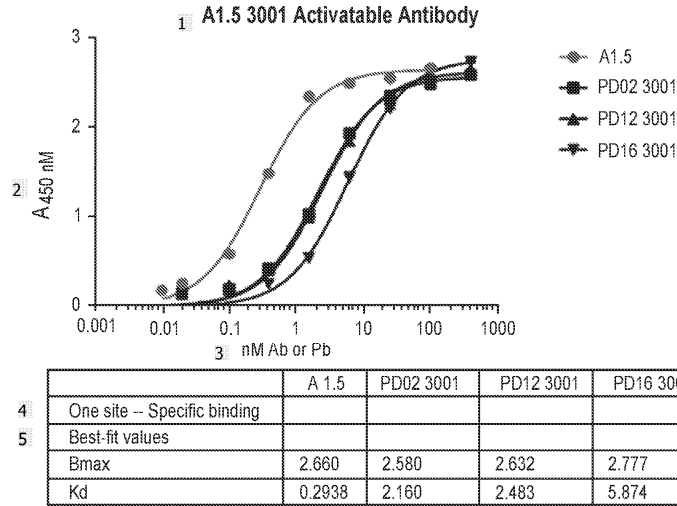
	A1.5	PD18	PD19	PD20	PD21	PD22
4   One site -- Specific binding						
5   Best-fit values						
Bmax	1.839	1.844	1.837	1.802	1.750	1.720
Kd	1.087	75.12	93.27	77.46	48.96	41.33

1 | Plate 5

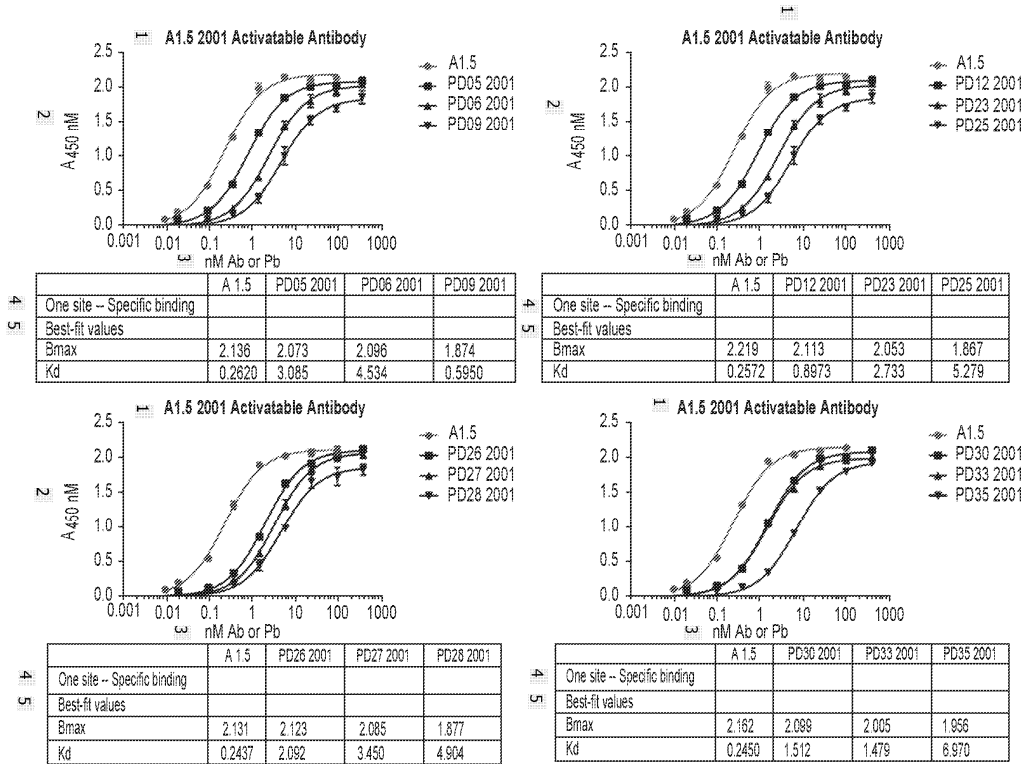


	A 1.5	PD23	PD24
4   One site -- Specific binding			
5   Best-fit values			
Bmax	2.049	1.847	1.993
Kd	1.086	31.37	92.42

