

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043696**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.06.13

(51) Int. Cl. **C07K 16/28** (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)

(21) Номер заявки
201891753

(22) Дата подачи заявки
2017.02.02

(54) БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ КОНСТРУКЦИИ АНТИТЕЛ К PSMA И CD3, ВОВЛЕКАЮЩИЕ Т-КЛЕТКИ

(31) 62/290,875

(32) 2016.02.03

(33) US

(43) 2019.01.31

(86) PCT/EP2017/052239

(87) WO 2017/134158 2017.08.10

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЭМДЖЕН РИСЕРЧ (МЮНИК) ГМБХ
(DE)**

(72) Изобретатель:
**Раум Тобиас, Мюнц Маркус, Брзи
Йоханнес, Куфер Петер, Хоффманн
Патрик, Фридрих Маттиас, Раттель
Бенно, Богнер Памела, Вольф
Андреас, Помпе Корнелиус (DE)**

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

(56) WO-A1-2011121110
WO-A1-2014138449

FRIEDRICH MATTHIAS ET AL.:
"Regression of human prostate cancer xenografts
in mice by AMG 212/BAY2010112, a novel
PSMA/CD3-Bispecific BiTE antibody cross-reactive
with non-human primate antigens.", MOLECULAR
CANCER THERAPEUTICS DEC 2012, vol. 11, no.
12, December 2012 (2012-12), pages 2664-2673,
XP002769759, ISSN: 1538-8514, the whole document
WO-A2-2012088461

SEWELL T. ET AL.: "319 Anti-PSMA X
Anti-CD3 Bispecific Antibody Efficiently Redirects
T Cell Cytotoxicity in Castrate-resistant Prostate
Cancer Models", EUROPEAN JOURNAL OF
CANCER, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol.
48, no. SUPPL. 6, 1 November 2012 (2012-11-01),
page 98, XP002758548, ISSN: 0959-8049, DOI:
10.1016/50959-8049(12)72117-2, abstract
WO-A2-2010037836

(57) В изобретении предложены биспецифические конструкции антител со специфической модальностью Fc, характеризующиеся содержанием первого домена, связывающегося с PSMA, второго домена, связывающегося с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или Macaca (макака), и третьего домена, который является специфической модальностью Fc. Кроме того, в изобретении предложен полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, вектор, содержащий этот полинуклеотид, клетки-хозяева, экспрессирующие указанную конструкцию, и содержащая вышеуказанное фармацевтическая композиция.

B1

043696

**043696
B1**

Уровень техники

Полученные из биспецифических антител молекулы, такие как конструкции антител ViTE® (биспецифические антитела, вовлекающие Т-клетки), представляют собой рекомбинантные белковые конструкции, состоящие из двух гибко связанных полученных из антител связывающих доменов. Один связывающий домен конструкций антител ViTE® является специфическим в отношении выбранного опухолеассоциированного поверхностного антигена на клетках-мишенях; второй связывающий домен является специфическим в отношении CD3-субъединицы комплекса Т-клеточного рецептора на Т-клетках. По своей конкретной структуре конструкции антител ViTE® исключительно подходят для временного соединения Т-клеток с клетками-мишенями и, в то же время, для того, чтобы эффективно активировать характерный для Т-клеток цитолитический потенциал против клеток-мишеней. Важной дополнительной разработкой первого поколения конструкций антител ViTE® (см. WO 99/54440 и WO 2005/040220), вошедших в клиническую практику в виде AMG 103 и AMG 110, было предоставление биспецифических конструкций антител, связывающихся с независимым от окружения эпитопом в N-конце цепи CD3ε (WO 2008/119567). Конструкции антител ViTE®, связывающиеся с этим выбранным эпитопом, не только демонстрируют межвидовую специфичность в отношении цепи CD3ε человека и Callithrix jacchus, Saguinus oedipus или Saimiri sciureus, но также, благодаря распознаванию этого конкретного эпитопа (вместо ранее описанных эпитопов связывающих CD3 компонентов в биспецифических привлекающих Т-клетки молекулах), не активирует Т-клетки неспецифическим образом в той же степени, которая наблюдается для предыдущих поколений привлекающих Т-клетки антител. Это снижение активации Т-клеток было связано и коррелирует с меньшим или сниженным перераспределением Т-клеток у пациентов, причем последнее было связано с риском возникновения побочных явлений.

Описанные в WO 2008/119567 конструкции антител, вероятно, подвержены быстрому выведению из организма; следовательно, хотя они способны быстро достигать большинства частей тела, быстро производятся и легки в обращении, их *in vivo* применения могут быть ограничены их кратковременным присутствием *in vivo*. Вследствие короткого *in vivo* времени полужизни этой небольшой одноцепочечной молекулы для достижения терапевтического действия использовали длительное введение путем продолжительной внутривенной инфузии. Однако такие продолжительные внутривенные инфузии считаются неудобными для пациентов и, следовательно, в случае более удобных альтернативных лечебных подходов, препятствуют выбору соединения, которое продемонстрировало большую эффективность в лечении соответствующего заболевания. Следовательно, в данной области техники существует потребность в биспецифических терапевтических средствах, которые сохраняют аналогичную терапевтическую эффективность, которые имеют формат, обеспечивающий простое производство, и которые имеют благоприятные фармакокинетические свойства, включая большее время полужизни.

Повышенное время полужизни в целом полезно в *in vivo* применениях иммуноглобулинов, в особенности антител, и конкретно фрагментов антител небольшого размера. Описанные в данной области техники подходы для достижения такого эффекта включают слияние небольшой биспецифической конструкции антитела с более крупными белками, которые предпочтительно не препятствуют терапевтическому действию ViTE®. Примеры таких дополнительных разработок биспецифических молекул, вовлекающих Т-клетки, включают биспецифические Fc-молекулы, например, описанные в US 2014/0302037, US 2014/0308285, WO 2014/144722, WO 2014/151910 и WO 2015/048272. Альтернативной стратегией является применение ЧСА, слитого с биспецифической молекулой или простое слияние связывающих пептидов человеческого альбумина (см., например, WO2013/128027, WO2014/140358).

Было выявлено несколько маркеров рака предстательной железы, включая, например, простатический специфический антиген (PSA), шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы (STEAP) (Hubert et al., PNAS 96 (1999), 14523-14528), антиген простатических стволовых клеток (PSCA) (Reiter et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 95: 1735-1740, 1998) и простатический специфический мембранный антиген (PSMA; PSM) (Israeli et al., Cancer Res. 53 (1993). Изначально PSMA был определен с помощью моноклонального антитела (MAb) 7E11, полученного при иммунизации частично очищенным мембранным препаратом из клеточной линии аденокарциномы предстательной железы и лимфатических узлов (LNCaP) (Horoszewicz et al., Anticancer Res. 7 (1987), 927-35). Клонировали фрагмент кДНК длиной 2,65 т. п. о., кодирующий белок PSMA, и после этого картировали на хромосому 11p11.2 (Israeli et al., loc. cit.; O'Keefe et al., Biochem. Biophys. Acta 1443 (1998), 113-127). Начальный анализ PSMA продемонстрировал широко распространенную экспрессию в клетках простатического секреторного эпителия. Иммуногистохимическое окрашивание продемонстрировало, что PSMA отсутствовал или умеренно экспрессировался в гиперпластических и доброкачественных тканях, тогда как злокачественные ткани были окрашены более интенсивно (Horoszewicz et al., loc. cit.). В последующих исследованиях были воспроизведены эти результаты и показано, что экспрессия PSMA является универсальной характеристикой практически каждой простатической ткани, исследованной на данный момент. Эти работы дополнительно продемонстрировали, что экспрессия PSMA резко возрастает пропорционально агрессивности опухоли (Burger et al., Int. J. Cancer 100 (2002), 228-237; Chang et al., Cancer Res. 59 (1999), 3192-98; Chang et al., Urology 57 (2001), 1179-83), Kawakami and Nakayama, Cancer Res. 57 (1997), 2321-24; Liu et al., Cancer

Res. 57 (1997), 3629-34; Lopes et al., *Cancer Res.* 50 (1990), 6423-29; Silver et al., *Clin. Cancer Res.* 9 (2003), 6357-62; Sweat et al., *Urology* 52 (1998), 637-40; Troyer et al., *Int. J. Cancer* 62 (1995), 552-558; Wright et al., *Urology* 48 (1996), 326-334). В соответствии с корреляцией между экспрессией PSMA и стадией опухоли повышенные уровни PSMA связаны с андрогеннезависимым раком предстательной железы (PCa). Анализ образцов тканей от пациентов с раком предстательной железы продемонстрировал повышенные уровни PSMA после физической кастрации или терапии на основе андрогенной депривации. В отличие от экспрессии простатического специфического антигена, регуляция которого понижена после андрогенной абляции, экспрессия PSMA существенно повышена как в первичных, так и в метастатических опухолевых образцах (Kawakami et al., Wright et al., loc. cit.). В соответствии с повышенной экспрессией при андрогеннезависимых опухолях также известно, что регуляция транскрипции PSMA понижается стероидами, а введение тестостерона опосредует резкое снижение уровней белка и мРНК PSMA (Israeli et al., *Cancer Res.* 54 (1994), 1807-11; Wright et al., loc. cit.). Экспрессия PSMA также высока при вторичных опухолях предстательной железы и метастатических заболеваниях неизвестного происхождения. Иммуногистохимический анализ выявил относительно интенсивную и гомогенную экспрессию PSMA в метастатических поражениях, локализованных в лимфатических узлах, костях, мягких тканях и легких, по сравнению с доброкачественными простатическими тканями (Chang et al. (2001), loc. cit.; Murphy et al., *Cancer* 78 (1996), 809-818; Sweat et al., loc. cit.). В некоторых работах также сообщается об ограниченной экспрессии PSMA в экстрапростатических тканях, включая подгруппу проксимальных почечных канальцев, некоторые клетки мембраны щеточной каймы желудочно-кишечного тракта и редкие клетки в толстокишечных криптах (Chang et al. (1999), Horoszewicz et al., Israeli et al. (1994), Lopes et al., Troyer et al., loc. cit.). При этом уровни PSMA в этих тканях в общем случае на два или три порядка ниже, чем наблюдаемые в предстательной железе (Sokoloff et al., *Prostate* 43 (2000), 150-157). PSMA также экспрессируется в опухолеассоциированных новообразованных сосудах большинства изученных солидных опухолей, но отсутствует в нормальном сосудистом эндотелии (Chang et al. (1999), Liu et al., Silver et al., loc. cit.). Хотя значимость экспрессии PSMA в сосудистой системе неизвестна, специфичность в отношении опухолеассоциированного эндотелия делает PSMA потенциальной мишенью для лечения многих форм злокачественных образований.

Краткое описание сущности изобретения

Описанные в данной области техники продлевающие время полужизни форматы (HLE-форматы (от англ. "half-life extending")) биспецифических молекул, вовлекающих Т-клетки, которые включают гетеро-Fc (также обозначаемый как гетеродимерный Fc, hetFc или hFc) формат и слияние человеческого сывороточного альбумина (также обозначаемого HSA или hALB), имеют индивидуальные недостатки, такие как неспецифическая активация Т-клеток, активация комплемента, нестабильность или фармакокинетический профиль, который не соответствует необходимому продлению времени полужизни молекул. Следовательно, целью данного изобретения является обеспечение продлевающего время полужизни формата биспецифических молекул, вовлекающих Т-клетки, в котором устранен по меньшей мере один и, конечно, предпочтительно более одного этих индивидуальных недостатков, наблюдаемых для молекул существующего уровня техники. Соответственно, в данном изобретении предложены конструкции антител со специфической модальностью Fc, характеризующейся содержанием первого домена, связывающегося с PSMA, второго домена, связывающегося с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или Масаса (макака), и третьего домена, который является специфической модальностью Fc. Кроме того, в изобретении предложены полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, вектор, содержащий этот полинуклеотид, клетки-хозяева, экспрессирующие конструкцию, и содержащая вышеуказанное фармацевтическая композиция.

Описание фигур

Фиг. 1: на фиг. 1a изображена диаграмма одного варианта реализации конструкции антитела согласно изобретению. На фиг. 1b изображена конструкция антитела с гетеродимерным Fc, а на фиг. 1c изображена конструкция Х-тела, описанная в данной области техники. Указанные заряженные пары внесены для усиления гетеродимеризации. На фиг. 1d изображен продукт слияния конструкции антитела с человеческим сывороточным альбумином (HSA/hALB).

Фиг. 2: оценка мишень-независимой активации Т-клеток конструкциями антител мишень А HLE BiTE®. 2(a) конструкция антитела согласно изобретению в 48 ч анализе активации человеческими МКПК (3х); серийные разведения HLE BiTE® (начиная с 20 нМ; 1:5, 7х+контроль); без или с блокированием FcR [10 мг/мл huIgG (Kiovog, Baxter)]; FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 2 (b) гетеро-Fc конструкция антитела в 48 ч анализе активации человеческими МКПК и МКПК с отсутствием клеток CD14⁺/CD33⁺ (3х); серийные разведения HLE BiTE® (начиная с 20 нМ; 1:5, 7х+контроль); FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺.

Фиг. 3: оценка мишень-независимой активации Т-клеток конструкциями антител мишень В HLE BiTE®. 3(a) конструкция антитела согласно изобретению в 48 ч анализе активации человеческими МКПК (3х); серийные разведения HLE BiTE® (начиная с 20 нМ; 1:5, 7х+контроль); без или с блокирова-

нием FcR [10 мг/мл hulgG (Kiovog, Baxter)]; FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 3(b) конструкция антитела гетеро-Fc в 48 ч анализе активации человеческими МКПК и МКПК с отсутствием клеток CD14⁺/CD33⁺ (3x); серийные разведения HLE BiTE® (начиная с 20 нМ; 1:5, 7x+контроль); FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 3(c) конструкция X-тела в 48 ч анализе активации человеческими МКПК и МКПК с отсутствием клеток CD14⁺/CD33⁺ (3x); серийные разведения HLE BiTE® (начиная с 20 нМ; 1:5, 7x+контроль); FACS-измерение экспрессии CD69 и CD25 [не показано] на Т-клетках CD4⁺, CD8⁺. 3(d) -3(f) Выделенные МКПК от трех разных здоровых доноров-людей в течение 48 ч культивировали с возрастающими концентрациями биспецифических HLE-конструкций антител, специфических в отношении антигенов мишени В. Экспрессию маркера активации CD69 на Т-клетках CD4⁺ и CD8⁺ определяли методом анализа проточной цитометрии, используя конъюгированное с PE-Cy7 mab, специфическое в отношении CD69.

Фиг. 4: связывание комплемента C1q Fc-слитыми конструкциями антител BiTE®. Fc-слитые конструкции антител BiTE® (одноцепочечный Fc BiTE® (треугольники), гетеро-Fc BiTE® (квадраты), каноническое BiTE® (круги)) наносили на планшет Maxisorp (в серийных разведениях) перед инкубацией с объединенной человеческой сывороткой и инкубацией с поликлональным мышинным антителом против человеческого C1q, визуализируемым козым антимышиным Fc-AP конъюгатом.

Фиг. 5: средние ФК-профили двух разных конструкций антител BiTE®-HLE к PSMA после введения одной дозы яванским макакам. В целях сравнения сывороточные концентрации нормализованы в отношении дозы к 15 мкг/кг и указаны в нмолях.

Фиг. 6: биспецифические scFc-варианты D9F (SEQ ID NO: 481), T2G (SEQ ID NO: 482), D3L (SEQ ID NO: 483), T7I (SEQ ID NO: 484) и K6C (SEQ ID NO: 485). Предпочтительная конструкция антитела согласно данному изобретению приведена в SEQ ID NO: 481.

Фиг. 7: определение методом поверхностного плазмонного резонанса (ППР) связывания с человеческим FcRn. Каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППР (Biacore) экспериментах. Максимальное связывание во время инъекционной фазы измеряли для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (ЕО), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. Средние значения двойного определения приведены на фиг. 7А и 7В.

Фиг. 8: каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C и человеческое IgG1-каппа антитело MT201 исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППР (Biacore) экспериментах. Максимальное связывание во время инъекционной фазы измеряли для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (ЕО), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. Приведены средние значения двойного определения, включая планки погрешностей, указывающие стандартное отклонение.

Подробное описание изобретения

Кроме существенного продления времени полужизни конструкций антител согласно изобретению, которые предпочтительно являются биспецифическими, слияние специфической модальности Fc, т.е. третьего домена в соответствии с данным изобретением, также отвечает за неожиданное существенное воздействие на первый и второй связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению. Таким образом, тогда как другие продлевающие время полужизни модальности привлекающих Т-клетки конструкций антител демонстрируют индивидуальные предпочтительные черты, выбор представленной специфической модальности Fc позволяет обеспечивать биспецифические молекулы, которые, как правило, демонстрируют широкий спектр предпочтительных характеристик функционального молекулярного формата и, следовательно, делают возможной разработку перспективных фармацевтических композиций.

Таким образом, в данном изобретении предложена конструкция антитела, содержащая:

первый домен, который связывается с PSMA,

второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и Масаса; и

третий домен, который содержит два полипептидных мономера, каждый из которых содержит шарнирную область, домен СН2 и домен СН3, причем указанные два полипептидных мономера слиты друг с другом посредством пептидного линкера.

Термин "конструкция антитела" относится к молекуле, чья структура и/или функция основаны на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекулы иммуноглобулина. Следовательно, конструкция антитела способна связываться со своей специфической мишенью или антигеном и/или получена из варьируемых доменов тяжелой цепи (VH) и/или варьируемых доменов легкой цепи (VL) антитела или его фрагмента. Кроме того, связывающий домен конструкции антитела в соответствии с изобретением содержит минимальные структурные требования антитела, которые обеспечивают связывание мишени. Это минимальное требование может, например, определяться наличием по меньшей мере трех CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 VL-области) и/или трех CDR тяжелой

цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 VH-области), предпочтительно всех шести CDR. Альтернативным подходом для определения минимальных структурных требований антитела является определение эпитопа антитела в пределах структуры специфической мишени, соответственно, белкового домена белка-мишени, составляющего область эпитопа (кластер эпитопа), или путем указания специфического антитела, конкурирующего за эпитоп определенного антитела. Антитела, на которых основаны конструкции в соответствии с изобретением, включают, например, моноклональные, рекомбинантные, химерные, деиммунизированные, гуманизированные и человеческие антитела.

Связывающий домен конструкции антитела в соответствии с изобретением может, например, содержать вышеуказанные группы CDR. Предпочтительно CDR находятся в каркасной области варибельной области легкой цепи (VL) антитела и варибельной области тяжелой цепи (VH) антитела; однако оно не обязано содержать их обе. Fd-фрагменты, например, имеют две VH-области и часто сохраняют в некоторой мере антигенсвязывающую функцию интактного антигенсвязывающего домена. Дополнительные примеры формата фрагментов антител, вариантов антител или связывающих доменов включают (1) фрагмент Fab, моновалентный фрагмент, содержащий домены VL, VH, CL и CH1; (2) фрагмент F(ab')₂, бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанные дисульфидным мостиком в шарнирной области; (3) фрагмент Fd, содержащий два домена VH и домен CH1; (4) фрагмент Fv, содержащий домены VL и VH одного плеча антитела, (5) фрагмент dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), который содержит домен VH; (6) выделенную определяющую комплементарность область (CDR) и (7) одноцепочечный Fv (scFv), причем последний является предпочтительным (например, полученным из scFV-библиотеки).

Примеры вариантов реализации конструкций антител в соответствии с изобретением описаны, например, в WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, US 2014/0308285, US 2014/0302037, WO 2014/144722, WO 2014/151910 и WO 2015/048272.

Также в рамках определения "связывающий домен" или "домен, который связывает" находятся фрагменты полноразмерных антител, такие как VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, Fd, Fab, Fab', F(ab')₂ или "r IgG" ("полуантитело"). Конструкции антител в соответствии с изобретением также могут содержать модифицированные фрагменты антител, также называемые вариантами антител, такие как scFv, di-scFv или bi(s)-scFv, scFv-Fc, scFv-молиния, scFab, Fab₂, Fab₃, диатела, одноцепочечные диатела, тандемные диатела (Tandab's), тандемные di-scFv, тандемные tri-scFv, "мультидела", такие как триатела или тетратела, и однодоменные антитела, такие как нанотела или антитела с одним варибельным доменом, содержащие только один варибельный домен, который может быть VHH, VH или VL, которые специфически связывают антиген или эпитоп независимо от других V-областей или доменов.

В контексте данного документа термины "одноцепочечный Fv", "одноцепочечные антитела" или "scFv" относятся к содержащим одну полипептидную цепь фрагментам антител, которые содержат варибельные области как из тяжелой, так и из легкой цепей, но в которых отсутствуют константные области. В общем случае одноцепочечное антитело дополнительно содержит полипептидный линкер между VH- и VL-доменами, который обеспечивает возможность образования необходимой структуры, которая позволяет связывать антиген. Одноцепочечные антитела подробно обсуждаются Pluckthun в *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg and Moore eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994). Известны различные способы создания одноцепочечных антител, включая описанные в патентах США № 4694778 и 5260203; публикации заявки на международный патент № WO 88/01649; Bird (1988) Science 242:423-442; Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; Ward et al. (1989) Nature 334:544-545; Skerra et al. (1988) Science 242:1038-1041. В конкретных вариантах реализации одноцепочечные антитела также могут быть биспецифическими, мультиспецифическими, человеческими и/или гуманизированными и/или синтетическими.