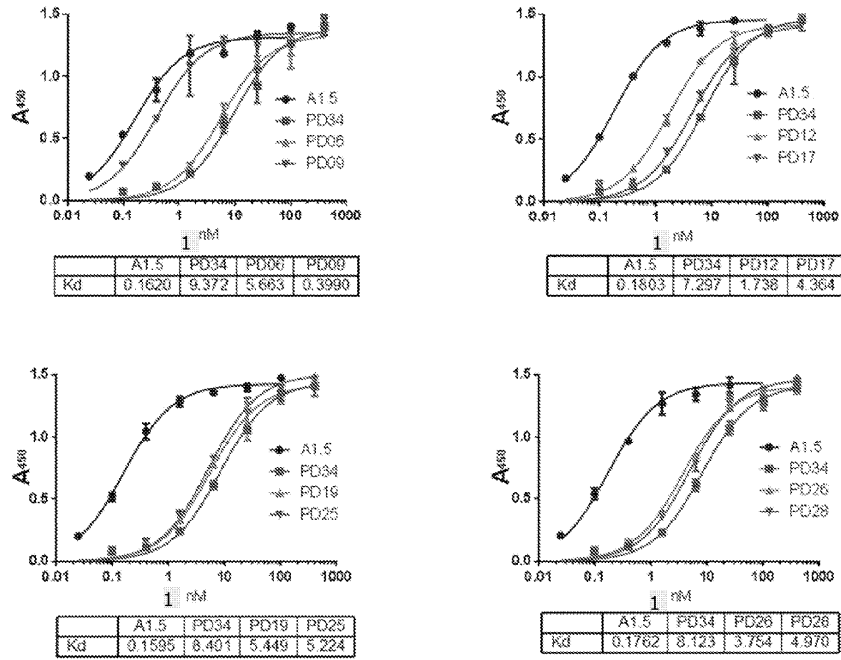
Фиг. 15



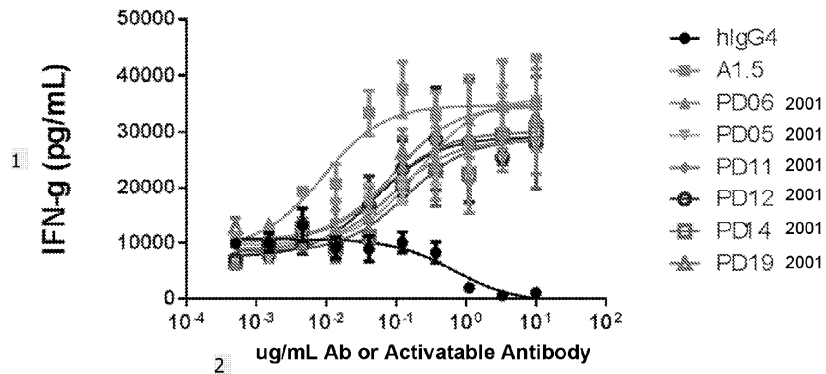
Фиг. 16



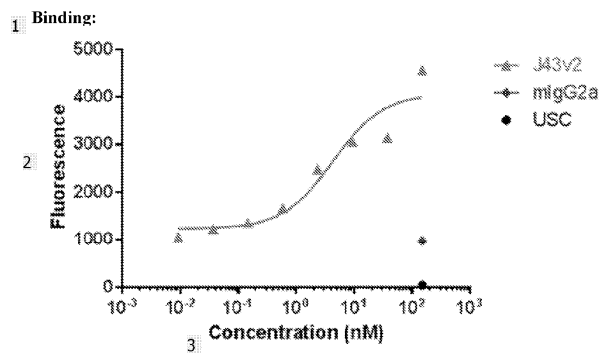
Фиг. 17



Фиг. 18

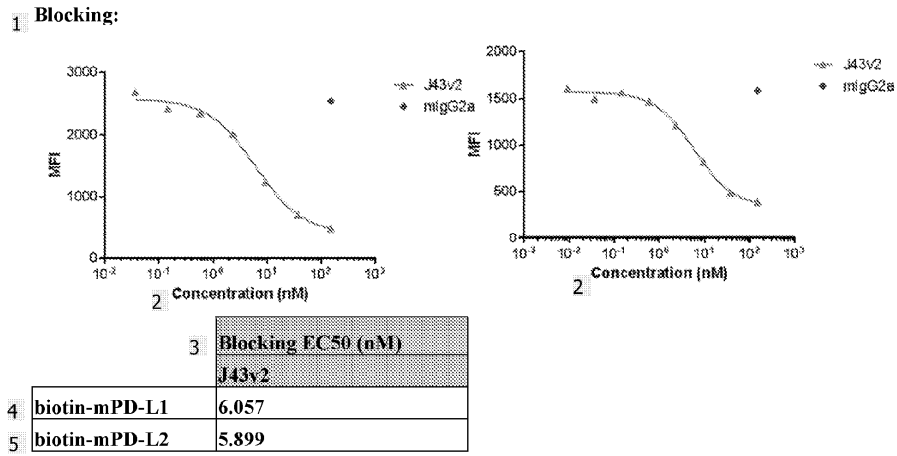


Фиг. 19

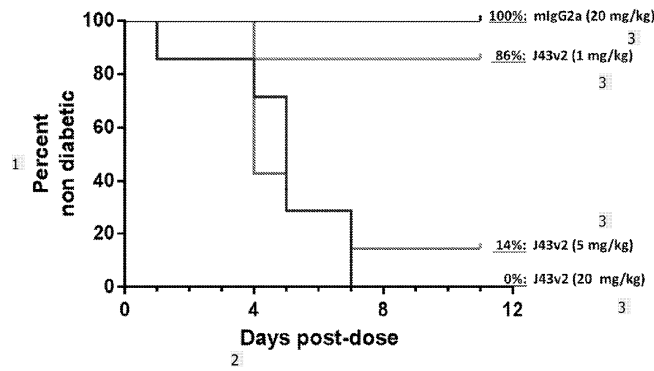


4	Binding EC50 (nM)
	J43v2
	4.308

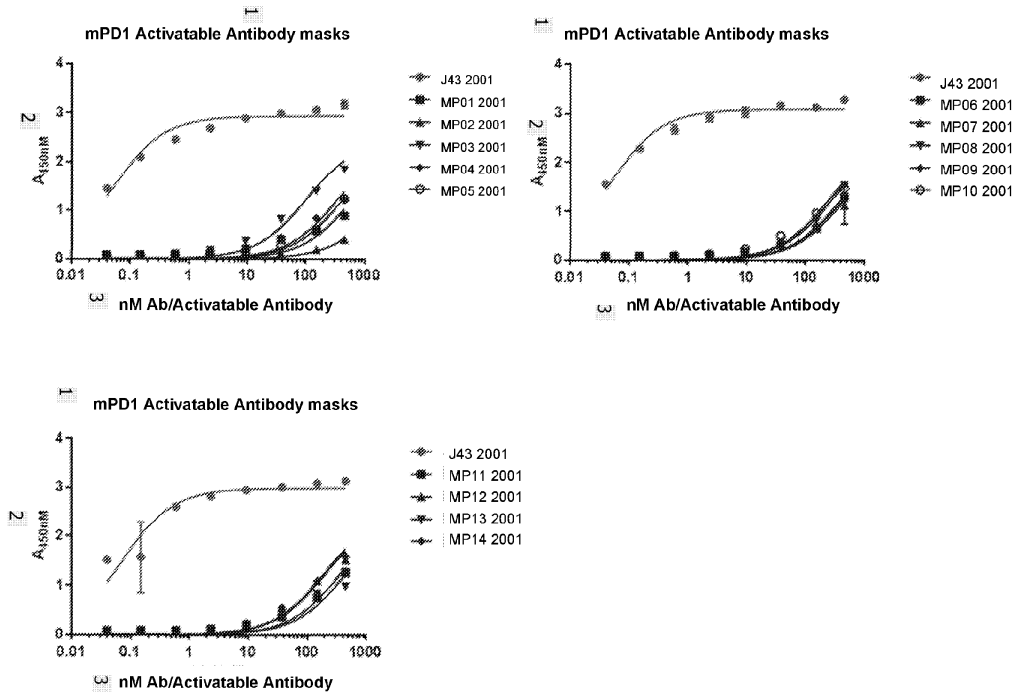
Фиг. 20А



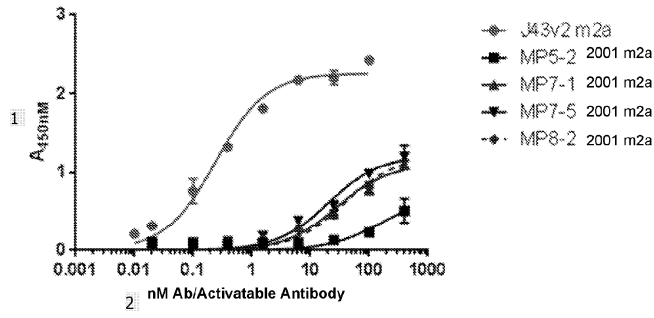
Фиг. 20В



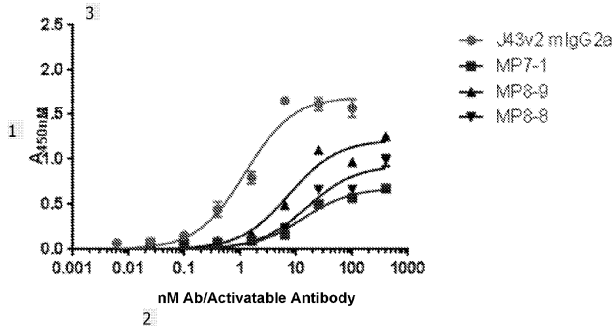
Фиг. 21



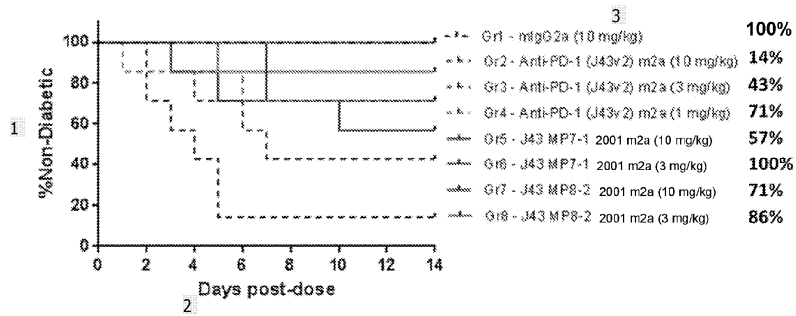
Фиг. 22



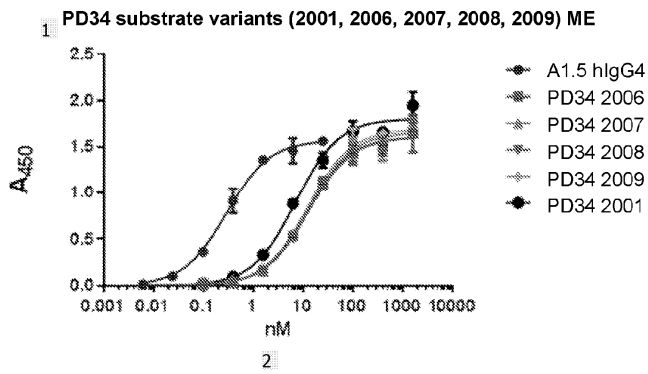
J43 MP 2001 Activatable Antibody ELISA



Фиг. 23

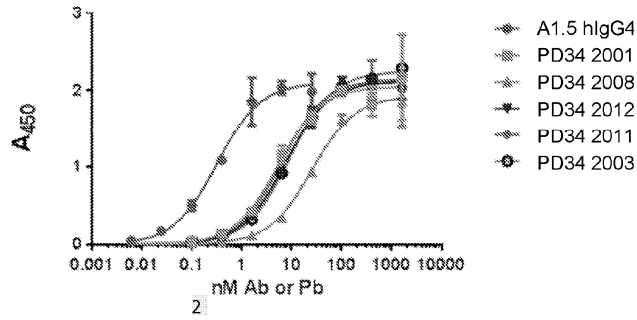


Фиг. 24



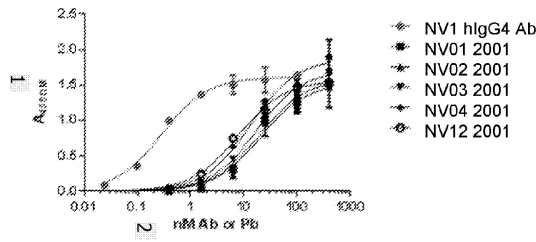
Фиг. 25А