Кроме того, определение термина "конструкция антитела" включает моновалентные, бивалентные и поливалентные/мультивалентные конструкции и, следовательно, биспецифические конструкции, специфически связывающиеся только с двумя антигенными структурами, а также полиспецифические/мультиспецифические конструкции, которые специфически связывают более двух антигенных структур, например, три, четыре или более, посредством разных связывающих доменов. Более того, определение термина "конструкция антитела" включает молекулы, состоящие из только одной полипептидной цепи, а также молекулы, состоящие из более чем одной полипептидной цепи, причем цепи могут быть идентичными (гомодимеры, гомотримеры или гомоолигомеры) или разными (гетеродимеры, гетеротримеры или гетероолигомеры). Примеры определенных выше антител и их вариантов или производных описаны, помимо прочего, в Harlow and Lane, *Antibodies a laboratory manual*, CSHL Press (1988) and *Using Antibodies: a laboratory manual*, CSHL Press (1999), Kontermann and Dübel, *Antibody Engineering*, Springer, 2nd ed. 2010 и Little, *Recombinant Antibodies for Immunotherapy*, Cambridge University Press 2009.

В контексте данного документа термин "биспецифический" относится к конструкции антитела, которая является "по меньшей мере биспецифической", т.е. содержит по меньшей мере первый связывающий домен и второй связывающий домен, причем первый связывающий домен связывается с одним антигеном или мишенью (в данном случае: PSMA), а второй связывающий домен связывается с другим антигеном или мишенью (в данном случае: CD3). Соответственно, конструкции антител в соответствии с

изобретением имеют специфичность в отношении по меньшей мере двух разных антигенов или мишеней. Например, первый домен предпочтительно не связывается с внеклеточным эпитопом CD3ε одного или более видов, описанных в данном документе. Термин "антиген-мишень клеточной поверхности" относится к антигенной структуре, экспрессируемой клеткой, которая находится на клеточной поверхности, то есть, доступна для описанной в данном документе конструкции антитела. Он может являться белком, предпочтительно внеклеточной частью белка, или углеводной структурой, предпочтительно углеводной структурой белка, такой как гликопротеин. Предпочтительно он является опухолевым антигеном. Термин "биспецифическая конструкция антитела" согласно изобретению также включает мультиспецифические конструкции антител, такие как триспецифические конструкции антител, содержащие три связывающих домена, или конструкции, имеющие более трех (например, четыре, пять...) специфичностей.

Учитывая, что конструкции антител в соответствии с изобретением являются (по меньшей мере) биспецифическими, они не присутствуют в природе и заметно отличаются от продуктов природного происхождения. Следовательно, "биспецифическая" конструкция антитела или иммуноглобулина представляет собой искусственное гибридное антитело или иммуноглобулин, имеющее по меньшей мере два разных связывающих участка с разной специфичностью. Биспецифические конструкции антител можно получать различными способами, включая слияние гибридом или связывание фрагментов Fab'. См. например, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990).

По меньшей мере два связывающих домена и переменные домены (VH/VL) конструкции антитела согласно данному изобретению могут содержать или не содержать пептидные линкеры (спейсерные пептиды). Термин "пептидный линкер" в соответствии с данным изобретением включает аминокислотную последовательность, посредством которой связаны между собой аминокислотные последовательности одного (переменного и/или связывающего) домена и другого (переменного и/или связывающего) домена конструкции антитела. Пептидные линкеры также можно использовать для слияния третьего домена с другими доменами конструкции антитела согласно изобретению. Важной технической характеристикой такого пептидного линкера является то, что у него отсутствует полимеризационная активность. К подходящим пептидным линкерам относятся описанные в патентах США 4751180 и 4935233 или WO 88/09344. Пептидные линкеры также можно использовать для присоединения других доменов или модулей или областей (таких как продлевающие время полужизни домены) к конструкции антитела согласно изобретению.

Конструкции антител согласно изобретению предпочтительно являются "in vitro созданными конструкциями антител". Этот термин относится к конструкции антитела в соответствии с вышеприведенным определением, в которой вся или часть переменной области (например, по меньшей мере одна CDR) создана посредством отбора в неиммунной клетке, например, in vitro фагового дисплея, белкового чипа или любого другого способа, в котором кандидатные последовательности можно исследовать в отношении их способности связываться с антигеном. Предпочтительно этот термин исключает последовательности, созданные исключительно путем геномной перестройки в иммунной клетке животного. "Рекомбинантное антитело" представляет собой антитело, созданное посредством применения технологии рекомбинантных ДНК или генетической инженерии.

В контексте данного документа термин "моноклональное антитело" (mAb) или моноклональная конструкция антитела относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, будучи направленными против одного антигенного участка или детерминанты на антигене, в противоположность препаратам традиционных (поликлональных) антител, которые, как правило, содержат разные антитела, направленные против разных детерминант (или эпитопов). Кроме своей специфичности, преимуществом моноклональных антител является то, что их синтезируют с помощью гибридомной культуры, следовательно, они не содержат примесей других иммуноглобулинов. Обстоятельство "моноклональное" указывает на характер антитела, как полученного из по существу гомогенной популяции антител, и его не следует воспринимать, как требующее получения антитела каким-либо конкретным способом.

Для получения препарата моноклональных антител можно использовать любой способ, обеспечивающий получение антител с помощью стабильных культур клеточных линий. Например, предназначенные для применения моноклональные антитела можно создавать методом гибридомы, впервые описанным Koehler et al., Nature, 256: 495 (1975), или можно создавать методами рекомбинантных ДНК (См., например, патент США № 4816567). Примеры дополнительных методик для получения человеческих моноклональных антител включают методику триомы, методику человеческой В-клеточной гибридомы (Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72) и методику ВЭБ-гибридомы (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96).

После этого можно проводить скрининг гибридом стандартными методами, таким как иммуоферментный анализ (ИФА) и анализ методом поверхностного плазмонного резонанса (BIAcore™), для вы-

явления одной или более гибридом, которые вырабатывают антитело, которое специфически связывается с конкретным антигеном. В качестве иммуногена можно использовать любую форму соответствующего антигена, например, рекомбинантный антиген, природные формы, любые их варианты или фрагменты, а также их антигенные пептиды. Поверхностный плазмонный резонанс, применяемый в системе ВІАсоре, можно использовать для повышения активности фаговых антител, которые связываются с эпитопом антигена-мишени клеточной поверхности (Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmberg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13).

Другой типовой метод получения моноклональных антител включает скрининг библиотек белковой экспрессии, например, библиотек фагового дисплея или рибосомного дисплея. Фаговый дисплей описан, например, в Ladner et al., патенте США № 5223409; Smith (1985) Science 228:1315-1317, Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991) и Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991).

Кроме применения дисплейных библиотек соответствующий антиген можно использовать для иммунизации отличного от человека животного, например, грызуна (такого как мышь, хомяк, кролик или крыса). В одном варианте реализации изобретения отличного от человека животное содержит по меньшей мере часть гена человеческого иммуноглобулина. Например, можно сконструировать мышинные штаммы с дефицитом выработки мышинового антитела с крупными фрагментами локусов человеческого Ig (иммуноглобулина). Используя технологию гибридомы, можно получать и проводить отбор антиген-специфических моноклональных антител, полученных из генов с необходимой специфичностью. Смотрите, например, XENOMOUSE™, Green et al. (1994) Nature Genetics 7:13-21, US 2003-0070185, WO 96/34096 и WO 96/33735.

Моноклональное антитело также можно получить от отличного от человека животного, а затем модифицировать, например, гуманизировать, деиммунизировать, сделать химерными и т.д., используя известную в данной области техники технологию рекомбинантных ДНК. Примеры модифицированных конструкций антител включают гуманизированные варианты нечеловеческих антител, антитела "с созревшей аффинностью" (см., например, Hawkins et al. J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) и Lowman et al., Biochemistry 30, 10832- 10837 (1991)) и мутантные антитела с измененной (ыми) эффекторной (ыми) функцией (ями) (См., например, патент США 5648260, Kontermann and Dübel (2010), loc. cit. и Little (2009), loc. cit.).

В иммунологии созревание аффинности - это процесс, посредством которого В-клетки вырабатывают антитела с повышенной аффинностью в отношении антигена во время иммунного ответа. При повторном воздействии такого же антигена организм-хозяин будет вырабатывать антитела со все большей аффинностью. Как и природный прототип, *in vitro* созревание аффинности основано на принципах мутации и отбора. *In vitro* созревание аффинности успешно применяли для оптимизации антител, конструкций антител и фрагментов антител. Случайные мутации внутри CDR вводят, используя облучение, химические мутагены или ПЦР с внесением ошибок. Кроме того, генетическое разнообразие можно повышать путем перестановки цепей. Два или три цикла мутации и отбора с применением дисплейных методов, таких как фаговый дисплей, обычно приводят к получению фрагментов антител с аффинностью в узком наномольном диапазоне.

Предпочтительный тип вариации конструкций антител с аминокислотными заменами включает замещение одного или более остатков гипервариабельной области родительского антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела). В общем случае полученные в результате варианты, отобранные для дополнительной разработки, должны иметь улучшенные биологические свойства относительно родительского антитела, из которого они получены. Удобный путь создания таких заместительных вариантов включает созревание аффинности с применением фагового дисплея. Вкратце, мутируют несколько участков гипервариабельной области (например, 6-7 участков) для создания всех возможных аминокислотных замен в каждом участке. Созданные таким образом варианты антител отображаются моновалентным образом из частиц нитевидного фага в виде продуктов слияния с продуктом гена III M13, упакованных в каждой частице. Затем проводят скрининг отображенных фагом вариантов в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания), как описано в данном документе. Чтобы определить кандидатные участки гипервариабельной области для проведения модификации, можно проводить аланин-сканирующий мутагенез для определения остатков гипервариабельной области, которые вносят существенный вклад в связывание антигена. В альтернативном или дополнительном варианте может быть полезно проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для определения точек контакта между связывающим доменом и, например, человеческим PSMA. Такие контактные остатки и соседние остатки являются кандидатами для проведения замен в соответствии с применяемыми в данном документе методиками. После создания таких вариантов панель вариантов подвергают описанному в данном документе скринингу, а антитела с превосходящими свойствами в одном или более релевантном анализе отбирают для дополнительной разработки.

Моноклональные антитела и конструкции антител согласно данному изобретению включают, в частности, "химерные" антитела (иммуноглобулины), в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична с соответствующими последовательностями в антителах, полученных от конкретного вида или принадлежащих конкретному классу или подклассу антител, тогда как остаток цепи

(ей) идентичен или гомологичен соответствующим последовательностям в антителах, полученных от другого вида или принадлежащих другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, в том случае, если они проявляют необходимую биологическую активность (патент США № 4816567; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). Представляющие в данном случае интерес химерные антитела включают "приматизированные" антитела, содержащие антигенсвязывающие последовательности переменного домена, полученные от отличного от человека примата (например, марьшики Старого Света, обезьяны и т.д.), и человеческие последовательности константной области. Было описано множество подходов для создания химерных антител. Смотрите, например, Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda et al., Nature 314:452, 1985, Cabilly et al., U.S. Patent No. 4,816,567; Boss et al., патент США № 4816397; Tanaguchi et al., EP 0171496; EP 0173494; и GB 2177096.

Антитело, конструкцию антитела, фрагмент антитела или вариант антитела также можно модифицировать путем специального удаления человеческих Т-клеточных эпитопов (метод, называемый "деиммунизацией") способами, описанными, например, в WO 98/52976 или WO 00/34317. Вкратце, переменные домены тяжелой и легкой цепи антитела можно проанализировать в отношении наличия пептидов, которые связываются с ГКГС класса II; эти пептиды представляют потенциальные Т-клеточные эпитопы (по определению в WO 98/52976 и WO 00/34317). Для выявления потенциальных Т-клеточных эпитопов можно применять подход компьютерного моделирования, называемый "пептидным протягиванием", и, дополнительно, можно проводить поиск по базе данных пептидов, связывающих человеческий ГКГС класса II, в отношении мотивов, присутствующих в последовательностях VH и VL, как описано в WO 98/52976 и WO 00/34317. Эти мотивы связываются с любым из 18 основных DR-аллотипов ГКГС класса II и, таким образом, составляют потенциальные Т-клеточные эпитопы. Выявленные потенциальные Т-клеточные эпитопы можно устранить посредством замены небольшого количества аминокислотных остатков в переменных доменах или, предпочтительно, посредством одиночных аминокислотных замен. Как правило, осуществляют консервативные замены. Часто, но не исключительно, может использоваться аминокислота, обычно присутствующая в данной позиции в последовательностях антител человеческой зародышевой линии. Последовательности человеческой зародышевой линии описаны, например, в Tomlinson, et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G.P. et al. (1995) Immunol. Today Vol. 16 (5): 237-242; и Tomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 14:4628-4638. Директория V BASE представляет исчерпывающую директорию последовательностей переменных областей человеческого иммуноглобулина (составлена Tomlinson, LA. et al. MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK). Эти последовательности можно использовать в качестве источника человеческих последовательностей, например, каркасных областей или CDR. Также можно использовать консенсусные человеческие каркасные области, например, описанные в патенте США № 6300064.

"Гуманизированные" антитела, конструкции антител, их варианты или фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител) представляют собой антитела или иммуноглобулины большей частью человеческих последовательностей, которые содержат (а) минимальную (ые) последовательность (и), полученную (ые) из нечеловеческого иммуноглобулина. Большой частью гуманизированные антитела являются человеческими иммуноглобулинами (реципиентное антитело), в которых остатки из гипервариабельной области (также CDR) реципиента замещены остатками из гипервариабельной области нечеловеческого (например, грызуна) вида (донорское антитело), такого как мышь, крыса, хомяк или кролик, имеющими необходимую специфичность, аффинность и емкость. В некоторых случаях остатки Fv каркасной области (FR) человеческого иммуноглобулина замещены соответствующими нечеловеческими остатками. Кроме того, в контексте данного документа "гуманизированные антитела" также могут содержать остатки, не присущие ни реципиентному антителу, ни донорскому антителу. Эти модификации проводят для дополнительного улучшения и оптимизации характеристик антитела. Гуманизированное антитело также может содержать по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, из человеческого иммуноглобулина. Дополнительные подробности смотрите в Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988); и Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992).

Гуманизированные антитела или их фрагменты можно создавать, замещая последовательности переменного домена Fv, которые не принимают прямого участия в связывании антигена, эквивалентными последовательностями из человеческих переменных доменов Fv. Типовые способы создания гуманизированных антител или их фрагментов предложены в Morrison (1985) Science 229:1202-1207; в Oi et al. (1986) BioTechniques 4:214; и в US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 5859205; и US 6407213. Эти способы включают выделение, обработку и экспрессию нуклеотидных последовательностей, которые кодируют все или часть переменных доменов Fv иммуноглобулина из по меньшей мере одной из тяжелой или легкой цепи. Такие нуклеиновые кислоты можно получить из гибридомы, вырабатывающей антитело против заданной мишени, как описано выше, а также из других источников. Затем рекомбинантную ДНК, кодирующую молекулу гуманизированного антитела, можно клонировать в соответствующий экспрессионный вектор.

Гуманизированные антитела также можно получать, используя трансгенных животных, таких как

мышьи, которые экспрессируют гены человеческой тяжелой и легкой цепи, но не способны экспрессировать эндогенные гены тяжелой и легкой цепи мышинового иммуноглобулина. Winter описывает типовой способ прививания CDR, который можно использовать для получения описанных в данном документе гуманизированных антител (патент США № 5225539). Все CDR конкретного человеческого антитела могут быть замещены по меньшей мере частью нечеловеческой CDR или только некоторые CDR могут быть замещены нечеловеческими CDR. Необходимо лишь заменить то количество CDR, которое требуется для связывания гуманизированного антитела с заданным антигеном.

Гуманизированное антитело можно оптимизировать путем внесения консервативных замен, замен консенсусной последовательности, замен зародышевой линии и/или обратных мутаций. Такие измененные молекулы иммуноглобулина можно создавать с помощью любой из нескольких методик, известных в данной области техники (например, Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 7308-7312, 1983; Kozbor et al., Immunology Today, 4: 7279, 1983; Olsson et al., Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982, и EP 239400).

Термин "человеческое антитело", "человеческая конструкция антитела" и "человеческий связывающий домен" включает антитела, конструкции антител и связывающие домены, имеющие области антитела, такие как переменные и константные области или домены, которые по существу соответствуют известным в данной области техники последовательностям иммуноглобулина человеческой зародышевой линии, включая, например, описанные в Kabat et al. (1991) (loc. cit.). Человеческие антитела, конструкции антител или связывающие домены согласно изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина человеческой зародышевой линии (например, мутации, внесенные посредством случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), например, в CDR, и, в частности, в CDR3. Человеческие антитела, конструкции антител или связывающие домены могут содержать по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или более позиций, замещенных аминокислотным остатком, не кодируемым последовательностью иммуноглобулина человеческой зародышевой линии. При этом в контексте данного документа определение человеческих антител, конструкций антител и связывающих доменов также подразумевает полностью человеческие антитела, которые содержат только искусственно и/или генетически не измененные человеческие последовательности антител, такие как те, которые можно получить, используя технологии или системы, такие как Xenomouse. Предпочтительно "полностью человеческое антитело" не содержит аминокислотных остатков, не кодируемых последовательностями иммуноглобулина человеческой зародышевой линии.

В некоторых вариантах реализации конструкции антител согласно изобретению являются "выделенными" или "по существу чистыми" конструкциями антител. При употреблении для описания представленных в данном документе конструкций антител "выделенная" или "по существу чистая" обозначает конструкцию антитела, которая была определена, отделена и/или изолирована от компонента среды, в которой она вырабатывается. Предпочтительно конструкция антитела не связана или по существу не связана со всеми другими компонентами из среды, в которой она вырабатывается. Примесные компоненты среды, в которой происходит выработка, такие как остаются от рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые, как правило, мешают диагностическому или терапевтическому применению полипептида, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. Конструкции антител могут, например, составлять по меньшей мере около 5% или по меньшей мере около 50% по массе от общего белка в данном образце. Понятно, что выделенный белок может составлять от 5% до 99,9% по массе от общего содержания белка в зависимости от обстоятельств. Полипептид можно получать в существенно большей концентрации посредством применения индуцибельного промотора или промотора высокой экспрессии так, чтобы он производился на повышенном концентрационном уровне. Данное определение включает получение конструкции антитела в широком ряде организмов и/или клеток-хозяев, которые известны в данной области техники. В предпочтительных вариантах реализации изобретения конструкцию антитела очищают (1) до степени, достаточной для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности, используя секвенатор с вращающимся стаканом, или (2) до гомогенности по ДСН-ПААГ в невосстановительных или восстановительных условиях с применением окрашивания голубым кумасси или, предпочтительно, серебром. При этом обычно конструкцию антитела получают с помощью по меньшей мере одного этапа очистки.

Термин "связывающий домен" в связи с настоящим изобретением характеризует домен, который (специфически) связывает/взаимодействует с/распознает данный эпитоп-мишень или данный участок-мишень на молекулах-мишенях (антигенах), в данном случае: PSMA и CD3 соответственно. Структура и функция первого связывающего домена (распознающего PSMA) и предпочтительно также структура и/или функция второго связывающего домена (распознающего CD3) основаны на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекулы иммуноглобулина, и/или получены из переменных доменов тяжелой цепи (VH) и/или переменных доменов легкой цепи (VL) антитела или его фрагмента. Предпочтительно первый связывающий домен характеризуется наличием трех CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 VL-области) и/или трех CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 VH-области). Второй связывающий домен предпочтительно также содержит минимальные струк-

турные требования антитела, которые обеспечивают связывание мишени. Более предпочтительно второй связывающий домен содержит по меньшей мере три CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 VL-области) и/или три CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 VH-области). Подразумевается, что первый и/или второй связывающий домен производят или получают методами фагового дисплея или скрининга библиотек, а не путем прививания последовательностей CDR из предсуществующего (моноклонального) антитела в каркас.

В соответствии с данным изобретением связывающие домены имеют форму одного или более полипептидов. Такие полипептиды могут содержать белковые части и небелковые части (например, химические линкеры или химические перекрестно-сшивающие агенты, такие как глутаральдегид). Белки (включая их фрагменты, предпочтительно биологически активные фрагменты, и пептиды, обычно имеющие менее 30 аминокислот) содержат две или более аминокислоты, соединенные друг с другом ковалентной пептидной связью (что приводит к получению цепи из аминокислот).

В контексте данного документа термин "полипептид" описывает группу молекул, которая обычно состоит из более чем 30 аминокислот. Полипептиды могут дополнительно образовывать мультимеры, такие как димеры, тримеры и высшие олигомеры, т.е. состоящие из более чем одной полипептидной молекулы. Полипептидные молекулы, образующие такие димеры, тримеры и т.д., могут быть идентичными или неидентичными. Соответствующие структуры высшего порядка таких мультимеров, соответственно, называются гомо- или гетеродимерами, гомо- или гетеротримерами и т.д. Примером гетеромультимера является молекула антитела, которая в своей природной форме состоит из двух идентичных легких полипептидных цепей и двух идентичных тяжелых полипептидных цепей. Термины "пептид", "полипептид" и "белок" также относятся к модифицированным естественным образом пептидам/полипептидам/белкам, в которых модификация обусловлена, например, посттрансляционными модификациями, такими как гликозилирование, ацетилирование, фосфорилирование и тому подобное. В контексте данного документа "пептид", "полипептид" или "белок" также могут быть химически модифицированными, например, пэгилрованными. Такие модификации хорошо известны в данной области техники и описаны ниже в данном документе.