1 PD34 substrate variants (2001, 2003, 2009, 2011, 2012) ME



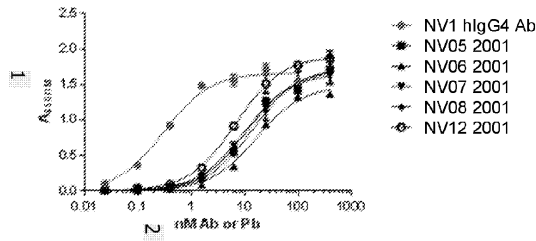
Фиг. 25B

Nivo Pb ME ELISA



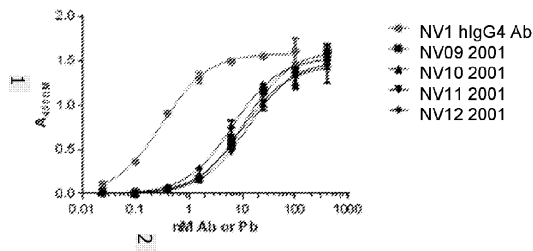
Фиг. 26A

Nivo Pb ME ELISA



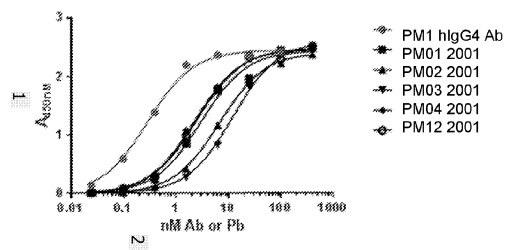
Фиг. 26B

Nivo Pb ME ELISA

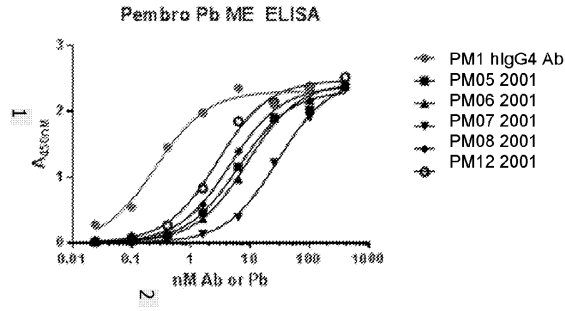


Фиг. 26C

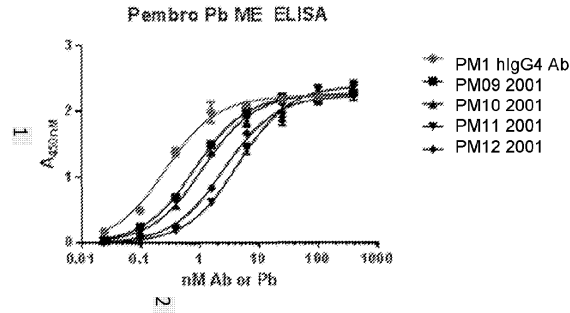
Pembro Pb ME ELISA



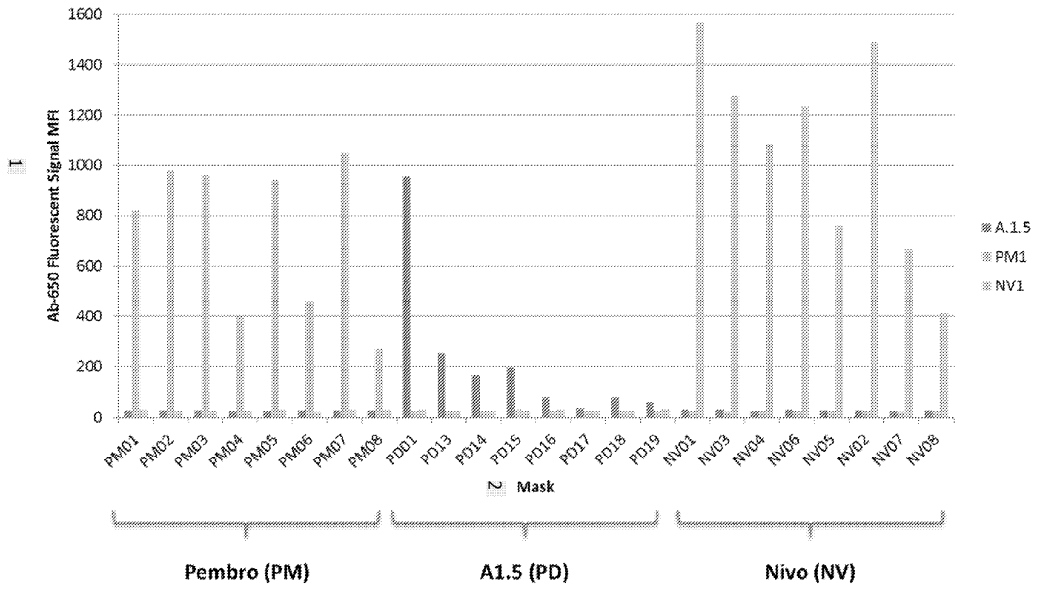
Фиг. 27A



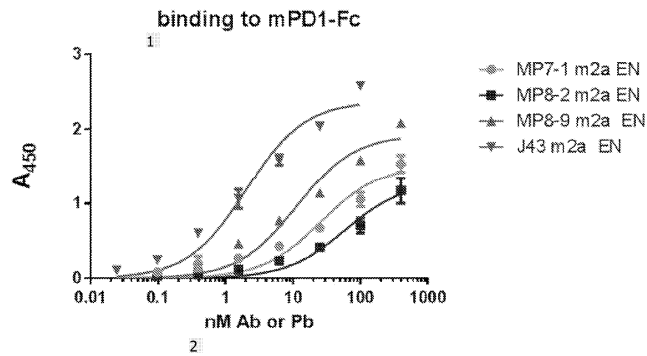
Фиг. 27В



Фиг. 27С

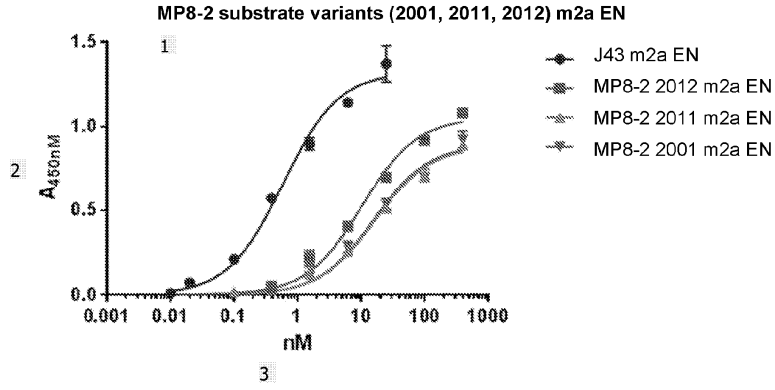


Фиг. 28

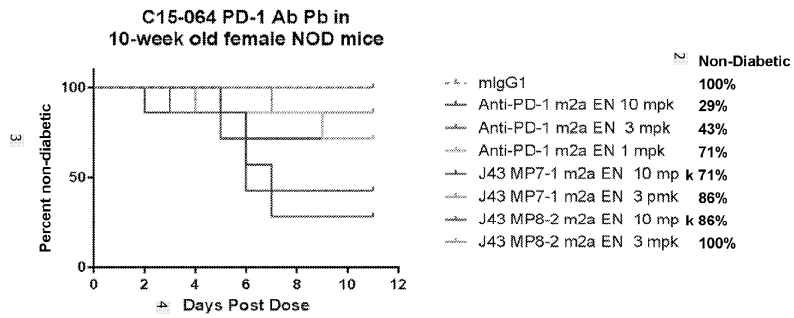


Фиг. 29А

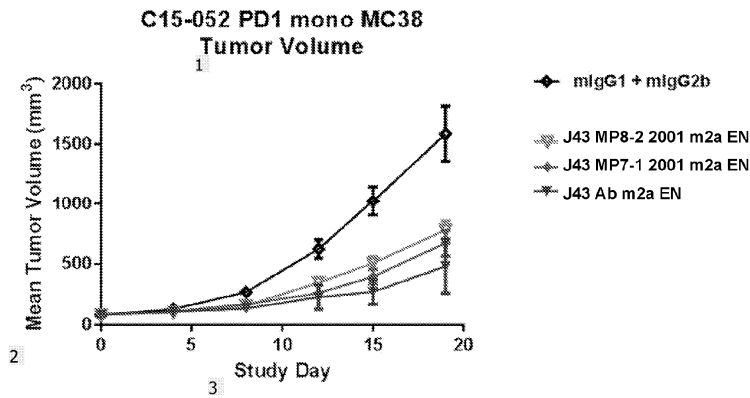




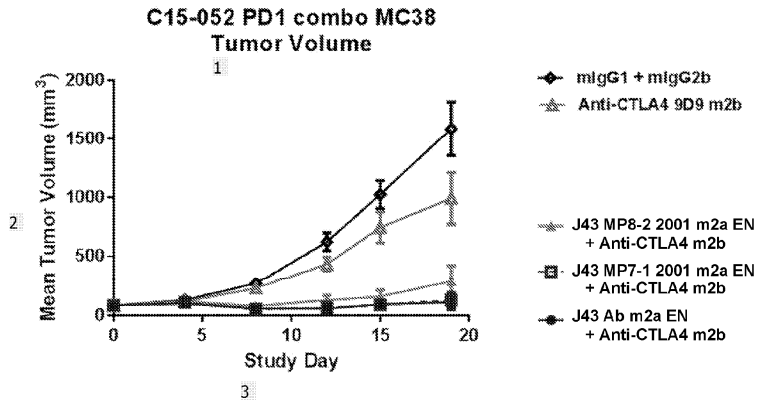
Фиг. 29В



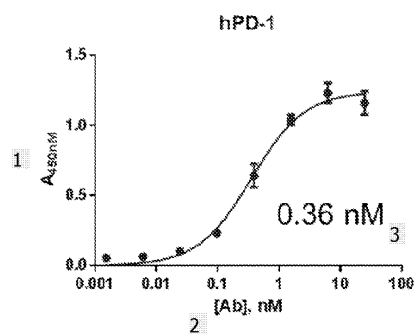