Предпочтительно связывающий домен, который связывается с PSMA, и/или связывающий домен, который связывается с CD3ε, является/являются человеческими связывающими доменами. Антитела и конструкции антител, содержащие по меньшей мере один человеческий связывающий домен, позволяют избежать некоторых проблем, связанных с антителами или конструкциями антител, которые обладают нечеловеческими, например, принадлежащими грызуну (например, мыши, крысе, хомяку или кролику), вариabельными и/или константными областями. Присутствие таких белков из организма грызуна может приводить к быстрому выведению антител или конструкций антител или может приводить к генерации иммунного ответа против антитела или конструкции антитела у пациента. Чтобы избежать применения полученных от грызунов антител или конструкций антител, можно создавать человеческие или полностью человеческие антитела/конструкции антител путем внесения в организм грызуна функции человеческого антитела так, чтобы у грызуна вырабатывались полностью человеческие антитела.

Возможность клонировать и восстанавливать человеческие локусы размером порядка миллиона пар оснований в YAC и вносить их в мышиную зародышевую линию обеспечивает эффективный подход для изучения функциональных компонентов очень больших или грубо картированных локусов, а также для создания полезных моделей человеческих заболеваний. Кроме того применение такой технологии для замещения мышинных локусов их человеческими эквивалентами может обеспечить уникальную информацию об экспрессии и регулировании человеческих генных продуктов во время развития, их взаимодействии с другими системами и их роли в индукции и прогрессировании заболеваний.

Важным практическим применением такой стратегии является "гуманизация" мышинной гуморальной иммунной системы. Внесение локусов человеческого иммуноглобулина (Ig) в организм мышей, у которых были инактивированы эндогенные гены Ig, обеспечивает возможность для изучения механизмов, лежащих в основе программируемой экспрессии и сборки антител, а также их роли в развитии В-клеток. Кроме того, такая стратегия может обеспечить идеальный источник для получения полностью человеческих моноклональных антител (mAb)-ключевой точки в направлении выполнения обещания создания терапии на основе антител для человеческих заболеваний. Ожидается, что полностью человеческие антитела или конструкции антител сведут к минимуму иммуногенные и аллергические ответы, свойственные мышинным или полученным от мышей mAb, и, следовательно, повысят эффективность и безопасность вводимых антител/конструкций антител. Можно ожидать, что применение полностью человеческих антител или конструкций антител обеспечит существенное преимущество в лечении хронических и рецидивных человеческих заболеваний, таких как воспаление, аутоиммунность и рак, при которых требуются повторные введения соединений.

Один подход в направлении этой цели состоял в конструировании мышинных штаммов с дефицитом выработки мышинных антител с большими фрагментами локусов человеческого Ig в ожидании, что такие мыши будут вырабатывать широкий репертуар человеческих антител в отсутствие мышинных антител. Большие фрагменты человеческого Ig должны сохранять широкое разнообразие вариabельных генов, а также надлежащее регулирование выработки и экспрессии антитела. При применении мышинного аппара-

та для расширения разнообразия и отбора антител и отсутствии иммунологической толерантности к человеческим белкам, воспроизведенный репертуар человеческих антител в этих мышинных штаммах должен привести к получению высокоаффинных антител против представляющего интерес антигена, включая человеческие антигены. Используя технологию гибридомы, можно легко получать и проводить отбор антиген-специфических человеческих mAb с необходимой специфичностью. Эта общая стратегия была продемонстрирована в связи с созданием первых мышинных штаммов XenoMouse (см. Green et al. *Nature Genetics* 7:13-21 (1994)). Были сконструированы штаммы XenoMouse с дрожжевыми искусственными хромосомами (YAC), содержащими фрагменты размером 245 т. п. о. и 190 т. п. о. конфигурации зародышевой линии человеческого локуса тяжелой цепи и локуса каппа легкой цепи соответственно, которые содержали внутренние последовательности варибельной и константной области. Содержащие человеческий Ig YAC, оказались совместимыми с мышинной системой в отношении как перестройки, так и экспрессии антител, и были способны замещать инактивированные гены мышинного Ig. Это было продемонстрировано их способностью индуцировать развитие В-клеток, вырабатывать человеческий репертуар взрослого типа полностью человеческих антител и генерировать антиген-специфические человеческие mAb. Эти результаты также позволяют предположить, что внесение больших частей локусов человеческого Ig, содержащих большее количество V-генов, дополнительных регуляторных элементов и константных областей человеческого Ig, может воспроизводить по существу полный репертуар, характерный для человеческого гуморального ответа на инфекцию и иммунизацию. Работа Green et al. Была недавно расширена до внесения более чем приблизительно 80% человеческого репертуара антител путем внесения фрагментов YAC размером порядка миллиона пар оснований конфигурации зародышевой линии человеческого локуса тяжелой цепи и локуса каппа легкой цепи соответственно. См. Mendez et al. *Nature Genetics* 15:146-156 (1997) и заявку на патент США, серийный № 08/759620.

Получение мышей XenoMouse дополнительно обсуждается и описывается в заявках на патент США, серийный № 07/466008, серийный № 07/610515, серийный № 07/919297, серийный № 07/922649, серийный № 08/031801, серийный № 08/112848, серийный № 08/234145, серийный № 08/376279, серийный № 08/430938, серийный № 08/464584, серийный № 08/464582, серийный № 08/463191, серийный № 08/462837, серийный № 08/486853, серийный № 08/486857, серийный № 08/486859, серийный № 08/462513, серийный № 08/724752, и серийный № 08/759620; и патентах США № 6162963; 6150584; 6114598; 6075181 и 5,939598, и патентах Японии № 3068180 B2, 3068506 B2 и 3068507 B2. Смотрите также Mendez et al. *Nature Genetics* 15:146-156 (1997) и Green and Jakobovits J. *Exp. Med.* 188:483-495 (1998), EP 0463151 B1, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310 и WO 03/47336.

В альтернативном подходе другие, включая GenPharm International, Inc., использовали подход "минилокуса". В подходе минилокуса локус экзогенного Ig имитируют путем включения кусочков (отдельных генов) из локуса Ig. Таким образом, один или более генов VH, один или более генов DH, один или более генов JH, мю константная область и вторая константная область (предпочтительно гамма константная область) образуют конструкцию для вставки в организм животного. Этот подход описан в патенте США № 5545807 авторства Surani et al. и патентах США № 5545806; 5625825; 5625126; 5633425; 5661016; 5770429; 5789650; 5814318; 5877397; 5874299; и 6255458, каждый авторства Lonberg и Kay, патентах США № 5591669 и 6023010 авторства Krimpenfort и Berns, патентах США № 5612205; 5721367; и 5789215 авторства Berns et al., и патенте США № 5643763 авторства Choi и Dunn, и заявке на патент США от GenPharm International, серийный № 07/574748, серийный № 07/575962, серийный № 07/810279, серийный № 07/853408, серийный № 07/904068, серийный № 07/990860, серийный № 08/053131, серийный № 08/096762, серийный № 08/155301, серийный № 08/161739, серийный № 08/165699, серийный № 08/209741. Также смотрите EP 0546073 B1, WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852 и WO 98/24884 и патент США № 5981175. Смотрите также Taylor et al. (1992), Chen et al. (1993), Tuailon et al. (1993), Choi et al. (1993), Lonberg et al. (1994), Taylor et al. (1994) и Tuailon et al. (1995), Fishwild et al. (1996).

Kirip также продемонстрировал создание человеческих антител с применением мышей, которым были внесены большие куски хромосом или целые хромосомы посредством микроклеточной инфузии. Смотрите заявки на Европейский патент № 773288 и 843961. Xenex Biosciences разрабатывают технологию для потенциального создания человеческих антител. В этой технологии мышей ТКИД восстанавливают с помощью человеческих лимфатических клеток, например, В- и/или Т-клеток. Затем мышей иммунизируют антигеном и они могут генерировать иммунный ответ против этого антигена. Смотрите патенты США № 5476996; 5698767 и 5958765.

Ответы человеческого антимышиного антитела (НАМА) привели данную отрасль к созданию химерных или иным образом гуманизированных антител. При этом ожидается, что будут наблюдаться ответы некоторых человеческих анти-химерных антител (НАСА), в частности, при постоянном или многодозовом применении антитела. Таким образом, было бы желательно предоставить конструкции антител, содержащие человеческий связывающий домен против PSMA и человеческий связывающий домен против CD3ε, чтобы опровергнуть сомнения относительно и/или результаты ответов НАМА или НАСА.

Термины "(специфически) связывается с", "(специфически) распознает", "(специфически) направлен на" и "(специфически) реагирует с" означают в соответствии с этим изобретением, что связывающий

домен взаимодействует или специфически взаимодействует с данным эпитопом или данным участком-мишенью на молекулах-мишенях (антигенах), в данном случае: PSMA и CD3ε соответственно.

Термин "эпитоп" относится к участку на антигене, с которым специфически связывается связывающий домен, такой как антитело или иммуноглобулин, или производное, фрагмент или вариант антитела или иммуноглобулина. "Эпитоп" является антигенным и, следовательно, в данном документе термин эпитоп иногда называется "антигенной структурой" или "антигенной детерминантой". Таким образом, связывающий домен является "участком взаимодействия с антигеном". Также подразумевается, что указанное связывание/взаимодействие определяет "специфическое распознавание".

"Эпитопы" могут быть образованы как смежными аминокислотами, так и не смежными аминокислотами, расположенными рядом в результате сворачивания белка в третичную структуру. "Линейный эпитоп" представляет собой эпитоп, в котором первичная аминокислотная последовательность содержит распознаваемый эпитоп. Линейный эпитоп, как правило, содержит по меньшей мере 3 или по меньшей мере 4, и чаще по меньшей мере 5 или по меньшей мере 6, или по меньшей мере 7, например, от около 8 до около 10 аминокислот в уникальной последовательности.

"Конформационный эпитоп", в противоположность линейному эпитопу, представляет собой эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот, составляющих эпитоп, не является единственным определяющим компонентом распознаваемого эпитопа (например, эпитоп, в котором первичная последовательность аминокислот не обязательно распознается связывающим доменом). Как правило, конформационный эпитоп содержит большее количество аминокислот по сравнению с линейным эпитопом. В отношении распознавания конформационных эпитопов связывающий домен распознает трехмерную структуру антигена, предпочтительно пептид или белок или его фрагмент (в контексте данного изобретения антигенная структура для одного из связывающих доменов содержится в рамках целевого белка антигена клеточной поверхности). Например, когда молекула белка сворачивается с образованием трехмерной структуры, определенные аминокислоты и/или полипептидный скелет, образующие конформационный эпитоп, оказываются расположены рядом, что делает возможным распознавание эпитопа антителом. Способы определения конформации эпитопов включают, но не ограничиваются этим, рентгеноструктурную кристаллографию, спектроскопию на основе двухмерного ядерного магнитного резонанса (2D-ЯМР) и спектроскопию на основе сайт-направленных спиновых меток и электронного парамагнитного резонанса (ЭПР).

Способ картирования эпитопов описан следующим образом: Когда область (непрерывный участок аминокислот) в человеческом белке PSMA заменяют/замещают соответствующей областью PSMA, не принадлежащего человеку и примату (например, мышино PSMA, хотя допускаются также и другие, такие как куриные, крысиные, хомячьи, кроличьи и т.д.), ожидается, что произойдет снижение в связывании связывающего домена, если связывающий домен не является перекрестно реагирующим в отношении применяемого PSMA, не принадлежащего человеку и примату. Указанное снижение предпочтительно составляет по меньшей мере 10%, 20%, 30%, 40% или 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60%, 70% или 80%, и наиболее предпочтительно 90%, 95% или даже 100% по сравнению со связыванием с соответствующей областью в человеческом белке PSMA, причем связывание с соответствующей областью в человеческом белке PSMA устанавливается как 100%. Подразумевается, что вышеуказанные химерные структуры человеческий PSMA/нечеловеческий PSMA экспрессируются в клетках CHO. Также подразумевается, что химерные структуры человеческий PSMA/нечеловеческий PSMA слиты с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом отличного мембраносвязанного белка, такого как ErCAM.

В альтернативном или дополнительном способе картирования эпитопов можно создавать несколько усеченных версий внеклеточного домена человеческого PSMA, чтобы определить конкретную область, которая распознается связывающим доменом. В этих усеченных версиях поэтапно удаляют разные внеклеточные домены/субдомены или области PSMA, начиная с N-конца. Подразумевается, что усеченные версии PSMA можно экспрессировать в клетках CHO. Также подразумевается, что усеченные версии PSMA можно сливать с трансмембранным доменом и/или цитоплазматическим доменом отличного мембраносвязанного белка, такого как ErCAM. Также подразумевается, что усеченные версии PSMA могут включать домен сигнального пептида в N-конце, например, сигнальный пептид, полученный из сигнального пептида тяжелой цепи мышино IgG. Дополнительно подразумевается, что усеченные версии PSMA могут включать домен v5 в N-конце (после сигнального пептида), который позволяет подтвердить их правильную экспрессию на клеточной поверхности. Ожидается, что снижение или прекращение связывания будет наблюдаться для тех усеченных версий PSMA, которые больше не включают область PSMA, распознаваемую связывающим доменом. Снижение связывания предпочтительно составляет по меньшей мере 10, 20, 30, 40, 50%; более предпочтительно по меньшей мере 60, 70, 80%, и наиболее предпочтительно 90, 95 или даже 100%, причем связывание с полным человеческим белком PSMA (или его внеклеточной областью или доменом) устанавливается как 100.

Дополнительным способом определения вклада конкретного остатка PSMA в распознавание конструирующей антитела или связывающим доменом является аланин-сканирующий мутагенез (См., например, Morrison KL & Weiss GA. *Curr Opin Chem Biol.* 2001 Jun;5(3):302-7), в котором каждый предназначенный

для анализа остаток замещают аланином, например, посредством сайт-направленного мутагенеза. Аланин используют из-за его необъемной, химически инертной, метильной функциональной группы, которая при этом имитирует вторичную структуру, которой обладают многие другие аминокислоты. Иногда можно использовать объемные аминокислоты, такие как валин или изолейцин, в случаях, когда необходимо сохранение размера мутированного остатка. Аланиновое сканирование является проверенной технологией, которую используют уже долгое время.

Взаимодействие между связывающим доменом и эпитопом или областью, содержащей эпитоп, означает, что связывающий домен демонстрирует приемлемую аффинность в отношении эпитопа/области, содержащей эпитоп, в конкретном белке или антигене (в данном случае: PSMA и CD3 соответственно) и, в целом, не демонстрирует существенной реактивности с белками или антигенами, отличными от PSMA или CD3. "Приемлемая аффинность" включает связывание с аффинностью около 10^{-6} М (КД) или выше. Предпочтительно связывание считается специфическим, когда аффинность связывания составляет от около 10^{-12} до 10^{-8} М, от 10^{-12} до 10^{-9} М, от 10^{-12} до 10^{-10} М, от 10^{-11} до 10^{-8} М, предпочтительно от около 10^{-11} до 10^{-9} М. Вступает ли специфически связывающий домен в реакцию или связывается ли с мишенью, можно легко проверить, помимо прочего, сравнивая реакцию указанного связывающего домена с целевым белком или антигеном с реакцией указанного связывающего домена с белками или антигенами, отличными от PSMA или CD3. Предпочтительно связывающий домен согласно изобретению практически или по существу не связывается с белками или антигенами, отличными от PSMA или CD3 (т.е. первый связывающий домен не способен связываться с белками, отличными от PSMA, а второй связывающий домен не способен связываться с белками, отличными от CD3). Подразумеваемой характеристикой конструкций антител в соответствии с данным изобретением является то, что они имеют превосходящие характеристики аффинности по сравнению с другими HLE-форматами. Следовательно, такая превосходящая аффинность предполагает продленное время полужизни *in vivo*. Большее время полужизни конструкций антител в соответствии с данным изобретением может снизить длительность и частоту введения, что, как правило, влияет на улучшение соблюдения пациентом режима лечения. Это является исключительно важным, так как конструкции антител согласно данному изобретению являются исключительно полезными для сильно ослабленных или даже полиморбидных раковых пациентов.

Термин "практически/по существу не связывает" или "не способен связываться" означает, что связывающий домен согласно данному изобретению не связывает белок или антиген, отличный от PSMA или CD3, т.е. не демонстрирует реактивность более 30%, предпочтительно не более 20%, предпочтительнее не более 10%, в частности, предпочтительно не более 9, 8, 7, 6 или 5% с белками или антигенами, отличными от PSMA или CD3, причем связывание с PSMA или CD3 соответственно установлено как 100%.

Считается, что на специфическое связывание влияют конкретные мотивы в аминокислотной последовательности связывающего домена и антигена. Таким образом, связывание достигается в результате их первичной, вторичной и/или третичной структуры, а также в результате вторичных модификаций указанных структур. Специфическое взаимодействие участка взаимодействия с антигеном с его специфическим антигеном может приводить к простому связыванию указанного участка с антигеном. Более того, специфическое взаимодействие участка взаимодействия с антигеном с его специфическим антигеном может в альтернативном или дополнительном варианте приводить к инициации сигнала, например, вследствие индукции изменения конформации антигена, олигомеризации антигена и т.д.

Термин "вариабельный" относится к частям доменов антитела или иммуноглобулина, которые демонстрируют вариабельность в последовательности и которые вовлечены в определение специфичности и аффинности связывания конкретного антитела (т.е. "вариабельный (е) домен (ы)"). Спаривание вместе вариабельной тяжелой цепи (VH) и вариабельной легкой цепи (VL) приводит к образованию одного антигенсвязывающего участка.

Вариабельность неравномерно распределена между вариабельными доменами антител; она сконцентрирована в субдоменах каждой из вариабельных областей тяжелой и легкой цепи. Эти субдомены называются "гипервариабельными областями" или "определяющими комплементарность областями" (CDR). Более консервативные (т.е. не гипервариабельные) части вариабельных доменов называются "каркасными" областями (FRM или FR) и обеспечивают каркас для шести CDR в трехмерном пространстве с образованием антигенсвязывающей поверхности. Каждый из вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей природного происхождения содержит четыре FRM-области (FR1, FR2, FR3 и FR4), принимающие большей частью β -складчатую конфигурацию, соединенные тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли, соединяющие, и в некоторых случаях образующие часть β -складчатой структуры. Гипервариабельные области в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости FRM и вместе с гипервариабельными областями из другой цепи вносят свой вклад в образование антигенсвязывающего участка (см. Kabat et al., loc. cit.).

Термины "CDR" и множественная форма "CDR" относятся к определяющим комплементарность областям, из которых три обуславливают характер связывания вариабельной области легкой цепи (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) и три обуславливают характер связывания вариабельной области тяжелой цепи

(CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3). CDR содержат большинство остатков, отвечающих за специфическое взаимодействие антитела с антигеном и, следовательно, вносят свой вклад в функциональную активность молекулы антитела: они являются основными детерминантами специфичности к антигену.

Точное определение границ и размеров CDR является предметом разных классификаций и систем нумерации. Следовательно, CDR могут быть обозначены в соответствии с определениями Kabat, Chothia, контактными или любыми другими определениями границ, включая описанную в данном документе систему нумерации. Несмотря на отличающиеся границы каждая из этих систем имеет некоторую степень перекрытия в том, что составляет так называемые "гипервариабельные области" в пределах вариабельных последовательностей. Следовательно, определения CDR в соответствии с этими системами могут отличаться по длине и граничным участкам по отношению к прилегающей каркасной области. См., например, Kabat (подход на основании межвидовой вариабельности последовательностей), Chothia (подход на основании кристаллографических исследований комплексов антиген-антитело), и/или MacCallum (Kabat et al., loc. cit.; Chothia et al., J. Mol. Biol., 1987, 196: 901-917; и MacCallum et al., J. Mol. Biol., 1996, 262: 732). Еще одним стандартом для характеристики антигенсвязывающего участка является определение AbM, применяемое в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. См., например, Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. В: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). В случае если две методики идентификации остатков определяют остатки перекрывающихся, но не идентичных областей, их можно комбинировать для определения гибридной CDR. При этом предпочтительной является нумерация в соответствии с так называемой системой Kabat.

Как правило, CDR образуют петлевую структуру, которая может быть классифицирована как каноническая структура. Термин "каноническая структура" относится к основной конформации цепи, которую принимают антигенсвязывающие (CDR) петли. По результатам сравнительных структурных исследований было обнаружено, что пять из шести антигенсвязывающих петель имеют только ограниченный набор доступных конформаций. Каждую каноническую структуру можно охарактеризовать по углу кручения полипептидного скелета. Следовательно, соответствующие петли среди антител могут иметь очень сходные трехмерные структуры, несмотря на высокую аминокислотную вариабельность в большинстве частей петель (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia et al., Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800). Кроме того, существует взаимосвязь между принимаемой петлей структурой и окружающими ее аминокислотными последовательностями. Конформация конкретного канонического класса определяется длиной петли и аминокислотными остатками, находящимися в ключевых позициях в пределах петель, а также в пределах консервативной каркасной области (т.е. за пределами петель). Отнесение к конкретному каноническому классу, следовательно, можно проводить на основании присутствия этих ключевых аминокислотных остатков.