Фиг. 30



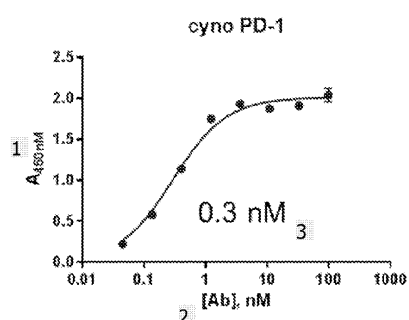
Фиг. 31А



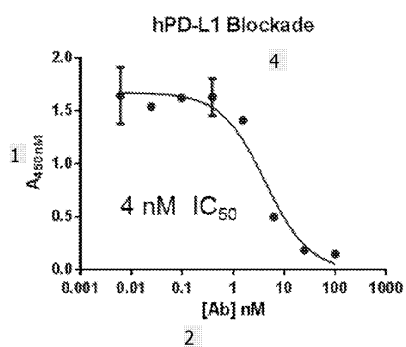
Фиг. 31В



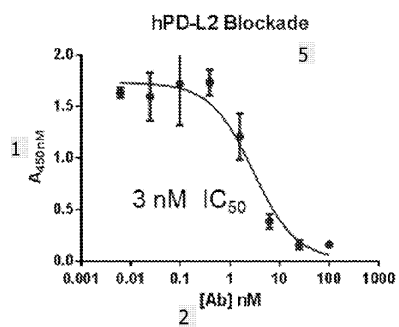
Фиг. 32А



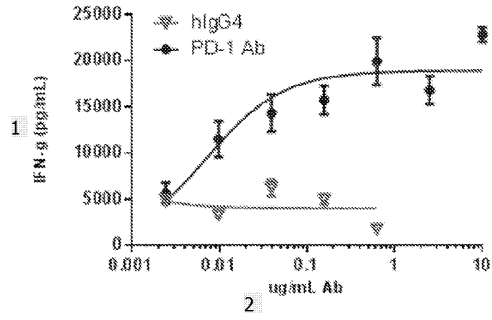
Фиг. 32В



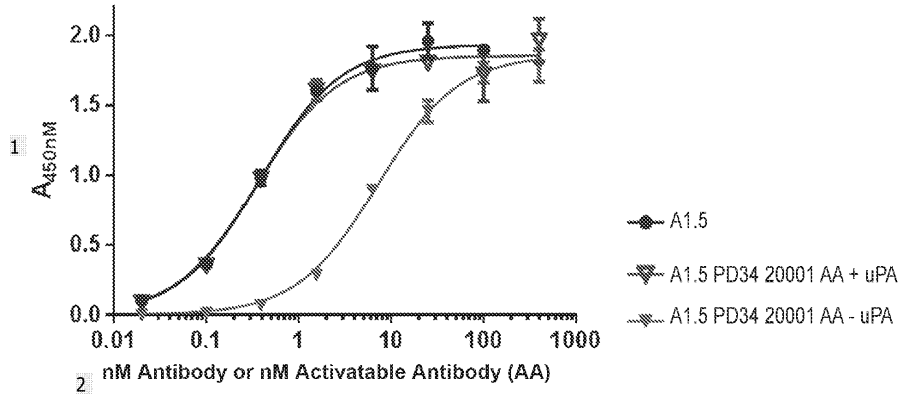
Фиг. 32С



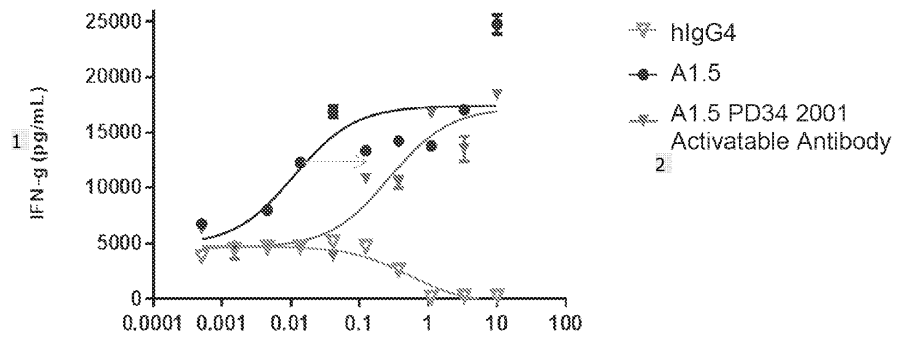
Фиг. 32D



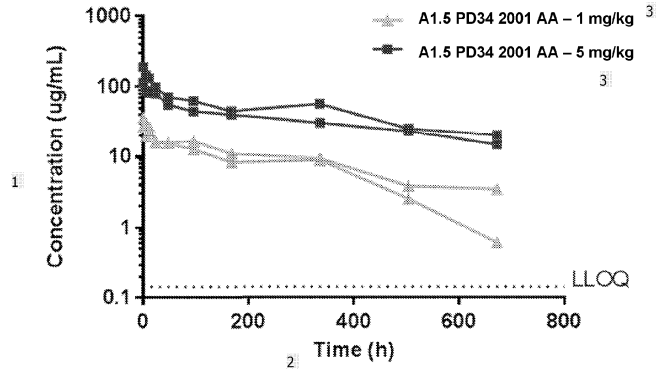