Термин "каноническая структура" также может включать факторы, связанные с линейной последовательностью антитела, например, каталогизированные Kabat (Kabat et al., loc. cit.). Схема (система) нумерации Kabat является широко распространенным стандартом нумерации аминокислотных остатков вариабельного домена антитела последовательным образом и является предпочтительной схемой, применяемой в данном изобретении, что также упоминается в другом месте данного документа. Для определения канонической структуры антитела также можно использовать дополнительные структурные факторы. Например, те отличия, которые не полностью отображены в нумерации Kabat, можно описать с помощью системы нумерации Chothia et al. и/или выявить с помощью других методик, например, кристаллографии и двух- или трехмерного компьютерного моделирования. Соответственно, заданную последовательность антитела можно отнести к каноническому классу, что позволяет, помимо прочего, идентифицировать соответствующие шасси-последовательности (например, на основании необходимости включать разнообразные канонические структуры в библиотеку). Нумерация аминокислотных последовательностей антител по Kabat и структурные факторы, описанные Chothia et al., loc. cit., и их значения для конструирования канонических аспектов структуры антитела описаны в литературе. Субъединичные структуры и трехмерные конфигурации разных классов иммуноглобулинов хорошо известны в данной области техники. Обзор структуры антител можно посмотреть в *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988.

CDR3 легкой цепи и в особенности CDR3 тяжелой цепи могут составлять наиболее важные детерминанты в связывании антигена в пределах вариабельных областей легкой и тяжелой цепи. В некоторых конструкциях антител CDR3 тяжелой цепи составляет основную площадь контакта между антигеном и антителом. *In vitro* схемы отбора, в которых варьируется только CDR3, можно использовать, чтобы варьировать связывающие свойства антитела или чтобы определить, какие остатки вносят вклад в связывание антигена. Следовательно, CDR3, как правило, является наибольшим источником молекулярного разнообразия в пределах связывающего участка антитела. Например, H3 может иметь длину всего в два аминокислотных остатка или более 26 аминокислот.

В классическом полноразмерном иммуноглобулине каждая легкая (L) цепь связана с тяжелой (H) одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две H-цепи связаны друг с другом одной или более дисульфидными связями в зависимости от изотипа H-цепи. Домен CH, расположенный наиболее близко

к VH, обычно обозначается как CH1. Константные ("С") домены непосредственно не вовлечены в связывание антигена, но проявляют различные эффекторные функции, такие как антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность и активация комплемента. Fc-область антитела находится в пределах константных доменов тяжелой цепи и, например, способна взаимодействовать с расположенными на клеточной поверхности Fc-рецепторами.

Последовательность генов антитела после сборки и соматической мутации сильно варьируется и по оценкам эти варьированные гены кодируют 10^{10} разных молекул антител (Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995). Соответственно, иммунная система обеспечивает некоторый репертуар иммуноглобулинов. Термин "репертуар" относится к по меньшей мере одной нуклеотидной последовательности, целиком или частично полученной из по меньшей мере одной последовательности, кодирующей по меньшей мере один иммуноглобулин. Последовательность (и) можно получать путем перестройки *in vivo* V, D и J сегментов тяжелых цепей и V и J сегментов легких цепей. В альтернативном варианте последовательность (и) можно получать из клетки в ответ на которую происходит перестройка, например, *in vitro* стимуляция. В альтернативном варианте часть или всю (все) последовательность (и) можно получать посредством сплайсинга ДНК, синтеза нуклеотидов, мутагенеза и других способов, смотрите, например, патент США 5565332. Репертуар может включать только одну последовательность или может включать множество последовательностей, включая находящиеся в генетически разнообразной коллекции.

В связи с этим изобретением термин "Fc-часть" или "Fc-мономер" означает полипептид, содержащий по меньшей мере один домен, имеющий функцию домена CH2, и по меньшей мере один домен, имеющий функцию домена CH3 молекулы иммуноглобулина. Как очевидно из термина "Fc-мономер", полипептид, содержащий эти домены CH, является "полипептидным мономером". Fc-мономер может представлять собой полипептид, содержащий по меньшей мере фрагмент константной области иммуноглобулина за исключением первого домена константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (CH1), но сохраняющий по меньшей мере функциональную часть одного домена CH2 и функциональную часть одного домена CH3, причем домен CH2 является аминоконцевым по отношению к домену CH3. В предпочтительном аспекте этого определения Fc-мономер может представлять собой полипептидную константную область, содержащую часть шарнирной области Ig-Fc, область CH2 и область CH3, причем шарнирная область является аминоконцевой по отношению к домену CH2. Подразумевается, что шарнирная область согласно данному изобретению стимулирует димеризацию. Такие молекулы Fc-полипептидов можно получать, например и без ограничения, путем расщепления папаином области иммуноглобулина (конечно, приводящего к получению димера из двух Fc-полипептидов). В другом аспекте этого определения Fc-мономер может представлять собой полипептидную область, содержащую часть области CH2 и области CH3. Такие молекулы Fc-полипептидов можно получать, например и без ограничения, путем расщепления пепсином молекулы иммуноглобулина. В одном варианте реализации изобретения полипептидная последовательность Fc-мономера по существу аналогична последовательности Fc-полипептида: Fc-области IgG₁, Fc-области IgG₂, Fc-области IgG₃, Fc-области IgG₄, Fc-области IgM, Fc-области IgA, Fc-области IgD и Fc-области IgE. (См., например, Padlan, Molecular Immunology, 31(3), 169-217 (1993)). Вследствие наличия некоторой вариации между иммуноглобулинами и исключительно для ясности Fc-мономер относится к последним двум доменам константной области тяжелой цепи иммуноглобулина IgA, IgD и IgG и последним трем доменам константной области тяжелой цепи иммуноглобулина IgE и IgM. Как упоминалось, Fc-мономер также может содержать гибкую шарнирную область, расположенную N-терминально к этим доменам. В случае IgA и IgM Fc-мономер может содержать J-цепь. В случае IgG Fc-часть содержит домены иммуноглобулина CH2 и CH3 и шарнирную область между первыми двумя доменами и CH2. Хотя границы Fc-части могут варьироваться, пример Fc-части тяжелой цепи человеческого IgG, содержащей функциональную шарнирную область, домен CH2 и CH3, может, например, по определению содержать остатки от D231 (шарнирного домена - соответствующего D234 в табл. 1, ниже) до P476, соответственно L476 (в случае IgG₄) карбокси-конца домена CH3, где нумерация приведена в соответствии с Kabat. Две Fc-части или два Fc-мономера, слитые друг с другом посредством пептидного линкера, определяют третий домен конструкции антитела согласно изобретению, который также может быть определен как домен scFc.

В одном варианте реализации изобретения подразумевается, что описанный в данном документе домен scFc, соответственно Fc-мономеры, слитые друг с другом, находятся только в третьем домене конструкции антитела.

В соответствии с данным изобретением шарнирную область IgG можно определить по аналогии, используя нумерацию Kabat, как показано в табл. 1. Наряду с вышесказанным под минимальным требованием подразумевается, что шарнирный домен/шарнирная область согласно данному изобретению содержит аминокислотные остатки, соответствующие участку последовательности IgG1 от D231 D234 до P243 в соответствии с нумерацией Kabat. Аналогично, подразумевается, что шарнирный домен/шарнирная область согласно данному изобретению содержит или состоит из шарнирной последовательности IgG1 DRTHCPCP (SEQ ID NO: 477) (соответствующей участку от D234 до P243, как показано в табл. 1, ниже, также подразумеваются вариации указанной последовательности, при условии, что

шарнирная область продолжает стимулировать димеризацию). В предпочтительном варианте реализации изобретения участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat доменов CH2 в третьем домене конструкции антитела удален посредством замены N314X, где X представляет собой любую аминокислоту за исключением Q. Указанная замена предпочтительно представляет собой замену N314G. В более предпочтительном варианте реализации изобретения указанный домен CH2 дополнительно содержит следующие замены (позиции в соответствии с Kabat): V321C и R309C (эти замены вносят внутримолекулярный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях 309 и 321 по Kabat).

Также подразумевается, что третий домен конструкции антитела согласно изобретению содержит или состоит из, в порядке от amino-конца к карбокси-концу: DRTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (т.е. шарнирная область) -CH2-CH3-линкер- DRTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (т.е. шарнирная область) -CH2-CH3. Пептидный линкер в вышеуказанной конструкции антитела в предпочтительном варианте реализации характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly4Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т.е. (Gly4Ser)_x, где x представляет собой целое число, равное 5 или более (например, 5, 6, 7, 8 и т.д. или более), причем предпочтительным вариантом является 6 ((Gly4Ser)₆). Указанная конструкция может дополнительно содержать вышеуказанные замены N314X, предпочтительно N314G, и/или дополнительные замены V321C и R309C. В предпочтительном варианте реализации конструкций антител согласно изобретению, определенных ранее, подразумевается, что второй домен связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и/или Macasa.

Таблица 1

Нумерация аминокислотных остатков шарнирной области по Kabat

Нумерация IMGT для шарнирной области	Аминокислотная трансляция IgG ₁	Нумерация Kabat
1	(E)	226
2	F	227
3	K	228
4	S	232
5	C	233
6	D	234
7	K	235
8	T	236
9	H	237
10	T	238
11	C	239
12	F	240
13	F	241
14	C	242
15	F	243

В дополнительных вариантах реализации данного изобретения шарнирный домен/шарнирная область содержит или состоит из шарнирной последовательности подтипа IgG2 ERKCCVECPSP (SEQ ID NO: 478), последовательности подтипа IgG3 ELKTPDTHHTCPSP (SEQ ID NO: 479) или ELKTPDTHHTCPSP (SEQ ID NO: 486) и/или последовательности подтипа IgG4 ESKYGPPCPSP (SEQ ID NO: 480). Шарнирная последовательность подтипа IgG1 может быть следующей: EPKSCDKTHHTCPSP (как показано в табл. 1 и SEQ ID NO: 487). Таким образом, эти основные шарнирные области также подразумеваются в контексте данного изобретения.

Положение и последовательность домена CH2 IgG и домена CH3 IgG можно определить по аналогии, используя нумерацию Kabat, как показано в табл. 2.

Таблица 2

Нумерация аминокислотных остатков области CH2 и CH3 IgG по Kabat

Подтип IgG	ак трансляция CH2	Нумерация CH2 по Kabat	ак трансляция CH3	Нумерация CH3 по Kabat
IgG ₁	ARE... ..KAK	244... ..360	GQP.....PGK	361... ..478
IgG ₂	ARP... ..KTK	244... ..360	GQP.....PGK	361... ..478
IgG ₃	ARE... ..KTK	244... ..360	GQP.....PGK	361... ..478
IgG ₄	ARE... ..KAK	244... ..360	GQP.....LGK	361... ..478

В одном варианте реализации изобретения выделенные жирным аминокислотные остатки в домене CH3 первого или обоих Fc-мономеров удалены.

Пептидный линкер, посредством которого полипептидные мономеры ("Fc-часть" или "Fc-мономер") третьего домена слиты друг с другом, предпочтительно содержит по меньшей мере 25 аминокислотных остатков (25, 26, 27, 28, 29, 30 и т.д.). Более предпочтительно этот пептидный линкер содержит по меньшей мере 30 аминокислотных остатков (30, 31, 32, 33, 34, 35 и т.д.). Также предпочтительно, чтобы линкер содержал до 40 аминокислотных остатков, более предпочтительно до 35 аминокислотных остатков, наиболее предпочтительно точно 30 аминокислотных остатков. В предпочтительном варианте реализации такой пептидный линкер характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число, равное 5 или более (например, 6, 7 или 8). Предпочтительно целое число равно 6 или 7, более предпочтительно целое число равно 6.

В случае, если линкер используется для слияния первого домена со вторым доменом или первого или второго домена с третьим доменом, этот линкер предпочтительно имеет длину и последовательность, достаточную, чтобы гарантировать, что каждый из первого и второго доменов может независимо от другого сохранять свою специфичность дифференциального связывания. В случае пептидных линкеров, которые соединяют по меньшей мере два связывающих домена (или два переменных домена) в конструкции антитела согласно изобретению, предпочтительными являются пептидные линкеры, которые содержат всего несколько аминокислотных остатков, например, 12 аминокислотных остатков. Таким образом, предпочтительными являются пептидные линкеры из 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 или 5 аминокислотных остатков. Подразумеваемый пептидный линкер с менее чем 5 аминокислотами содержит 4, 3, 2 или одну аминокислоту, причем предпочтительными являются Gly-богатые линкеры. Предпочтительный вариант реализации пептидного линкера для слияния первого и второго домена приведен в SEQ ID NO: 1. Предпочтительный вариант реализации пептидного линкера для слияния второго и третьего домена представляет собой (Gly)₄-линкер, также называемый G₄-линкером.

В особенности предпочтительной "единственной" аминокислотой в контексте вышеописанного "пептидного линкера" является Gly. Соответственно, указанный пептидный линкер может состоять из единственной аминокислоты Gly. В предпочтительном варианте реализации изобретения пептидный линкер характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число, равное 1 или более (например, 2 или 3). Предпочтительные линкеры приведены в SEQ ID NO: от 1 до 12. Характеристики указанного пептидного линкера, которые включают отсутствие стимуляции образования вторичных структур, известны в данной области техники и описаны, например, в Dall'Acqua et al. (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle et al. (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) и Raag and Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80). Предпочтительными являются пептидные линкеры, которые, помимо прочего, не стимулируют образование каких-либо вторичных структур. Связь указанных доменов друг с другом можно обеспечить, например, посредством генетической инженерии, как описано в примерах. Способы получения слитых и функционально связанных биспецифических одноцепочечных конструкций и их экспрессии в клетках млекопитающих или бактериях хорошо известны в данной области техники (например, WO 99/54440 или Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001).

В предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно данному изобретению первый и второй домен образуют конструкцию антитела в формате, выбранном из группы, состоящей из (scFv)₂, scFv-однодоменного mAb, диатела и олигомеров любого из этих форматов.

В соответствии с особенно предпочтительным вариантом реализации изобретения и как описано в прилагающихся примерах, первый и второй домены конструкции антитела согласно изобретению представляют собой "биспецифическую одноцепочечную конструкцию антитела", более предпочтительно биспецифический "одноцепочечный Fv" (scFv). Хотя два домена Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются отдельными генами, их можно соединить, используя рекомбинантные способы, синтетическим линкером, - как было ранее описано в данном документе - который обеспечивает возможность их получения в виде одной белковой цепи, в которой области VL и VH спарены с образованием моновалентной молекулы; смотрите, например, Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883). Эти фрагменты антител получают, используя традиционные методики, известные специалистам в данной области техники, и оценивают фрагменты в отношении функции таким же образом, что и полноразмерные антитела. Следовательно, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) представляет собой слитый белок переменной области тяжелой цепи (VH) и легкой цепи (VL) иммуноглобулинов, обычно соединенных коротким линкерным пептидом длиной от около десяти до около 25 аминокислот, предпочтительно от около 15 до 20 аминокислот. Обычно линкер насыщен глицином для гибкости, а также серином или треонином для растворимости и может соединять N-конец VH с C-концом VL, или наоборот. Этот белок сохраняет специфичность оригинального иммуноглобулина, несмотря на удаление константных областей и внесение линкера.

Биспецифические одноцепочечные конструкции антител известны в данной области техники и описаны в WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol.,

(2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Методики для получения одноцепочечных антител (См., помимо прочего, патент США 4946778, Kontermann and Dübel (2010), loc. cit. и Little (2009), loc. cit.) можно адаптировать для получения одноцепочечных конструкций антител, специфически распознающих выбранную (ые) мишень (и).

Бивалентные (также называемые дивалентными) или биспецифические одноцепочечные переменные фрагменты (bi-scFv или di-scFv, имеющие формат (scFv)₂ можно сконструировать путем связывания двух молекул scFv (например, линкерами, как было описано ранее). Если эти две молекулы scFv имеют одинаковую специфичность связывания, получаемая в результате молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться бивалентной (т.е. она имеет две валентности в отношении одного эпитопа-мишени). Если две молекулы scFv имеют разную специфичность связывания, получаемая в результате молекула (scFv)₂ предпочтительно будет называться биспецифической. Связывание можно осуществлять путем получения одной пептидной цепи с двумя областями VH и двумя областями VL, что приводит к получению тандемных scFv (См., например, Kufer P. et al., (2004) Trends in Biotechnology 22(5):238-244). Другой возможностью является создание молекул scFv с линкерными пептидами, которые являются слишком короткими для того, чтобы удерживать вместе две переменные области (например, около пяти аминокислот), что принуждает scFv к димеризации. Этот тип известен как диатела (См., например, Hollinger, Philipp et al., (July 1993) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90 (14): 6444-8).

В соответствии с этим изобретением любой из первого, второго или первый и второй домены могут составлять однодоменное антитело, соответственно переменный домен или по меньшей мере часть CDR однодоменного антитела. Однодоменные антитела содержат только один (мономерный) переменный домен антитела, который способен избирательно связываться с конкретным антигеном, независимо от других V-областей или доменов. Первые однодоменные антитела были сконструированы из содержащих только тяжелые цепи антител, обнаруживаемых у верблюжьих, и называются V_HH-фрагментами. Хрящевые рыбы также имеют содержащие только тяжелые цепи антитела (IgNAR), из которых можно получать однодоменные антитела, называемые V_{NAR}-фрагментами. Альтернативный подход состоит в разбитии димерных переменных доменов из обычных иммуноглобулинов, например, принадлежащих человеку или грызуну, на мономеры, получая, таким образом, VH или VL в виде однодоменного Ab. Хотя на данный момент большинство исследований относительно однодоменных антител базируются на переменных доменах тяжелой цепи, также было показано, что нанотела, полученные из легких цепей, специфически связываются с эпитопами-мишенями. Примеры однодоменных антител называются sdAb, нанотелами или антителами, содержащими один переменный домен.

Следовательно, однодоменное (mAb)₂ представляет собой моноклональную конструкцию антитела, состоящую из (по меньшей мере) двух однодоменных моноклональных антител, которые по отдельности выбраны из группы, включающей V_H, V_L, V_HH и V_{NAR}. Линкер предпочтительно имеет форму пептидного линкера. Аналогично, "scFv-однодоменное mAb" представляет собой моноклональную конструкцию антитела, состоящую из по меньшей мере одного описанного выше однодоменного антитела и одной описанной выше молекулы scFv. Снова, линкер предпочтительно имеет форму пептидного линкера.

Конкурирует ли конструкция антитела за связывание с другой заданной конструкцией антитела, можно определить в конкурентном анализе, таком как конкурентный ИФА или клеточный конкурентный анализ. Также можно использовать покрытые авидином микрочастицы (гранулы). Аналогично с покрытием авидином планшета ИФА, при проведении реакции с биотинилированным белком каждую из этих гранул можно использовать в качестве субстрата для проведения анализа. Антиген наносят на гранулу, а затем предварительно наносят первое антитело. Добавляют второе антитело и определяют наличие какого-либо дополнительного связывания. Возможные средства для регистрации данных включают проточную цитометрию.

Т-клетки или Т-лимфоциты являются типом лимфоцитов (которые сами по себе являются типом белых кровяных телец), который играет основную роль в клеточноопосредованном иммунитете. Существует несколько подгрупп Т-клеток, каждая из которых имеет отличную функцию. Т-клетки можно отличить от других лимфоцитов, таких как В-клетки и НК-клетки, по присутствию Т-клеточного рецептора (ТКР) на клеточной поверхности. ТКР отвечает за распознавание антигенов, связанных с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), и состоит из двух разных белковых цепей. В 95% Т-клеток ТКР состоит из альфа (α) и бета (β) цепи. Когда ТКР вступает в контакт с антигенным пептидом и ГКГС (комплексом пептид/ГКГС), происходит активация Т-лимфоцита посредством серии биохимических событий, опосредованных ассоциированными ферментами, ко-рецепторами, специализированными адапторными молекулами и активированными или высвобожденными транскрипционными факторами.

Комплекс CD3-рецептора представляет собой белковый комплекс и состоит из четырех цепей. У млекопитающих комплекс содержит CD3γ (гамма) цепь, CD3δ (дельта) цепь и две CD3ε (эпсилон) цепи. Эти цепи связываются с Т-клеточным рецептором (ТРК) и так называемой ζ, (дзета) цепью с образованием комплекса Т-клеточного рецептора и CD3 и генерацией сигнала активации в Т-лимфоцитах. Цепи CD3γ (гамма), CD3δ (дельта) и CD3ε (эпсилон) являются высокородственными белками клеточной поверхности суперсемейства иммуноглобулинов, содержащие один внеклеточный домен иммуноглобули-

на. Внутриклеточные хвосты молекул CD3 содержат один консервативный мотив, известный как иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив или, сокращенно, ITAM, который является важным для сигнальных возможностей TPK. Молекула CD3 эпсилон представляет собой полипептид, который у людей кодируется геном CD3E, который находится в хромосоме 11. Наиболее предпочтительный эпитоп CD3 эпсилон находится в пределах аминокислотных остатков 1-27 внеклеточного домена человеческого CD3 эпсилон. Подразумевается, что конструкции антител в соответствии с данным изобретением, как правило и преимущественно, меньше демонстрируют неспецифическую активацию T-клеток, которая является нежелательной в специфической иммунотерапии. Это приводит к снижению риска возникновения побочных явлений.

Перенаправленный лизис клеток-мишеней посредством привлечения T-клеток мультиспецифической, по меньшей мере биспецифической конструкцией антитела включает образование цитолитического синапса и доставку перфорина и гранзимов. Привлеченные T-клетки способны серийно осуществлять лизис клеток-мишеней и на них не влияют механизмы уклонения от иммунологического надзора, создающие помехи для процессинга и презентации пептидных антигенов или клональной дифференцировки T-клеток; смотрите, например, WO 2007/042261.

Цитотоксичность, опосредованную конструкциями антител согласно изобретению, можно определять различными путями. Эффекторными клетками могут представлять собой, например, обогащенные (человеческие) CD8-положительные T-клетки или нестимулированные (человеческие) мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК). Если клетки-мишени происходят от или экспрессируются у макаков или трансфицированы PSMA макака, который связывается первым доменом, эффекторные клетки также должны происходить от макака, например, линии T-клеток макака, например, 4119LnPx. Клетки-мишени должны экспрессировать (по меньшей мере внеклеточный домен) PSMA, например, PSMA человека или макака. Клетки-мишени могут представлять собой линию клеток (такую как CHO), стабильно или временно трансфицированную PSMA, например, PSMA человека или макака. Обычно ожидается, что значения EC₅₀ будут ниже в случае линий клеток-мишеней, экспрессирующих более высокие уровни PSMA на клеточной поверхности. Соотношение между эффекторными клетками и клетками-мишенями (Э:М) обычно составляет около 10:1, но также может варьироваться. Цитотоксическую активность биспецифических конструкций антител к PSMAxCD3 можно определить в анализе высвобождения ⁵¹Cr (время инкубации - около 18 часов) или в анализе цитотоксичности на основе FACS (время инкубации - около 48 часов). Также возможны модификации времени инкубации (цитотоксической реакции) в анализе. Другие способы определения цитотоксичности хорошо известны специалистам и включают МТТ- или МТС-анализ, методы анализа на основе АТФ, включая биолюминесцентный анализ, анализ с сульфородаминоном В (SRB), анализ WST, клоногенный анализ и технологию ECIS.

Цитотоксическую активность, опосредованную биспецифическими конструкциями антител к PSMAxCD3 согласно данному изобретению, предпочтительно определяют в клеточном анализе цитотоксичности. Ее также можно определять в анализе высвобождения ⁵¹Cr. Ее представляет значение EC₅₀, которое соответствует полумаксимальной эффективной концентрации (концентрации конструкции антитела, которая индуцирует цитотоксический ответ посередине между исходным и максимальным уровнем). Предпочтительно значение EC₅₀ биспецифических конструкций антител к PSMAxCD3 составляет ≤5000 пМ или ≤4000 пМ, более предпочтительно ≤3000 пМ или ≤2000 пМ, даже более предпочтительно ≤1000 пМ или ≤500 пМ, даже более предпочтительно ≤400 пМ или ≤300 пМ, даже более предпочтительно ≤200 пМ, даже более предпочтительно ≤100 пМ, даже более предпочтительно ≤50 пМ, даже более предпочтительно ≤20 пМ или ≤10 пМ и наиболее предпочтительно ≤5 пМ.

Вышеприведенные значения EC₅₀ можно определить в разных анализах. Специалисту известно, что можно ожидать, что значение EC₅₀ будет ниже, когда в качестве эффекторных клеток используют стимулированные/обогащенные T-клетки CD8⁺, по сравнению с нестимулированными МКПК. Кроме того, можно ожидать, что значения EC₅₀ будут ниже, когда клетки-мишени экспрессируют большое количество PSMA по сравнению с низким уровнем экспрессии мишеней. Например, когда в качестве эффекторных клеток используют стимулированные/обогащенные T-клетки CD8⁺ (и в качестве клеток-мишеней используют трансфицированные PSMA клетки, такие как клетки CHO, или PSMA-положительные человеческие клеточные линии), значение EC₅₀ биспецифической конструкции антитела к PSMAxCD3 предпочтительно составляет ≤1000 пМ, более предпочтительно ≤500 пМ, даже более предпочтительно ≤250 пМ, даже более предпочтительно ≤100 пМ, даже более предпочтительно ≤50 пМ, даже более предпочтительно ≤10 пМ и наиболее предпочтительно ≤5 пМ. Когда в качестве эффекторных клеток используют человеческие МКПК, значение EC₅₀ биспецифической конструкции антитела к PSMAxCD3 предпочтительно составляет ≤5000 пМ или ≤4000 пМ (в частности, когда клетками-мишенями являются PSMA-положительные человеческие клеточные линии), более предпочтительно ≤2000 пМ (в частности, когда клетками-мишенями являются трансфицированные PSMA клетки, такие как клетки CHO), более предпочтительно ≤1000 пМ или ≤500 пМ, даже более предпочтительно ≤200 пМ, даже более предпочтительно ≤150 пМ, даже более предпочтительно ≤100 пМ и наиболее предпочтительно ≤50 пМ или меньше. Когда в качестве эффекторных клеток используют линию T-клеток макака, такую как LnPx4119, а трансфици-

рованную PSMA макака линию клеток, таких как клетки CHO, используют в качестве линии клеток-мишеней, значение EC_{50} биспецифической конструкции антитела к PSMAxCD3 предпочтительно составляет ≤ 2000 пМ или ≤ 1500 пМ, более предпочтительно ≤ 1000 пМ или ≤ 500 пМ, даже более предпочтительно ≤ 300 пМ или ≤ 250 пМ, даже более предпочтительно ≤ 100 пМ и наиболее предпочтительно ≤ 50 пМ.

Предпочтительно биспецифические конструкции антител к PSMAxCD3 согласно данному изобретению не индуцируют/не опосредуют лизис или практически не индуцируют/не опосредуют лизис PSMA-отрицательных клеток, таких как клетки CHO. Термин "не индуцирует лизис", "практически не индуцирует лизис", "не опосредует лизис" или "практически не опосредует лизис" означает, что конструкция антитела согласно данному изобретению не индуцирует или не опосредует лизис более чем 30%, предпочтительно не более 20%, предпочтительнее не более 10%, в особенности предпочтительно не более 9%, 8%, 7%, 6% или 5% PSMA-отрицательных клеток, при этом лизис PSMA-положительной человеческой клеточной линии установлен как 100%. Это обычно соответствует концентрациям конструкции антитела до 500 нМ. Специалисту известно, как определить клеточный лизис без лишних усилий. Кроме того, в данном описании приведены конкретные инструкции для определения клеточного лизиса.

Разница между цитотоксической активностью мономерной и димерной изоформы отдельных биспецифических конструкций антител к PSMAxCD3 называется "разностью в активности". Эту разность в активности можно рассчитать, например, как отношение между значениями EC_{50} мономерной и димерной формы молекулы. Разность в активности биспецифических конструкций антител к PSMAxCD3 согласно данному изобретению предпочтительно составляет ≤ 5 , более предпочтительно ≤ 4 , даже более предпочтительно ≤ 3 , даже более предпочтительно ≤ 2 и наиболее предпочтительно ≤ 1 .

Первый и/или второй (или любой дополнительный) связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению предпочтительно отличается межвидовой специфичностью для представителей приматов из класса млекопитающих. Отличающиеся межвидовой специфичностью CD3-связывающие домены описаны, например, в WO 2008/119567. В соответствии с одним вариантом реализации изобретения первый и/или второй связывающий домен, помимо связывания с человеческим PSMA и человеческим CD3 соответственно, также связывается с PSMA/CD3 приматов, включая (но не ограничиваясь этим) приматов Нового Света (таких как *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*), приматов Старого Света (таких как бабуины и макаки), гиббонов и отличных от человека *homininae*.

В одном варианте реализации конструкции антитела в соответствии с изобретением первый домен связывается с PSMA человека и дополнительно связывается с PSMA макака, таким как PSMA *Macaques fascicularis*, и более предпочтительно с PSMA макака, экспрессируемым на поверхности клеток макака. Аффинность первого домена в отношении PSMA, предпочтительно в отношении PSMA человека, предпочтительно составляет ≤ 100 нМ или ≤ 50 нМ, более предпочтительно ≤ 25 нМ или ≤ 20 нМ, более предпочтительно ≤ 15 нМ или ≤ 10 нМ, даже более предпочтительно ≤ 5 нМ, даже более предпочтительно $\leq 2,5$ нМ или ≤ 2 нМ, даже более предпочтительно ≤ 1 нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,6$ нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,5$ нМ и наиболее предпочтительно $\leq 0,4$ нМ. Аффинность можно определить, например, в анализе *BIAcore* или в анализе Скэтчарда. Специалистам также хорошо известны другие способы определения аффинности. Аффинность первого домена в отношении PSMA макака предпочтительно составляет ≤ 15 нМ, более предпочтительно ≤ 10 нМ, даже более предпочтительно ≤ 5 нМ, даже более предпочтительно ≤ 1 нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,5$ нМ, даже более предпочтительно $\leq 0,1$ нМ и наиболее предпочтительно $\leq 0,05$ нМ или даже $\leq 0,01$ нМ.

Предпочтительно разность в аффинности конструкций антител в соответствии с изобретением в отношении связывания PSMA макака по сравнению с PSMA человека [*ma* PSMA: *hu* PSMA] (определяемая, например, в анализе *BIAcore* или анализе Скэтчарда) составляет < 100 , предпочтительно < 20 , более предпочтительно < 15 , предпочтительнее < 10 , даже более предпочтительно < 8 , более предпочтительно < 6 и наиболее предпочтительно < 2 . Предпочтительные диапазоны разности в аффинности конструкций антител в соответствии с изобретением в отношении связывания PSMA макака по сравнению с PSMA человека составляют от 0,1 до 20, более предпочтительно от 0,2 до 10, даже более предпочтительно от 0,3 до 6, даже более предпочтительно от 0,5 до 3 или от 0,5 до 2,5 и наиболее предпочтительно от 0,5 до 2 или от 0,6 до 2.

Второй домен конструкции антитела согласно изобретению связывается с CD3 эпсилон человека и/или CD3 эпсилон Макаса. В предпочтительном варианте реализации изобретения второй домен дополнительно связывается с CD3 эпсилон *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* или *Saimiri sciureus*. *Callithrix jacchus* и *Saguinus oedipus* являются приматами нового Света, принадлежащими к семейству *Callitrichidae*, тогда как *Saimiri sciureus* является приматом Нового Света, принадлежащим семейству *Cebidae*.

Для конструкции антитела согласно данному изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3 эпсилон человека и/или Макаса, содержал VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, выбранные из:

(a) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 27 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 28 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 29 в WO 2008/119567;

(b) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 117 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 118 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 119 в WO 2008/119567; и

(c) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 153 в WO 2008/119567, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 154 в WO 2008/119567, и CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 155 в WO 2008/119567.

В дополнительном предпочтительном варианте реализации конструкции антигена согласно данному изобретению второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3 эпсилон человека и/или Масаса, содержит VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из:

(a) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 12 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 13 в WO 2008/119567, и CDR-H3,

приведенной в SEQ ID NO: 14 в WO 2008/119567;

(b) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 30 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 31 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 32 в WO 2008/119567;

(c) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 48 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 49 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 50 в WO 2008/119567;

(d) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 66 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 67 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 68 в WO 2008/119567;

(e) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 84 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 85 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 86 в WO 2008/119567;

(f) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 102 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 103 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 104 в WO 2008/119567;

(g) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 120 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 121 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 122 в WO 2008/119567;

(h) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 138 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 139 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 140 в WO 2008/119567;

(i) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 156 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 157 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 158 в WO 2008/119567; и

(j) CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 174 в WO 2008/119567, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 175 в WO 2008/119567, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 176 в WO 2008/119567.

В предпочтительном варианте реализации конструкции антигена согласно изобретению описанные выше три группы VL CDR комбинируют с описанными выше десятью группами VH CDR в рамках второго связывающего домена для получения (30) групп, каждая из которых содержит CDR-L 1-3 и CDR-H 1-3.

Для конструкции антигена согласно данному изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал VL-область, выбранную из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID NO: 17, 21, 35, 39, 53, 57, 71, 75, 89, 93, 107, 111, 125, 129, 143, 147, 161, 165, 179 или 183 в WO 2008/119567, или приведенной в SEQ ID NO: 13.

Также предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал VH-область, выбранную из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID NO: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 или 181 в WO 2008/119567, или приведенной в SEQ ID NO: 14.

Более предпочтительно конструкция антигена согласно данному изобретению характеризуется вторым доменом, который связывается с CD3, содержащим VL-область и VH-область, выбранные из группы, состоящей из:

(a) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 17 или 21 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 15 или 19 в WO 2008/119567;

(b) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 35 или 39 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 33 или 37 в WO 2008/119567;

(c) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 53 или 57 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 51 или 55 в WO 2008/119567;

(d) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 71 или 75 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 69 или 73 в WO 2008/119567;

(e) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 89 или 93 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 87 или 91 в WO 2008/119567;

(f) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 107 или 111 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 105 или 109 в WO 2008/119567;

(g) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 125 или 129 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 123 или 127 в WO 2008/119567;

(h) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 143 или 147 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 141 или 145 в WO 2008/119567;

(i) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 161 или 165 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 159 или 163 в WO 2008/119567; и

(j) VL-области, приведенной в SEQ ID NO: 179 или 183 в WO 2008/119567, и VH-области, приведенной в SEQ ID NO: 177 или 181 в WO 2008/119567.

Также в связи с конструкцией антитела согласно данному изобретению предпочтительно, чтобы второй домен, который связывается с CD3, содержал VL-область, приведенную в SEQ ID NO: 13, и VH-область, приведенную в SEQ ID NO: 14.

В соответствии с предпочтительным вариантом конструкции антитела согласно данному изобретению первый и/или второй домен имеют следующий формат: Пары VH-областей и VL-областей имеют формат одноцепочечного антитела (scFv). VH- и VL-области расположены в порядке VH-VL или VL-VH. Предпочтительно, чтобы VH-область была расположена N-терминально по отношению к линкерной последовательности, а VL-область была расположена C-терминально по отношению к линкерной последовательности.

Предпочтительный вариант описанной выше конструкции антитела согласно данному изобретению характеризуется вторым доменом, который связывается с CD3, содержащим аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 в WO 2008/119567, или приведенной в SEQ ID NO: 15.

Также подразумевается, что первый связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению содержит VL-область, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, и VH-область, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-3, выбранные из группы, состоящей из:

(a) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 45, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 46, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 47, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 42, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 43, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 44

(b) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 63, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 64, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 65, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 60, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 61, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 62;

(c) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 81, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 82, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 83, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 78, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 79, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 80;

(d) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 99, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 100, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 101, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 96, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 97, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 98;

(e) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 117, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 118, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 119, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 114, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 115, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 116;

(f) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 135, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 136, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 137, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 132, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 133, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 134;

(g) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 154, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 155, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 151, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 152;

(h) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 171, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 172, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 173, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 168, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 169, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 170;

(i) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 189, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 190, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 191, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 186, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 187, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 188;

(j) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 207, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 208, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 209, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 204, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 205, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 206;

(k) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 225, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 226, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 227, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 222, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 223, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 224;

(l) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 243, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 244, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 245, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 240, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 241, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 242;

(m) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 261, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 262, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 263, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 258, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 259, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 260;

(n) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 279, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 280, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 281, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 276, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 277, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 278; и

(o) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 297, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 298, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 299, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 294, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 295, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 296.

(p) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 315, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 316, CDR-L3,

- (ac) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 54, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 55
 (ad) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 174, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 175.
 (ae) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 318, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 319;
 (af) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 333, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 334;
 (ag) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 348, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 349;
 (ah) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 363, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 364;
 (ai) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 378, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 379;
 (aj) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 393, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 394;
 (ak) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 408, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 409;
 (al) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 423, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 424;
 (am) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 438, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 439;
 (an) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 453, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 454; и
 (ao) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 468, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 469.

Дополнительно подразумевается, что первый связывающий домен конструкции антитела согласно изобретению содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из приведенных в SEQ ID NO: 50, 56, 68, 74, 86, 92, 104, 110, 122, 128, 140, 146, 158, 164, 176, 182, 194, 200, 212, 218, 230, 236, 248, 254, 266, 272, 284, 290, 302, 308, 320, 335, 350, 365, 380, 395, 410, 425, 440, 455 и 470.

В изобретении дополнительно предложена конструкция антитела, содержащая или имеющая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, 57, 69, 75, 87, 93, 105, 111, 123, 129, 141, 147, 159, 165, 177, 183, 195, 201, 213, 219, 231, 237, 249, 255, 267, 273, 285, 291, 303, 309, 321, 324, 336, 339, 351, 354, 366, 369, 381, 384, 396, 399, 411, 414, 426, 429, 441, 444, 456, 459, 471 и 474.

Ковалентные модификации конструкций антител также включены в объем этого изобретения и в целом, но не всегда, проводятся после трансляции. Например, несколько типов ковалентных модификаций конструкции антитела вносят в молекулу посредством проведения реакции между конкретными аминокислотными остатками конструкции антитела с органическим дериватирующим агентом, который способен вступать в реакцию с избранными боковыми цепями N- или C-концевых остатков.

Остатки цистеинила наиболее часто приводят в реакцию с α -галоацетатами (и соответствующими аминами), такими как хлоруксусная кислота или хлорацетамид, чтобы получить карбоксиметильные или карбоксиамидометильные производные. Остатки цистеинила также дериватируют путем проведения реакции с бромтрифторацетоном, α -бром- β -(5-имидозоил)пропионовой кислотой, хлорацетилфосфатом, N-алкилмалеимидами, 3-нитро-2-пиридилдисульфидом, метил-2-пиридилдисульфидом, п-хлорртутьбензоатом, 2-хлорртуть-4-нитрофенолом или хлор-7-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом.

Остатки гистидила дериватируют путем проведения реакции с диэтилпирокарбонатом при pH 5,5-7,0, так как этот агент является относительно специфическим в отношении боковой цепи гистидила. Также используют пара-бромфенацилбромид; реакцию предпочтительно проводят в 0,1 М какодилате натрия при pH 6,0. Остатки лизинила и аминоконцевые остатки приводят в реакцию с янтарным ангидридом или ангидридами других карбоновых кислот. Дериватизация этими агентами приводит к изменению заряда остатков лизинила на противоположный. Другие подходящие агенты для дериватизации альфа-амино-содержащих остатков включают сложные имидоэфир, такие как пиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль; хлорборгидрид; тринитробензенсульфоновую кислоту; O-метилизомочевину; 2,4-пентандион; и катализируемую трансаминазой реакцию с глиоксилатом.

Остатки аргинила модифицируют путем проведения реакции с одним из нескольких традиционных реагентов, среди которых фенилглиоксаль, 2,3-бутандион, 1,2-циклогександион и нингидрин. Для дериватизации остатков аргинина требуется, чтобы реакция проводилась в щелочных условиях из-за высокого значения pKa функциональной группы гуанидина. Кроме того, эти реагенты могут вступать в реакцию с группами лизина, а также эпсилон-амино-группой аргинина.

Можно осуществлять специфическую модификацию остатков тирозила, при этом особенный интерес представляет внесение спектральных меток в остатки тирозила путем проведения реакции с ароматическими соединениями диазония или тетранитрометаном. Наиболее часто используют N-ацетилимидизол и тетранитрометан для получения молекул O-ацетилтирозила и 3-нитро производных соответственно. Остатки тирозила йодируют, используя ^{125}I или ^{131}I , чтобы получить меченые белки для применения в радиоиммуноанализе, при этом подходит описанный выше метод с применением хлорамина Т.

Карбоксильные боковые группы (аспартильные или глутамильные) избирательно модифицируют путем проведения реакции с карбодиимидами ($\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N--R}$), где R и R' представляют собой необязательно разные алкильные группы, такие как 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-4-этил)карбодиимид или 1-этил-3-(4-азония-4,4-диметилпентил)карбодиимид. Кроме того, аспартильные и глутамильные остатки преобразуют в аспарагинильные и глутаминильные остатки путем проведения реакции с ионами аммония.

Дериватизацию бифункциональными агентами используют для перекрестного сшивания конструкций антител согласно данному изобретению с нерастворимой в воде иммобилизирующей матрицей или

поверхностью для применения в различных способах. Обычно применяемые перекрестно-сшивающие агенты включают, например, 1,1-бис(диазоацетил)-2-фенилэтан, глутаральдегид, сложные N-гидроксисукцинимидные эфиры, например, сложные эфиры с 4-азидосалициловой кислотой, гомобифункциональные сложные имидоэфиры, включая дисукцинимидиловые сложные эфиры, такие как 3,3'-дителиобис(сукцинимидилпропионат), и бифункциональные малеимиды, такие как бис-N-малеимидо-1,8-октан. Дериватирующие агенты, такие как метил-3-[(п-азидофенил)дитио]пропиоимидат, позволяют получать фотоактивируемые промежуточные соединения, которые способны образовывать перекрестные связи в присутствии света. В альтернативном варианте для иммобилизации белков применяют реактивные нерастворимые в воде матрицы, такие как активируемые цианогенбромидом углеводы, и реактивные субстраты, описанные в патентах США № 3969287; 3691016; 4195128; 4247642; 4229537; и 4330440.