Фиг. 32Е



Фиг. 33А

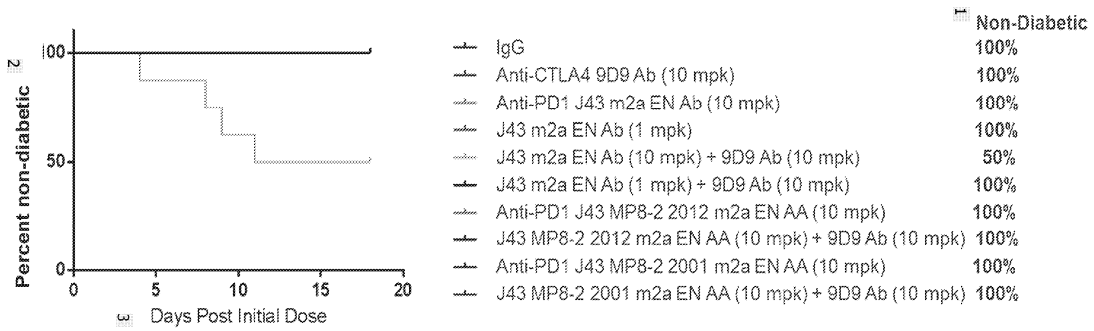


Фиг. 33В

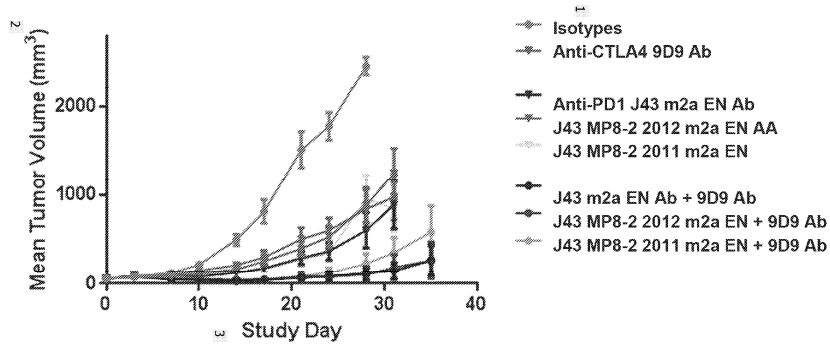


4 Test Article	5 Dose (mg/kg)	$t_{1/2}$ 6 (days)	$C_{max}$ 7 (ug/mL)	$AUC_{last}$ 8 (day*ug/mL)
A1.5 PD34 2001 Activatable Antibody 9	1	8.5	32.1	228.8
	5	14.1	153.1	1132.2
A1.5 Antibody 10	1	8.3	34.1	184.1
	5	8.7	150.8	544.0

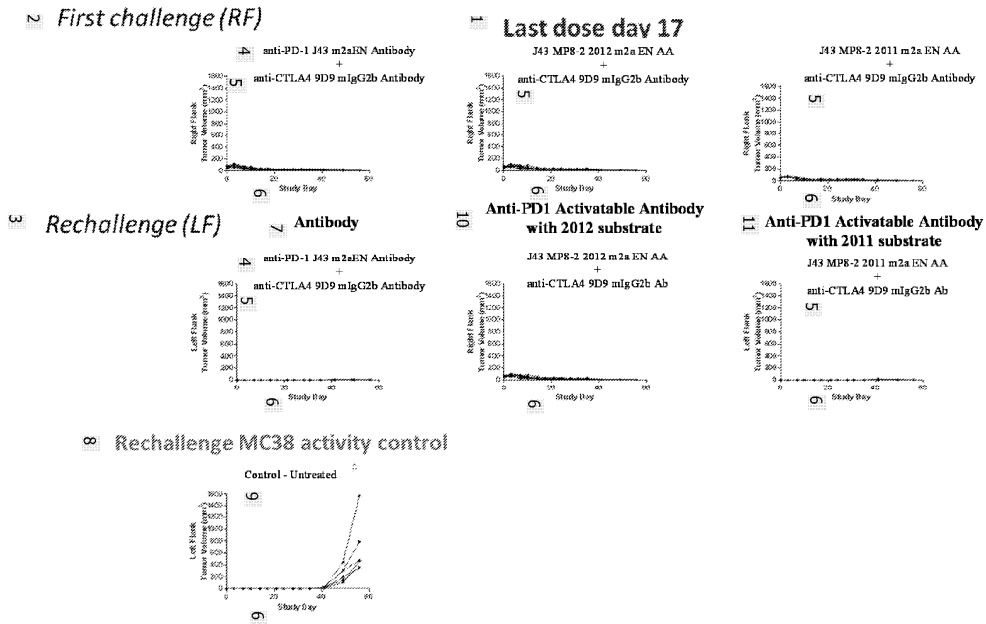
Фиг. 34



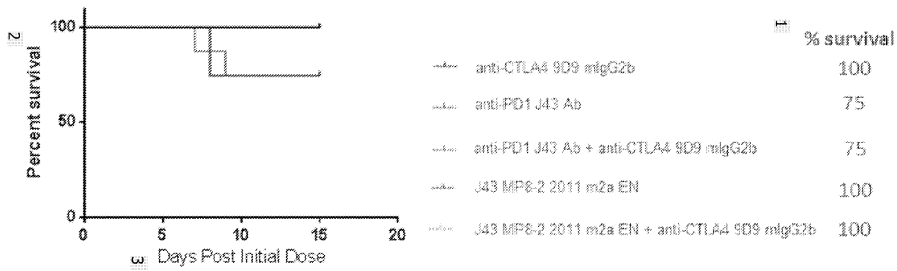
Фиг. 35



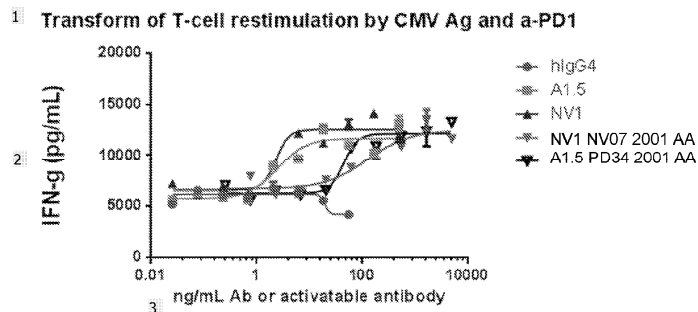
Фиг. 36



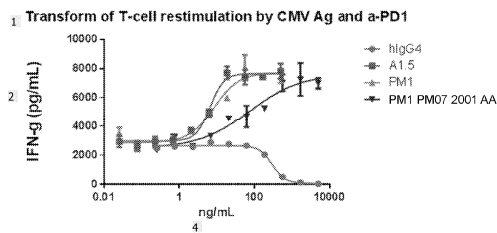
Фиг. 37



Фиг. 38



Фиг. 39



Фиг. 40