Остатки глутамила и аспарагина часто деаминируют до соответствующих остатков глутамила и аспаргила соответственно. В альтернативном варианте эти остатки деаминируют в умеренных кислых условиях. Любая форма этих остатков попадает в объем этого изобретения.

Другие модификации включают гидроксифилирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп остатков серина или треонина, метилирование α-амино-групп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина (Т.Е. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

Другой тип ковалентной модификации конструкций антител, включенный в объем этого изобретения, включает изменение профиля гликозилирования белка. Как известно в данной области техники, профили гликозилирования могут зависеть как от последовательности белка (например, наличия или отсутствия конкретных аминокислотных остатков гликозилирования, что обсуждается ниже), так и от клетки-хозяина или организма, в которых вырабатывается белок. Конкретные экспрессионные системы обсуждаются ниже.

Гликозилирование полипептидов, как правило, бывает N-связанным или O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводного компонента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X является любой аминокислотой за исключением пролина, представляют собой последовательности распознавания для ферментативного присоединения углеводного компонента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, наличие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный участок гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикарбонильной группе, наиболее часто серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксизин.

Добавление участков гликозилирования в конструкцию антитела удобно осуществлять путем изменения аминокислотной последовательности так, чтобы она содержала одну или более из вышеописанных трипептидных последовательностей (для участков N-связанного гликозилирования). Изменение также можно проводить путем добавления или замены одним или более остатками серина или треонина в стартовой последовательности (для участков O-связанного гликозилирования). Для удобства аминокислотную последовательность конструкции антитела предпочтительно изменяют посредством изменений на уровне ДНК, в частности, мутируя ДНК, кодирующую полипептид, в предварительно выбранных основаниях, так чтобы создать кодоны, которые будут транслироваться в необходимые аминокислоты.

Другим средством повышения числа углеводных компонентов на конструкции антитела является химическое или ферментативное сопряжение гликозидов с белком. Преимущество этих процедур состоит в том, что для них не требуется выработка белка в клетке-хозяине, в которой существует возможность для N- и O-связанного гликозилирования. В зависимости от применяемого способа сопряжения сахар (а) можно присоединять к (а) аргинину и гистидину, (b) свободным карбоксильным группам, (c) свободным сульфгидрильным группам, таким как в цистеине, (d) свободным гидроксильным группам, таким как в серине, треонине или гидроксипролине, (e) ароматическим остаткам, таким как в фенилаланине, тирозине или триптофане, или (f) амидной группе глутамина. Эти способы описаны в WO 87/05330 и в Arlin and Wriston, 1981, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, pp. 259-306.

Удаление углеводных компонентов, присутствующих в исходной конструкции антитела, можно осуществлять химическим или ферментативным способом. Для химического дегликозилирования необходимо воздействие на белок соединения трифторметансульфоновой кислоты или эквивалентного соединения. Такая обработка приводит к отщеплению большинства или всех Сахаров за исключением связующего сахара (N-ацетилглюкозамина или N-ацетилгалактозамина), при этом оставляя полипептид нетронутым. Химическое дегликозилирование описано в Hakimuddin et al., 1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52 и в Edge et al., 1981, *Anal. Biochem.* 118:131. Ферментативное отщепление углеводных компонентов на полипептидах можно обеспечить путем применения различных эндо- и экзогликозидаз, как описано в Thotakura et al., 1987, *Meth. Enzymol.* 138:350. Гликозилирование в потенциальных участках гликозилирования можно предотвратить путем применения соединения туникамицина, как описано в Duskin et al., 1982, *J. Biol. Chem.* 257:3105. Туникамицин блокирует образование связей белок-N-гликозид.

Другие модификации конструкции антитела также предусмотрены в данном документе. Например,

другой тип ковалентной модификации конструкции антитела включает связывание конструкции антитела с различными небелковыми полимерами, включая, но не ограничиваясь этим, различные полиолы, такие как полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, полиоксиалкилены или сополимеры полиэтиленгликоля и полипропиленгликоля, так, как это описано в патентах США № 4640835; 4496689; 4301144; 4670417; 4791192 или 4179337. Кроме того, как известно в данной области техники, можно проводить аминокислотные замены в различных позициях в конструкции антитела, например, чтобы облегчить добавление полимеров, таких как ПЭГ.

В некоторых вариантах реализации изобретения ковалентная модификация конструкций антител согласно изобретению включает добавление одной или более меток. Метящая группа может быть сопряжена с конструкцией антитела посредством спейсерных ножек различной длины для снижения потенциального стерического несоответствия. В данной области техники известны различные способы мечения белков, которые можно применять при осуществлении данного изобретения. Термин "метка" или "метящая группа" относится к любой выявляемой метке. В общем случае метки делятся на множество классов в зависимости от метода анализа, в котором предполагается их выявление; следующие примеры включают, но не ограничиваются этим:

- a) изотопные метки, которые могут представляться собой радиоактивные или тяжелые изотопы, такие как радиоизотопы или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I);
- b) магнитные метки (например, магнитные частицы);
- c) редокс-активные компоненты;
- d) оптические красители (включая, но не ограничиваясь этим, хромофоры, люминофоры и флуорофоры), такие как флуоресцентные группы (например, ФИТЦ, родамин, люминофоры на основе комплексов лантанидов), хемилюминесцентные группы и флуорофоры, которые могут представлять собой как "низкомолекулярные" флуорофоры, так и белковые флуорофоры;
- e) ферментативные группы (например, пероксидазу хрена, β -галактозидазу, люциферазу, щелочную фосфатазу);
- f) биотинилированные группы;
- g) предопределенные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновых молний, участки связывания для вторичных антител, металл-связывающие домены, эпитопные метки и т.д.).

Под "флуоресцентной меткой" подразумевается любая молекула, которую можно выявить благодаря свойственным ей флуоресцентным свойствам. Подходящие флуоресцентные метки включают, но не ограничиваются этим, флуоресцеин, родамин, тетраметилродамин, эозин, эритрозин, кумарин, метилкумарины, пирен, малахитовый зеленый, стильбен, желтый люцифер, голубой каскад J, Техасский красный, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, зеленый Орегон, красители Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), голубой каскад, желтый каскад и R-фикоэритрин (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), ФИТЦ, родамин и Техасский красный (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Подходящие оптические красители, включая флуорофоры, описаны в Molecular Probes Handbook by Richard P. Haugland.

Подходящие белковые флуоресцентные метки также включают, но не ограничиваются этим, зеленый флуоресцентный белок, включая виды ЗФБ Renilla, Ptilosarcus или Aequorea (Chalfie et al., 1994, Science 263:802-805), УЗФБ (Clontech Laboratories, Inc., номер доступа Genbank U55762), синий флуоресцентный белок (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada НЗН 1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24:462-471; Heim et al., 1996, Curr. Biol. 6:178-182), усиленный желтый флуоресцентный белок (УЖФБ, Clontech Laboratories, Inc.), люциферазу (Ichiki et al., 1993, J. Immunol. 150:5408-5417), β -галактозидазу (Nolan et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:2603-2607) и Renilla (WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, патенты США № 5292658; 5418155; 5683888; 5741668; 5777079; 5804387; 5874304; 5876995; 5925558).

Конструкция антитела согласно изобретению также может содержать дополнительные домены, которые, например, помогают при выделении молекулы или имеют отношение к адаптированному фармакокинетическому профилю молекулы. Домены, которые помогают при выделении конструкции антитела, могут быть выбраны из пептидных мотивов или вторично внесенных компонентов, которые могут быть захвачены в способе выделения, например, в колонке для выделения. Неограничивающие варианты реализации таких дополнительных доменов включают пептидные мотивы, известные как Мус-метка, НАТ-метка, НА-метка, ТАР-метка, GST-метка, хитин-связывающий домен (СВД-метка), мальтоза-связывающий домен (МВП-метка), Flag-метка, Strep-метка и ее варианты (например, StrepII-метка) и His-метка. Описанные в данном документе конструкции антител могут содержать домен His-метки, который в общем случае известен как повтор последовательных остатков His в аминокислотной последовательности молекулы, предпочтительно из пяти, и более предпочтительно из шести остатков His (гексакистидин). His-метка может быть расположена, например, в N- или C-конце конструкции антитела, предпочтительно она располагается в C-конце. Наиболее предпочтительно гекса-гистидиновая метка (ННН-

ННН) (SEQ ID NO: 16) связана посредством пептидной связи с С-концом конструкции антитела в соответствии с изобретением. Кроме того, с поли-гистидиновой меткой можно комбинировать конъюгатную систему ПЛГК-ПЭГ-ПЛГК для применений с замедленным высвобождением и улучшения фармакокинетического профиля.

Также предполагаются модификации аминокислотных последовательностей описанных в данном документе конструкций антител. Например, может требоваться улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств конструкции антитела. Варианты аминокислотных последовательностей конструкций антител получают, внося соответствующие нуклеотидные изменения в нуклеиновые кислоты конструкций антител, или путем пептидного синтеза. Все описанные ниже модификации аминокислотных последовательностей должны приводить к получению конструкции антитела, которая сохраняет необходимую биологическую активность (связывание с PSMA и с CD3) немодифицированной родительской молекулы.

Термин "аминокислота" или "аминокислотный остаток", как правило, относится к аминокислоте, имеющей известное в данной области техники определение, такой как аминокислота, выбранная из группы, состоящей из: аланина (Ala или A); аргинина (Arg или R); аспарагина (Asn или N); аспарагиновой кислоты (Asp или D); цистеина (Cys или C); глутамина (Gln или Q); глутаминовой кислоты (Glu или E); глицина (Gly или G); гистидина (His или H); изолейцина (Ile или I); лейцина (Leu или L); лизина (Lys или K); метионина (Met или M); фенилаланина (Phe или F); пролина (Pro или P); серина (Ser или S); треонина (Thr или T); триптофана (Trp или W); тирозина (Tyr или Y); и валина (Val или V), хотя модифицированные, синтетические или редкие аминокислоты можно использовать в случае необходимости. В общем случае аминокислоты можно разделить на группы, имеющие неполярную боковую цепь (например, Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val); отрицательно заряженную боковую цепь (например, Asp, Glu); положительно заряженную боковую цепь (например, Arg, His, Lys); или незаряженную полярную боковую цепь (например, Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp и Tyr).

Аминокислоты модификации включают, например, делеции из и/или вставки в, и/или замены остатков в пределах аминокислотных последовательностей конструкций антител. Для получения конечной конструкции осуществляют любую комбинацию из делеции, вставки и замены, при условии, что конечная конструкция обладает необходимыми характеристиками. Аминокислотные изменения также могут менять посттрансляционные процессы конструкций антител, такие как изменение числа или позиции участков гликозилирования.

Например, можно проводить вставку, замену или делецию 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислот в каждой из CDR (конечно, в зависимости от их длины), тогда как в каждой из FR можно проводить вставку, замену или делецию 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот. Предпочтительно вставки аминокислотной последовательности в конструкцию антитела включают аминокислоты и/или карбокси-концевые слияния длиной в диапазоне 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 остатков в полипептидах, содержащих сто или более остатков, а также вставки одного или нескольких аминокислотных остатков внутри последовательности. Соответствующие модификации также можно проводить в пределах третьего домена конструкции антитела согласно изобретению. Инсерционный вариант конструкции антитела согласно изобретению включает слияние фермента с N-концом или с С-концом конструкции антитела или слияние с полипептидом.

Представляющие наибольший интерес для заместительного мутагенеза остатки включают (не ограничиваются этим) CDR тяжелой и/или легкой цепи, в частности, гипервариабельные области, но также предполагаются изменения FR в тяжелой и/или легкой цепи. Замены предпочтительно представляют собой консервативные замены, описанные в данном документе. Предпочтительно можно проводить замену 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот в CDR, тогда как в каркасных областях (FR) можно проводить замену 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 25 аминокислот, в зависимости от длины CDR или FR. Например, если последовательность CDR включает в себя 6 аминокислот, подразумевается возможность замены одной, двух или трех из этих аминокислот. Аналогично, если последовательность CDR включает в себя 15 аминокислот, подразумевается возможность замены одной, двух, трех, четырех, пяти или шести из этих аминокислот.

Полезный способ идентификации определенных остатков или областей конструкций антител, которые являются предпочтительными участками для мутагенеза, называется "аланин-сканирующим мутагенезом" и описан в Cunningham and Wells in Science, 244: 1081-1085 (1989). В данном случае определяют остаток или группу целевых остатков в пределах конструкции антитела (например, заряженных остатков, таких как arg, asp, his, lys и glu) и замещают нейтральной или отрицательно заряженной аминокислотой (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином) для воздействия на взаимодействие аминокислот с эпитопом.

Затем те аминокислотные участки, которые демонстрируют функциональную чувствительность к заменам, корректируют, внося дополнительные или другие варианты в участках замен или для них. Таким образом, хотя участок или область для внесения вариации в аминокислотную последовательность predetermined, природа мутации per se не должна быть predetermined. Например, чтобы проанализировать или оптимизировать характеристики мутации в данном участке, можно провести аланин-

сканирующий или случайный мутагенез в целевом кодоне или участке и провести скрининг экспрессируемых вариантов конструкции антитела в отношении оптимальной комбинации необходимой активности. Методики осуществления заместительных мутаций в predetermined участках в ДНК с известной последовательностью, хорошо известны, например, это мутагенез с праймером M13 и ПЦР-мутагенез. Скрининг мутантов проводят, применяя анализ антигенсвязывающей активности, например, связывания PSMA или CD3.

В общем случае, если замена аминокислот проведена в одной или более, или во всех CDR тяжелой и/или легкой цепи, предпочтительно, чтобы полученная "замещенная" последовательность была по меньшей мере на 60% или 65%, более предпочтительно на 70% или 75%, даже более предпочтительно на 80% или 85% и в особенности предпочтительно на 90% или 95% идентичной "оригинальной" последовательности CDR. Это означает, что от длины CDR зависит, в какой степени она идентична "замещенной" последовательности. Например, CDR, содержащая 5 аминокислот, предпочтительно является на 80% идентичной своей замещенной последовательности, чтобы по меньшей мере одна аминокислота была заменена. Соответственно, CDR конструкции антитела могут иметь разную степень идентичности со своими замещенными последовательностями, например, CDRL1 может иметь 80%, тогда как CDRL3 может иметь 90%.

Предпочтительные замены (замещения) представляют собой консервативные замены. При этом подразумевается возможность любой замены (включая неконсервативную замену или одну или более из "типовых замен", перечисленных в табл. 3, ниже) при условии, что конструкция антитела сохраняет свою способность связываться с PSMA посредством первого домена и с CD3 эписилоном посредством второго домена, и/или ее CDR имеют идентичность с замещенной последовательностью (по меньшей мере на 60% или 65%, более предпочтительно на 70% или 75%, даже более предпочтительно на 80% или 85% и в особенности предпочтительно на 90% или 95% идентичны "оригинальной" последовательности CDR).

Консервативные замены приведены в табл. 3 под заглавием "предпочтительные замены". Если такие замены приводят к изменению биологической активности, тогда можно вносить более существенные изменения, обозначенные в табл. 3 как " типовые замены " или дополнительно описанные ниже с привязкой к классам аминокислот, а продукты исследовать в отношении необходимой характеристики.

Таблица 3
Аминокислотные замены

Оригинал	Типовые замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	Ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	norleucine, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	Ala	ala
Ser (S)	Thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

Существенные модификации биологических свойств конструкции антитела согласно данному изо-

бретению осуществляют, выбирая замены, которые существенно отличаются по своему действию на поддержание (а) структуры полипептидного скелета в области замены, например, в виде слоя спиральной конформации, (b) заряда или гидрофобности молекулы в целевом участке или (c) объема боковой цепи. Остатки природного происхождения делятся на группы на основании общих свойств боковых цепей: (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile; (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr, asn, gln; (3) кислые: asp, glu; (4) основные: his, lys, arg; (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и (6) ароматические: trp, tyr, phe.

Неконсервативные замены включают замену представителя одного из этих классов представителем другого класса. Любой остаток цистеина, не принимающий участия в поддержании надлежащей конформации конструкции антитела, можно заменять, в общем случае серином, для улучшения устойчивости молекулы к окислению и предотвращения aberrантного перекрестного связывания. И наоборот, цистеиновую(ые) связь(и) можно добавлять в антитело для улучшения его стабильности (в частности, когда антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как фрагмент Fv).

В случае аминокислотных последовательностей идентичность и/или сходство последовательностей определяют, используя стандартные методики, известные в данной области техники, включая, но не ограничиваясь этим, алгоритм локальной идентичности последовательностей Смита и Уотермана, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, алгоритм выравнивания для определения идентичности последовательностей Нидлмана и Вунша, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443, метод поиска сходства Пирсона и Липмана, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444, компьютеризованные реализации этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), программу для последовательностей Best Fit, описанную в Devereux et al., 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395, предпочтительно с применением установок по умолчанию или по усмотрению. Предпочтительно процент идентичности рассчитывают с помощью FastDB на основании следующих параметров: штраф за несовпадение 1; штраф за гэп 1; штраф за размер гэпа 0,33; и штраф за соединение 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis," *Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications*, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

Примером применимого алгоритма является PILEUP. PILEUP создает множественное выравнивание последовательностей из группы родственных последовательностей, используя прогрессивное, парное выравнивание. Также она может строить дерево, показывающее группирующие взаимосвязи, используемые для создания выравнивания. В PILEUP используется упрощение метода прогрессивного выравнивания Фенга и Дулиттла, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360; этот метод аналогичен описанному Хиггинсом и Шарпом, 1989, *CABIOS* 5:151-153. Применимые параметры PILEUP включают вес гэпа по умолчанию 3,00, вес продолжения гэпа по умолчанию 0,10, и взвешенные концевые гэпы.

Другим примером применяемого алгоритма является алгоритм BLAST, описанный в: Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; и Karin et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5787. В особенности применимой программой BLAST является программа WU-BLAST-2, которая была создана в соответствии с Altschul et al., 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480. В WU-BLAST-2 используется несколько поисковых параметров, значения большинства которых заданы по умолчанию. Корректируемые параметры установлены со следующими значениями: длина перекрытия=1, доля перекрытия=0,125, пороговая длина слова (T)=II. Параметры HSP S и HSP S2 являются динамическими значениями и устанавливаются самой программой в зависимости от состава конкретной последовательности и состава конкретной базы данных, по которой проводится поиск представляющей интерес последовательности; при этом данные значения могут быть скорректированы для повышения чувствительности.

Дополнительным применимым алгоритмом является BLAST с гэпами, описанный в Altschul et al., 1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402. В BLAST с гэпами используется матрица оценок замен BLOSUM-62; пороговый параметр T установлен на 9; используется метод двух совпадений для инициации продления без гэпов, приписывается гэпам длиной k стоимость $10+k$; X_u установлен на 16, и X_g установлен на 40 для стадии поиска по базе данных и на 67 для выходной стадии алгоритмов. Выравнивания с гэпами иницируются оценкой, соответствующей около 22 битам.

В общем случае аминокислотная гомология, сходство или идентичность между отдельными вариантами CDR или последовательностями VH/VL составляет по меньшей мере 60% с последовательностями, приведенными в данном документе, и, чаще, с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью, составляющей по меньшей мере 65 или 70%, более предпочтительно по меньшей мере 75% или 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 и почти 100%. Аналогичным образом "процент (%) идентичности нуклеотидных последовательностей" по отношению к нуклеотидной последовательности определенных в данном документе связывающих белков определяется как процентное содержание нуклеотидных остатков в кандидатной последовательности, которые являются идентичными с нуклеотидными остатками в кодирующей последовательности конструкции антитела. В конкретном методе используется модуль BLASTN из WU-BLAST-2 с установленными по умолчанию параметрами, с длиной перекрытия и долей перекрытия установленными на 1 и 0,125 соответственно.

В общем случае гомология, сходство или идентичность нуклеотидных последовательностей между нуклеотидными последовательностями, кодирующими отдельные варианты CDR или последовательности VH/VL, и нуклеотидными последовательностями, приведенными в данном документе, составляет по меньшей мере 60% и, чаще, с предпочтительно возрастающей гомологией или идентичностью, составляющей по меньшей мере 65, 70, 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99 и почти 100%. Таким образом, "вариантная CDR" или "вариантная область VH/VL" представляет собой область с конкретной гомологией, сходством или идентичностью с родительской CDR/VH/VL согласно изобретению и обладает биологической функцией, включая, но не ограничиваясь этим, по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% специфичности и/или активности родительской CDR или VH/VL.

В одном варианте реализации изобретения процент идентичности с человеческой зародышевой линией конструкций антител в соответствии с изобретением составляет $\geq 70\%$ или ≥ 75 , более предпочтительно $\geq 80\%$ или ≥ 85 , даже более предпочтительно $\geq 90\%$ и наиболее предпочтительно ≥ 91 , ≥ 92 , ≥ 93 , ≥ 94 , $\geq 95\%$ или даже $\geq 96\%$. Считается, что идентичность с генными продуктами человеческого антитела зародышевой линии является важным фактором для снижения риска того, что терапевтические белки будут вызывать иммунный ответ против лекарственного препарата у пациента во время лечения. Hwang & Foote ("Immunogenicity of engineered antibodies"; Methods 36 (2005) 3-10) продемонстрировали, что уменьшение нечеловеческих частей лекарственных конструкций антител приводит к снижению риска индукции антител против лекарственного препарата у пациентов во время лечения. При сравнении достаточного количества клинически оцененных лекарственных препаратов на основе антител и соответствующих данных по иммуногенности, была выявлена тенденция, что гуманизация V-областей антител делает белки менее иммуногенными (в среднем для 5,1% пациентов), чем антитела, несущие неизмененные нечеловеческие V-области (в среднем для 23,59% пациентов). Следовательно, для белковых терапевтических средств на основе V-области в форме конструкций антител необходима большая степень идентичности с человеческими последовательностями. С целью определения идентичности зародышевой линии можно проводить выравнивание V-областей VL с аминокислотными последовательностями V-сегментов и J-сегментов человеческой зародышевой линии (<http://vbase.mrc-sre.cam.ac.uk/>), используя программное обеспечение Vector NTI, и рассчитывать аминокислотную последовательность путем деления идентичных аминокислотных остатков на общее число аминокислотных остатков VL в процентах. То же самое можно осуществлять в отношении VH-сегментов (<http://vbase.mrc-sre.cam.ac.uk/>) за исключением того, что VH CDR3 может быть исключена вследствие высокой степени разнообразия и отсутствия партнеров по выравниванию среди VH CDR3 человеческой зародышевой линии. Затем можно применять рекомбинантные технологии для повышения идентичности последовательностей с генами человеческого антитела зародышевой линии.

В дополнительном варианте реализации биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению демонстрируют высокий выход мономеров в стандартных условиях лабораторного масштаба, например, в условиях стандартного двухэтапного процесса очистки. Предпочтительно выход мономеров конструкций антител в соответствии с изобретением составляет $\geq 0,25$ мг/л супернатанта, более предпочтительно $\geq 0,5$ мг/л, даже более предпочтительно ≥ 1 мг/л и наиболее предпочтительно ≥ 3 мг/л супернатанта.

Аналогично, можно определить выход димерных изоформ конструкций антител и, следовательно, процентное содержание мономеров (т.е. мономер: (мономер+димер)) конструкций антител. Продуктивность мономерных и димерных конструкций антител и рассчитанное процентное содержание мономеров можно, например, получить на этапе ЭХ-очистки культурального супернатанта от стандартизированного производства в лабораторном масштабе в роллерных флаконах. В одном варианте реализации изобретения процентное содержание мономеров конструкций антител составляет $\geq 80\%$, более предпочтительно $\geq 85\%$, даже более предпочтительно $\geq 90\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 95\%$.

В одном варианте реализации изобретения конструкции антитела предпочтительно характеризуются плазменной стабильностью (отношением EC50 с плазмой к EC50 без плазмы), составляющей ≤ 5 или ≤ 4 , более предпочтительно $\leq 3,5$ или ≤ 3 , даже более предпочтительно $\leq 2,5$ или ≤ 2 и наиболее предпочтительно $\leq 1,5$ или ≤ 1 . Плазменную стабильность конструкции антитела можно исследовать, инкубируя конструкцию в человеческой плазме при 37°C в течение 24 часов с последующим определением EC50 в анализе высвобождения ⁵¹хрома. Эффекторные клетки в анализе цитотоксичности могут представлять собой стимулированные обогащенные человеческие CD8-положительные Т-клетки. Клетки-мишени могут представлять собой, например, клетки CHO, трансфицированные человеческим PSMA. Соотношение между эффекторными клетками и клетками-мишенями (Э:М) может быть выбрано как 10:1. Применяемый в этих целях пул человеческой плазмы получают из крови здоровых доноров, собранной в покрытые ЭДТК шприцы. Клеточные компоненты удаляют путем центрифугирования, а верхнюю плазменную фазу собирают и после этого объединяют. В качестве контроля конструкции антител разводят непосредственно перед анализом цитотоксичности в среде RPMI-1640. Плазменную стабильность рассчитывают как отношение EC50 (после инкубации плазмы) к EC50 (контроля).

Также предпочтительно, чтобы преобразование мономеров в димеры конструкций антител было низким. Степень преобразования можно определять в разных условиях и анализировать с помощью высокоэффективной эксклюзионной хроматографии. Например, инкубацию мономерных изоформ конструкций антител можно проводить в течение 7 суток при 37°C и концентрациях, составляющих, например, 100 мкг/мл или 250 мкг/мл, в инкубаторе. В таких условиях предпочтительно, чтобы конструкции антител согласно изобретению демонстрировали процентное содержание димеров $\leq 5\%$, более предпочтительно $\leq 4\%$, даже более предпочтительно $\leq 3\%$, даже более предпочтительно $\leq 2,5\%$, даже более предпочтительно $\leq 2\%$, даже более предпочтительно $\leq 1,5\%$ и наиболее предпочтительно $\leq 1\%$ или $\leq 0,5\%$ или даже 0%.

Также предпочтительно, чтобы биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению характеризовались низким уровнем преобразования в димеры после некоторого числа циклов замораживания/размораживания. Например, мономер конструкции антитела доводят до концентрации 250 мкг/мл, например, в генерическом буфере готовой формы и подвергают трем циклам замораживания/размораживания (замораживание при -80°C в течение 30 мин с последующим размораживанием в течение 30 мин при комнатной температуре) с последующим проведением высокоэффективной ЭХ для определения процентного содержания изначально мономерной конструкции антитела, которая была преобразована в димерную конструкцию антитела. Предпочтительно процентное содержание димеров биспецифических конструкций антител составляет $\leq 5\%$, более предпочтительно $\leq 4\%$, даже более предпочтительно $\leq 3\%$, даже более предпочтительно $\leq 2,5\%$, даже более предпочтительно $\leq 2\%$, даже более предпочтительно $\leq 1,5\%$ и наиболее предпочтительно $\leq 1\%$ или даже $\leq 0,5\%$, например, после трех циклов замораживания/размораживания.

Биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению предпочтительно демонстрируют хорошую термостабильность с температурой агрегации $\geq 45^\circ\text{C}$ или $\geq 50^\circ\text{C}$, более предпочтительно $\geq 52^\circ\text{C}$ или $\geq 54^\circ\text{C}$, даже более предпочтительно $\geq 56^\circ\text{C}$ или $\geq 57^\circ\text{C}$ и наиболее предпочтительно $\geq 58^\circ\text{C}$ или $\geq 59^\circ\text{C}$. Параметр термостабильности можно определить в контексте температуры агрегации антитела следующим образом: Раствор антитела в концентрации 250 мкг/мл переносят в одноразовую кювету и помещают в устройство для исследования методом динамического рассеяния света (ДРС). Образец нагревают от 40°C до 70°C при скорости нагрева 0,5°C/мин с постоянным измерением определяемого радиуса. Увеличение радиуса, указывающее на плавление и агрегацию белка, используют для расчета температуры агрегации антитела.

В альтернативном варианте температурные кривые плавления можно определить методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) для определения характеристичной биофизической стабильности белка конструкций антител. Эти эксперименты проводят, используя устройство MicroCal LLC (Northampton, MA, U.S.A) VP-DSC. Поглощение энергии образцом, содержащим конструкцию антитела, записывают от 20°C до 90°C и сравнивают с образцом, содержащим только буфер готовой формы. Конструкции антител доводят до конечной концентрации 250 мкг/мл, например, в подвижном буфере ЭХ. Для получения соответствующей кривой плавления пошагово повышают общую температуру образца. При каждой температуре T записывают поглощение энергии образца и стандартного буфера готовой формы. Разницу в поглощении энергии C_p (ккал/моль/°C) образца минус стандарт наносят на график как функцию от соответствующей температуры. Температуру плавления определяют как температуру в первом максимуме поглощения энергии.

Также подразумевается, что биспецифические конструкции антител к PSMAxCD3 согласно изобретению имеют мутность (определяемую по ОП340 после доведения концентрации очищенной мономерной конструкции антитела до 2,5 мг/мл и инкубации в течение ночи) $\leq 0,2$, предпочтительно $\leq 0,15$, более предпочтительно $\leq 0,12$, даже более предпочтительно $\leq 0,1$ и наиболее предпочтительно $\leq 0,08$.

В дополнительном варианте реализации конструкция антитела в соответствии с изобретением стабильна при физиологическом или немного меньшем pH, т.е. pH от около 7,4 до 6,0. Чем лучше конструкция антитела переносит нефизиологический pH, такой как pH около 6,0, тем выше степень выделения конструкции антитела, элюируемой из ионообменной колонки, по отношению к общему количеству загружаемого белка. Выделение конструкции антитела из ионообменной (например, катионообменной) колонки при pH около 6,0 предпочтительно составляет $\geq 30\%$, более предпочтительно $\geq 40\%$, более предпочтительно $\geq 50\%$, даже более предпочтительно $\geq 60\%$, даже более предпочтительно $\geq 70\%$, даже более предпочтительно $\geq 80\%$, даже более предпочтительно $\geq 90\%$, даже более предпочтительно $\geq 95\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 99\%$.

Дополнительно подразумевается, что биспецифические конструкции антител согласно данному изобретению демонстрируют терапевтическую эффективность или противоопухолевую активность. Это можно, например, оценить в описанном в нижеприведенном примере исследовании ксенотрансплантатной модели человеческой опухоли на поздней стадии:

На 1 сутки исследования 5×10^6 клеток из линии клеток, положительной в отношении человеческого целевого клеточного антигена (в данном случае: PSMA), подкожно инъецируют в правую заднюю боко-

вую часть самок мышей NOD/SCID. Когда средний объем опухолей достигает около 100 мм^3 , *in vitro* размноженные человеческие CD3-положительные Т-клетки трансплантируют мышам посредством инъекции около 2×10^7 клеток в брюшную полость животных. Мыши из обрабатываемой базовым раствором контрольной группы 1 не получают эффекторных клеток и используются в качестве контроля без трансплантата для сравнения с обрабатываемой базовым раствором контрольной группой 2 (получающей эффекторные клетки), чтобы отслеживать влияние одних Т-клеток на рост опухоли. Обработку антителом начинают, когда средний объем опухолей достигает около 200 мм^3 . Средний объем опухоли для каждой группы обработки в день начала обработки не должен статистически отличаться от любой другой группы (дисперсионный анализ). Мышей обрабатывают $0,5 \text{ мг/кг/сутки}$ биспецифической конструкции антитела к PSMАхCD3 путем внутривенной болюсной инъекции в течение от около 15 до 20 суток. Во время исследования проводят измерение опухолей калиперами, а прогрессирование оценивают путем сравнения объема опухолей (TV) между группами. Ингибирование роста опухоли T/C [%] определяют, рассчитывая TV как $T/C\% = 100 \times (\text{медианный TV в анализируемой группе}) / (\text{медианный TV в контрольной группе 2})$.

Специалистам известно, как модифицировать или адаптировать определенные параметры этого исследования, такие как число инъекцируемых опухолевых клеток, место инъекции, число трансплантируемых человеческих Т-клеток, предназначенное для введения количество биспецифических конструкций антител и график, получая при этом имеющий смысл и воспроизводимый результат. Предпочтительно ингибирование роста опухоли T/C [%] составляет ≤ 70 или ≤ 60 , более предпочтительно ≤ 50 или ≤ 40 , даже более предпочтительно ≤ 30 или ≤ 20 и наиболее предпочтительно ≤ 10 или ≤ 5 или даже $\leq 2,5$.

В предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно изобретению конструкция антитела представляет собой одноцепочечную конструкцию антитела.

Также в предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно изобретению указанный третий домен содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

шарнир-CH2-CH3-линкер-шарнир-CH2-CH3.

В одном варианте реализации изобретения каждый из указанных полипептидных мономеров третьего домена имеет аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24. В предпочтительном варианте реализации изобретения каждый из указанных полипептидных мономеров имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17-24.

Также в одном варианте реализации изобретения домен CH2 одного или предпочтительно каждого (обоих) полипептидных мономеров третьего домена содержит внутримономерный цистеиновый дисульфидный мостик. Как известно в данной области техники, термин "цистеиновый дисульфидный мостик" относится к функциональной группе с общей структурой R-S-S-R. Такая связь также называется SS-связью или дисульфидным мостиком и получена путем сопряжения двух тиольных групп остатков цистеина. Для конструкции антитела согласно изобретению в особенности предпочтительно, чтобы цистеины, образующие цистеиновый дисульфидный мостик в зрелой конструкции антитела, были внесены в аминокислотную последовательность домена CH2, соответствующую позициям 309 и 321 (нумерация Kabat).

В одном варианте реализации изобретения удален участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat домена CH2. Предпочтительно, чтобы это удаление участка гликозилирования обеспечивала замена N314X, где X представляет собой любую аминокислоту за исключением Q. Указанная замена предпочтительно представляет собой замену N314G. В более предпочтительном варианте реализации изобретения указанный домен CH2 дополнительно содержит следующие замены (позиции в соответствии с Kabat): V321C и R309C (эти замены вносят внутримономерный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях 309 и 321 по Kabat).

Предполагается, что предпочтительные характеристики конструкции антитела согласно изобретению по сравнению, например, с известной в данной области техники биспецифической конструкцией антитела на основе гетеро-Fc (фиг. 1b) могут быть, помимо прочего, связаны с внесением вышеописанных модификаций в домен CH2. Таким образом, для конструкции согласно изобретению предпочтительно, чтобы домены CH2 в третьем домене конструкции антитела согласно изобретению содержали внутримономерный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях 309 и 321 по Kabat и/или участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat был удален посредством описанной выше замены N314G N314X, предпочтительно замены N314G.

В дополнительном предпочтительном варианте реализации изобретения домены CH2 в третьем домене конструкции антитела согласно изобретению содержат внутримономерный цистеиновый дисульфидный мостик в позициях 309 и 321 по Kabat, а участок гликозилирования в позиции 314 по Kabat удален посредством замены N314G. Наиболее предпочтительно полипептидный мономер в третьем домене конструкции антитела согласно изобретению имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17 и 18.

В одном варианте реализации в изобретении предложена конструкция антитела, в которой:

(i) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;

(ii) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;

(iii) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела; или

(iv) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела.

Соответственно, первый и второй домены могут представлять собой связывающие домены, каждый из которых содержит два переменных домена антитела, таких как домены VH и VL. Примеры таких связывающих доменов, содержащих два переменных домена антитела, были описаны выше в данном документе и включают, например, фрагменты Fv, фрагменты scFv или фрагменты Fab, описанные выше в данном документе. В альтернативном варианте один или оба этих связывающих домена могут содержать только один переменный домен. Примеры таких однодоменных связывающих доменов были описаны выше в данном документе и включают, например, нанотела или содержащие один переменный домен антитела, содержащие только один переменный домен, который может представлять собой VHH, VH или VL, который специфически связывает антиген или эпитоп независимо от других V-областей или доменов.

В предпочтительном варианте реализации конструкции антитела согласно изобретению первый и второй домены слиты с третьим доменом посредством пептидного линкера. Предпочтительный пептидный линкер был описан выше в данном документе и характеризуется аминокислотной последовательностью Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, т.е. Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), или ее полимерами, т.е. (Gly₄Ser)_x, где x представляет собой целое число, равное 1 или более (например, 2 или 3). В особенности предпочтительный линкер для слияния первого и второго доменов с третьим доменом приведен в SEQ ID NO: 1.

В предпочтительном варианте реализации конструкция антитела согласно изобретению характеризуется тем, что содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

(a) первый домен;

(b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;

(c) второй домен;

(d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;

(e) первый полипептидный мономер третьего домена;

(f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и

(g) второй полипептидный мономер третьего домена.

Конструкция антитела согласно данному изобретению содержит первый домен, который связывается с PSMA, предпочтительно с внеклеточным доменом (БКД) PSMA. Подразумевается, что термин "связывание с внеклеточным доменом PSMA" в контексте данного изобретения означает, что связывающий домен связывается с PSMA, экспрессируемым на поверхности клетки-мишени. Следовательно, первый домен в соответствии с изобретением предпочтительно связывается с PSMA, когда он экспрессируется клетками или линиями клеток с естественной экспрессией и/или клетками или линиями клеток, трансформированными или (стабильно/временно) трансфицированными PSMA. В предпочтительном варианте реализации изобретения первый связывающий домен также связывается с PSMA, когда PSMA используется в качестве молекулы "мишени" или "лиганда" в *in vitro* анализе связывания, таком как BIAcore или анализ Скэтчарда. "Клетка-мишень" может представлять собой любую прокариотическую или эукариотическую клетку, экспрессирующую PSMA на поверхности; предпочтительно клетка-мишень представляет собой клетку, которая является частью организма человека или животного, такую как конкретные экспрессирующие PSMA раковые или опухолевые клетки.

Предпочтительно первый домен связывается с PSMA/БКД PSMA человека. В дополнительном предпочтительном варианте реализации изобретения он связывается с PSMA/БКД PSMA макака. В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом реализации изобретения первый домен связывается с PSMA/БКД PSMA как человека, так и макака. "Внеклеточный домен PSMA" или "БКД PSMA" относится к области или последовательности PSMA, которая практически не содержит трансмембранные и цитоплазматические домены PSMA. Специалисту в данной области техники понятно, что трансмембранный домен, определяемый для полипептида PSMA согласно данному изобретению, определяется на основании критериев, обычно применяемых в данной области техники для определения гидрофобного домена такого типа. Точные границы трансмембранного домена могут варьироваться, но скорее всего не более чем на около 5 аминокислот в любом конце домена, специальным образом указанного в данном документе.

Предпочтительные связывающие домены, которые связываются с PSMA, описаны в WO 2010/037836, и WO 2011/121110. Любой связывающий домен для PSMA, описанный в этих заявках,

можно применять в контексте данного изобретения.

В одном аспекте изобретения конструкция антителя содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

(a) первый домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 50, 56, 68, 74, 86, 92, 104, 110, 122, 128, 140, 146, 158, 164, 176, 182, 194, 200, 212, 218, 230, 236, 248, 254, 266, 272, 284, 290, 302, 308, 320, 335, 350, 365, 380, 395, 410, 425, 440, 455, 470;

(b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;

(c) второй домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 или 187 в WO 2008/119567, или приведенной в SEQ ID NO: 15;

(d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;

(e) первый полипептидный мономер третьего домена, имеющий полипептидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24;

(f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и

(g) второй полипептидный мономер третьего домена, имеющий полипептидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.

Наряду с этим предпочтительным вариантом реализации, первый и второй домены, которые слиты посредством пептидного линкера с одноцепочечным полипептидом, содержат последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 51, 57, 69, 75, 87, 93, 105, 111, 123, 129, 141, 147, 159, 165, 177, 183, 195, 201, 213, 219, 231, 237, 249, 255, 267, 273, 285, 291, 303, 309, 321, 324, 336, 339, 351, 354, 366, 369, 381, 384, 396, 399, 411, 414, 426, 429, 441, 444, 456, 459, 471 и 474.

В одном аспекте конструкция антителя согласно изобретению характеризуется тем, что имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 52, 53, 58, 59, 70, 71, 76, 77, 88, 89, 94, 95, 106, 107, 112, 113, 124, 125, 130, 131, 142, 143, 148, 149, 160, 161, 166, 167, 178, 179, 184, 185, 196, 197, 202, 203, 214, 215, 220, 221, 232, 233, 238, 239, 250, 251, 256, 257, 268, 269, 274, 275, 286, 287, 292, 293, 304, 305, 310, 311, 322, 323, 325, 326, 337, 338, 340, 341, 352, 353, 355, 356, 367, 368, 370, 371, 382, 383, 385, 386, 397, 398, 400, 401, 412, 413, 415, 416, 427, 428, 430, 431, 442, 443, 445, 446, 457, 458, 460, 461, 472, 473, 475 и 476.

В изобретении дополнительно предложены полинуклеотид/молекула нуклеиновой кислоты, кодирующие конструкцию антителя согласно изобретению. Полинуклеотид представляет собой биополимер, состоящий из 13 или более нуклеотидных мономеров, ковалентно связанных в цепи. ДНК (такая как кДНК) и РНК (такая как мРНК) являются примерами полинуклеотидов с разной биологической функцией. Нуклеотиды представляют собой органические молекулы, служащие в качестве мономеров или субъединиц молекул нуклеиновых кислот, таких как ДНК или РНК. Молекула нуклеиновой кислоты или полинуклеотид может быть двухцепочечной или одноцепочечной, линейной или круговой. Предпочтительно она находится в векторе, который предпочтительно находится в клетке-хозяине. Указанная клетка-хозяин, например, после трансформации или трансфекции вектором или полинуклеотидом согласно изобретению способна экспрессировать конструкцию антителя. С этой целью полинуклеотид или молекула нуклеиновой кислоты функционально связаны с регуляторными последовательностями.

Генетический код представляет собой набор правил, посредством которого информация, закодированная в генетическом материале (нуклеиновых кислотах), транслируется в белок. Биологическая расшифровка в живых клетках осуществляется рибосомой, которая связывает аминокислоты в порядке, определяемом мРНК, используя молекулы тРНК для переноса аминокислот и для считывания тринуклеотидов мРНК за раз. Код определяет, как последовательности этих нуклеотидных триплетов, называемых кодонами, предопределяют, какую аминокислоту следует добавлять следующей во время синтеза белка. За некоторыми исключениями тринуклеотидный кодон в последовательности нуклеиновой кислоты предопределяет одну аминокислоту. Так как подавляющее большинство генов кодируется абсолютно одинаковым кодом, этот конкретный код часто называют каноническим или стандартным генетическим кодом. Хотя генетический код определяет белковую последовательность для данной кодирующей области, другие геномные области могут влиять на то, когда и где вырабатываются эти белки.

Кроме того, в изобретении предложен вектор, содержащий полинуклеотид/молекулу нуклеиновой кислоты согласно изобретению. Вектор представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, применяемую в качестве носителя для переноса (чужеродного) генетического материала в клетку. Термин "вектор" включает, но не ограничивается этим, плазмиды, вирусы, космиды и искусственные хромосомы. В общем случае сконструированные векторы содержат точку начала репликации, участок мультиклонирования и селективный маркер. Сам вектор в общем случае представляет собой нуклеотидную последовательность, обычно последовательность ДНК, которая содержит вставку (трансген), и более крупную последовательность, которая служит "скелетом" вектора. Современные векторы могут включать в себя дополнительные элементы помимо вставки трансгена и скелета: промотор, генетический маркер, устойчи-

вость к антибиотикам, репортерный ген, нацеливающую последовательность, метку для очистки белка. Векторы, называемые экспрессионными векторами (экспрессионными конструкциями) специально предназначены для экспрессии трансгена в клетке-мишени и в общем случае содержат регуляторные последовательности.

Термин "регуляторные последовательности" относится к последовательностям ДНК, необходимым для экспрессии функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Регуляторные последовательности, которые подходят для прокариот, например, включают промотор, необязательно, последовательность оператора и участок связывания рибосомы. Известно, что в эукариотических клетках используются промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры.

Нуклеиновая кислота является "функционально связанной", когда она находится в функциональной взаимосвязи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, ДНК для предпоследовательности или секреторной лидерной последовательности функционально связана с ДНК для полипептида, если она экспрессируется в виде белка-предшественника, который принимает участие в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности; или участок связывания рибосомы функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен так, чтобы облегчать трансляцию. В общем случае "функционально связанный" означает, что связанные последовательности ДНК являются смежными и, в случае секреторной лидерной последовательности, смежными и в фазе считывания. При этом энхансеры не должны быть смежными. Связывание осуществляется путем лигирования в удобных рестрикционных участках. Если такие участки не существуют, используют синтетические адапторы или линкеры в соответствии с традиционной практикой.

"Трансфекция" представляет собой процесс преднамеренного внесения молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов (включая векторы) в клетки-мишени. Этот термин используется в основном для невирусных методов в эукариотических клетках. Трансдукцию часто используют для описания опосредованного вирусом переноса молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов. Трансфекция клеток животных, как правило, включает открытие временных пор или "дыр" в клеточной мембране для того, чтобы сделать возможным поглощение материала. Трансфекцию можно проводить, используя фосфат кальция, путем электропорации, путем сжатия клеток или путем смешивания катионного липида с материалом для получения липосом, которые сливаются с клеточной мембраной и оставляют свой груз внутри.

Термин "трансформация" используют для описания невирусного переноса молекул нуклеиновых кислот или полинуклеотидов (включая векторы) в бактерии и также в не принадлежащие животным эукариотические клетки, включая клетки растений. Следовательно, трансформация представляет собой генетическое изменение бактериальной или не принадлежащей животному эукариотической клетки в результате прямого поглощения через клеточную (ые) мембрану (ы) из окружающей среды и последующее включение экзогенного генетического материала (молекул нуклеиновых кислот). Трансформацию можно проводить искусственными средствами. Для того, чтобы произошла трансформация, клетки или бактерии должны находиться в состоянии компетентности, которое может наступать в виде ограниченного во времени ответа на внешние условия, такие как голодание и плотность клеток.

Кроме того, в изобретении предложена клетка-хозяин, трансформированная или трансфицированная полинуклеотидом/молекулой нуклеиновой кислоты или вектором согласно изобретению. В контексте данного документа подразумевается, что термины "клетка-хозяин" или "реципиентная клетка" включают любую отдельную клетку или культуру клеток, которые могут быть или были реципиентами векторов, молекул экзогенных нуклеиновых кислот и полинуклеотидов, кодирующих конструкцию антитела согласно данному изобретению; и/или реципиентами самой конструкции антитела. Внесение соответствующего материала в клетку проводят путем трансформации, трансфекции и т.д. Также подразумевается, что термин "клетка-хозяин" включает потомство или потенциальное потомство одной клетки. Так как в последующих поколениях могут возникать определенные модификации вследствие естественной, случайной или преднамеренной мутации или вследствие влияния со стороны окружающей среды, такое потомство может в действительности не быть полностью идентичным (по морфологии или по комплексу геномной или общей ДНК) с родительской клеткой, но все равно в контексте данного документа включено в объем указанного термина. Подходящие клетки-хозяева включают прокариотические или эукариотические клетки и также включают, но не ограничиваются этим, бактерии, клетки дрожжей, клетки грибов, клетки растений и клетки животных, такие как клетки насекомых и клетки млекопитающих, например, мышей, крыс, макак или человека.

Конструкцию антитела согласно изобретению можно получать в бактериях. После экспрессии конструкцию антитела согласно изобретению выделяют из клеточной пасты *E. coli* в растворимую фракцию и затем ее можно очищать с помощью, например, аффинной или эксклюзионной хроматографии. Конечную очистку можно проводить аналогично с процессом очистки антитела, экспрессируемого, например, в клетках СНО.

Кроме прокариот, эукариотические микробы, такие как нитевидные грибы или дрожжи, являются подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии конструкции антитела согласно изобретению.

Saccharomyces cerevisiae или обычные пекарские дрожжи наиболее часто используются среди микроорганизмов-хозяев из низших эукариот. При этом большое число других родов, видов и штаммов являются общепринятыми и применимыми в данном случае, например, *Schizosaccharomyces pombe*, хозяева из *Kluyveromyces*, такие как *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilae* (ATCC 36906), *K. Thermotolerans* и *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402226); *Pichia pastoris* (EP 183070); *Candida*; *Trichoderma reesia* (EP 244234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomycetes*, такие как *Schwanniomycetes occidentalis*; и нитевидные грибы, такие как *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium*, и хозяева *Aspergillus*, такие как *A. nidulans* и *A. niger*.

Подходящие клетки-хозяева для экспрессии гликозилированной конструкции антитела согласно изобретению получены из многоклеточных организмов. Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Были определены многочисленные бакуловирусные штаммы и варианты и соответствующие перmissive клетки-хозяева насекомых, такие как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (москит), *Aedes albopictus* (москит), *Drosophila melanogaster* (плодовая мушка) и *Bombux mori*. Общедоступными являются различные вирусные штаммы для трансфекции, например, вариант L-1 *Autographa californica* NPV и штамм Bm-5 *Bombux mori* NPV, и такие вирусы можно использовать в качестве вируса в соответствии с данным изобретением, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

Растительные клеточные культуры хлопка, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томата, арабидопсиса и табака также можно использовать в качестве хозяев. Клонированные и экспрессионные векторы, применяемые для получения белков в растительной клеточной культуре, известны специалистам в данной области техники. Смотрите, например, Hiatt et al., *Nature* (1989) 342: 76-78, Owen et al. (1992) *Bio/Technology* 10: 790-794, Artsaenko et al. (1995) *The Plant J* 8: 745-750, и Fecker et al. (1996) *Plant Mol Biol* 32: 979-986.

Однако наибольший интерес представляют клетки позвоночных, а размножение клеток позвоночных в культуре (тканевой культуре) стало рутинной процедурой. Примерами применимых линий клеток-хозяев млекопитающих являются линия почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линия почки эмбриона человека (клетки 293 или 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре, Graham et al., *J. Gen Virol.* 36: 59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомяка/-DHFR (CHO, Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980)); клетки Сертоли мышей (TM4, Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76, ATCC CRL1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени серой крысы (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, 14138065); клетки опухоли молочной железы мышей (MMT 060562, ATCC CCL51); клетки TRI (Mather et al., *Annals N. Y Acad. Sci.* (1982) 383: 44-68); клетки MRC 5; клетки FS4; и линия гепатомы человека (Hep G2).

В дополнительном варианте реализации в изобретении предложен процесс для получения конструкции антитела согласно изобретению, включающий культивирование клетки-хозяина согласно изобретению, в условиях, обеспечивающих экспрессию конструкции антитела согласно изобретению, и выделение полученной конструкции антитела из культуры.

В контексте данного документа термин "культивирование" относится к *in vitro* поддержанию, дифференцировке, росту, пролиферации и/или размножению клеток в подходящих условиях в среде. Термин "экспрессия" включает любой этап, проводимый для получения конструкции антитела согласно изобретению, включая, но не ограничиваясь этим, транскрипцию, посттранскрипционную модификацию, трансляцию, посттрансляционную модификацию и секрецию.

При применении рекомбинантных технологий конструкцию антитела можно получать внутри клетки, в периплазматическом пространстве или она может непосредственно секретироваться в среду. Если конструкцию антитела получают внутри клетки, на первом этапе удаляют дебрис в виде частиц, как клеток-хозяев, так и лизированных фрагментов, например, путем центрифугирования или ультрафильтрации. В Carter et al., *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992) описана процедура для выделения антител, которые секретированы в периплазматическое пространство *E. coli*. Вкратце, клеточную пасту размораживают в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), ЭДТК и фенолметилсульфонилфторида (ФМСФ) в течение около 30 мин. Клеточный дебрис удаляют путем центрифугирования. Если антитело секретировано в среду, супернатанты из таких экспрессионных систем в общем случае сначала концентрируют, используя коммерчески доступный фильтр для концентрирования белка, например, установку для ультрафильтрации Amicon или Millipore Pellicon. На любом из вышеуказанных этапов может быть включен ингибитор протеаз, такой как ФМСФ, для ингибирования протеолиза, а антибиотики могут быть включены для предотвращения роста занесенных загрязнителей.

Конструкцию антитела согласно изобретению, полученную из клеток-хозяев, можно выделять или очищать, используя, например, хроматографию с гидроксилпатитом, гель-электрофорез, диализ и аффинную хроматографию. Также, в зависимости от предназначенного для выделения антитела, доступны другие методики очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение эта-

нолом, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на силикагеле, хроматография на гепарине-сефарозе™, хроматография на анионо- или катионообменной смоле (такой как колонка с полиаспарагиновой кислотой), хроматофокусирование, ДСН-ПААГ и осаждение сульфатом аммония. Если конструкция антитела согласно изобретению содержит домен СНЗ, для очистки применяют смолу Bakerbond ABX (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ).

Аффинная хроматография является предпочтительной методикой очистки. Матрица, к которой присоединяется аффинный лиганд, наиболее часто является агарозой, но также доступны другие матрицы. Механически стабильные матрицы, такие как стекло с контролируемым размером пор или поли(стиролдивинил)бензен, обеспечивают большую скорость потока и меньшее время обработки по сравнению с агарозой.

Кроме того, в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию антитела согласно изобретению или конструкцию антитела, полученную в соответствии со способом согласно изобретению. Для фармацевтической композиции согласно изобретению предпочтительно, чтобы однородность конструкции антитела составляла $\geq 80\%$, более предпочтительно $\geq 81\%$, $\geq 82\%$, $\geq 83\%$, $\geq 84\%$ или $\geq 85\%$, еще предпочтительнее $\geq 86\%$, $\geq 87\%$, $\geq 88\%$, $\geq 89\%$ или $\geq 90\%$, еще предпочтительнее $\geq 91\%$, $\geq 92\%$, $\geq 93\%$, $\geq 94\%$ или $\geq 95\%$ и наиболее предпочтительно $\geq 96\%$, $\geq 97\%$, $\geq 98\%$ или $\geq 99\%$.

В контексте данного документа термин "фармацевтическая композиция" относится к композиции, подходящей для введения пациенту, предпочтительно пациенту-человеку. В особенности предпочтительная фармацевтическая композиция согласно данному изобретению содержит одну или множество конструкций антител согласно изобретению, предпочтительно в терапевтически эффективном количестве. Предпочтительно фармацевтическая композиция дополнительно содержит подходящие готовые формы одного или более (фармацевтически эффективных) носителей, стабилизаторов, вспомогательных веществ, разбавителей, солюбилизаторов, поверхностно-активных веществ, эмульсификаторов, консервантов и/или адъювантов. Приемлемые составляющие композиции предпочтительно являются нетоксичными для реципиентов в применяемых дозировках и концентрациях. Фармацевтические композиции согласно изобретению включают, но не ограничиваются этим, жидкие, замороженные и лиофилизированные композиции.

Композиции согласно изобретению могут содержать фармацевтически приемлемый носитель. В общем случае в контексте данного документа "фармацевтически приемлемый носитель" означает любой и все водные и неводные растворы, стерильные растворы, растворители, буферы, например, растворы фосфатно-солевого буфера (ФСБ), воду, суспензии, эмульсии, такие как эмульсии масло/вода, различные типы смачивающих агентов, липосомы, дисперсионные среды и покрытия, которые совместимы с фармацевтическим введением, в частности, парентеральным введением. Применение таких сред и агентов в фармацевтических композициях хорошо известно в данной области техники, а композиции, содержащие такие носители, можно составлять хорошо известными традиционными способами.

В определенных вариантах реализации изобретения предложены фармацевтические композиции, содержащие конструкцию антитела согласно изобретению и дополнительно одно или более вспомогательных веществ, таких как те, которые в иллюстративных целях описаны в этом разделе и в другом месте данного документа. В этой связи вспомогательные вещества можно применять в изобретении во многих целях, таких как корректировка физических, химических или биологических свойств готовых форм, например, корректировка вязкости, и/или процессов согласно изобретению для улучшения эффективности и/или для стабилизации таких готовых форм и процессов против деградации и порчи вследствие, например, стрессов, которые возникают во время производства, перевозки, хранения, приготовления перед использованием, введения и впоследствии.

В определенных вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция может содержать составляющие материалы в целях модификации, поддержания или сохранения, например, pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, всасывания или проникновения композиции (смотрите REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company). В таких вариантах реализации изобретения подходящие составляющие материалы могут включать, но не ограничиваются этим:

аминокислоты, такие как глицин, аланин, глутамин, аспарагин, треонин, пролин, 2-фенилаланин, включая заряженные аминокислоты, предпочтительно лизин, ацетат лизина, аргинин, глутамат и/или гистидин;

противомикробные препараты, такие как антибактериальные и противогрибковые агенты;

антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, метионин, сульфит натрия или гидрогенсульфит натрия;

буферы, буферные системы или буферные агенты, которые используют для поддержания композиции при физиологическом pH или немного меньшем pH; примерами буферов являются борат, бикарбонат, Трис-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты, сукцинат, фосфат и гистидин; например, Трис-буфер с pH около 7,0-8,5;

неводные растворители, такие как пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, и инъекционные сложные органические эфиры, такие как этилолеат;

водные носители, включая воду, спиртово-водные носители, эмульсии или суспензии, включая солевые и забуференные среды;

биоразлагаемые полимеры, такие как сложные полиэфиры;

объемообразующие агенты, такие как маннит или глицин;

хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТК);

изотонические агенты и агенты, замедляющие всасывание;

комплексообразующие агенты, такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин;

наполнители;

моносахариды; дисахариды; и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); углеводы могут представлять собой нередуцирующие сахара, предпочтительно трегалозу, сахарозу, октасульфат, сорбит или ксилит;

(низкомолекулярные) белки, полипептиды или белковые носители, такие как человеческий или бычий сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины, предпочтительно человеческого происхождения;

красители и ароматизаторы;

серосодержащие восстановительные агенты, такие как глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, [альфа]-монотиоглицерин и тиосульфат натрия;

разбавители;

эмульсификаторы;

гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон;

солеобразующие противоионы, такие как натрий;

консерванты, такие как противомикробные средства, антиоксиданты, хелатирующие агенты, инертные газы и тому подобное; примерами являются бензалкония хлорид, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенолитовый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или перекись водорода;

комплексы металлов, такие как комплексы Zn-белок;

растворители и соразтворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль);

сахара и сахарные спирты, такие как трегалоза, сахароза, октасульфат, маннит, сорбит или ксилит, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, миоинзитоза, галактоза, лактит, рибит, миоинозит, галактит, глицерин, циклиты (например, инозит), полиэтиленгликоль; и многоатомные сахарные спирты;

суспендирующие агенты;

поверхностно-активные вещества или смачивающие агенты, такие как плуроники, ПЭГ, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат, тритон, трометамин, лецитин, холестерин, тилоксапал; поверхностно-активные вещества могут представлять собой детергенты, предпочтительно с молекулярной массой >1,2 кДа, и/или полиэфир, предпочтительно с молекулярной массой >3 кДа; неограничивающими примерами предпочтительных детергентов являются Твин 20, Твин 40, Твин 60, Твин 80 и Твин 85; неограничивающими примерами предпочтительных полиэфиров являются ПЭГ 3000, ПЭГ 3350, ПЭГ 4000 и ПЭГ 5000;

агенты, повышающие стабильность, такие как сахароза или сорбит;

агенты, повышающие тоничность, такие как галиды щелочных металлов, предпочтительно хлорид натрия или калия, маннит, сорбит;

средства для парентеральной доставки, включая раствор хлорида натрия, декстрозу Рингера, декстрозу и хлорид натрия, лактат Рингера или жирные масла;

средства для внутривенной доставки, включая наполнители жидкости и питательных веществ, наполнители электролитов (например, на основе декстрозы Рингера).

Для специалистов в данной области техники очевидно, что разные составляющие фармацевтической композиции (например, перечисленные выше) могут иметь разное действие, например, аминокислота может действовать в качестве буфера, стабилизатора и/или антиоксиданта; маннит может действовать в качестве объемообразующего агента и/или агента, повышающего тоничность; хлорид натрия может действовать в качестве средства для доставки и/или агента, повышающего тоничность.

Подразумевается, что композиция согласно изобретению может содержать, кроме определенного в данном документе полипептида согласно изобретению, дополнительные биологически активные агенты, в зависимости от предполагаемого применения композиции. Такие агенты могут представлять собой лекарственные препараты, действующие на желудочно-кишечную систему, цитостатические лекарственные препараты, лекарственные препараты, предотвращающие гиперурикемию, лекарственные препараты, ингибирующие иммунореакции (например, кортикостероиды), лекарственные препараты, модулирующие воспалительный ответ, лекарственные препараты, действующие на систему кровообращения, и/или агенты, такие как цитокины, известные в данной области техники. Также подразумевается, что конструкцию антитела согласно данному изобретению, применяют в совместной терапии, т.е. в комби-

нации с другим противораковым медикаментом.

В определенных вариантах реализации изобретения оптимальная фармацевтическая композиция определяется специалистом в данной области техники в зависимости, например, от предполагаемого пути введения, формата доставки и необходимой дозировки. Смотрите, например, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше. В определенных вариантах реализации изобретения такие композиции могут влиять на физическое состояние, стабильность, скорость *in vivo* высвобождения и скорость *in vivo* выведения конструкции антитела согласно изобретению. В определенных вариантах реализации изобретения основной базовый раствор или носитель в фармацевтической композиции может быть по своей природе как водным, так и неводным. Например, подходящий базовый раствор или носитель может представлять собой воду для инъекций, физиологический солевой раствор или искусственную цереброспинальную жидкость, возможно дополненные другими материалами, обычными в композициях для парентерального введения. Дополнительными типовыми базовыми растворами являются нейтральный буферный солевой раствор или солевой раствор, смешанный с сывороточным альбумином. В определенных вариантах реализации композиции конструкции антитела согласно изобретению можно готовить для хранения путем смешивания выбранной композиции, имеющей необходимую степень чистоты, с оптимальными составляющими агентами (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше) в форме лиофилизированной лепешки или водного раствора. Кроме того, в определенных вариантах реализации конструкцию антитела согласно изобретению можно готовить в виде лиофилизата, используя соответствующие вспомогательные вещества, такие как сахароза.

Если предполагается парентеральное введение, терапевтические композиции для применения в данном изобретении можно получать в форме апиrogenного, парентерально приемлемого водного раствора, содержащего необходимую конструкцию антитела согласно изобретению в фармацевтически приемлемом базовом растворе. В особенности подходящим базовым раствором для парентеральной инъекции является стерильная дистиллированная вода, в которой конструкцию антитела согласно изобретению готовят в виде стерильного, изотонического раствора, сохраняемого должным образом. В определенных вариантах реализации изобретения препарат может включать готовую форму необходимой молекулы с агентом, таким как инъекционные микросферы, биоразлагаемые частицы, полимерные соединения (такие как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), гранулы или липосомы, которые могут обеспечивать контролируемое или замедленное высвобождение продукта, который может доставляться посредством депо-инъекции. В определенных вариантах реализации изобретения также можно использовать гиалуроновую кислоту, действие которой состоит в стимуляции продления нахождения в циркуляции. В определенных вариантах реализации изобретения можно использовать имплантируемые устройства для внесения необходимой конструкции антитела.

Дополнительные фармацевтические композиции очевидны для специалистов в данной области техники, включая готовые формы, содержащие конструкцию антитела согласно изобретению в составах для замедленного высвобождения или контролируемой доставки/высвобождения. Методики приготовления различных других средств для замедленной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биоразлагаемые микрочастицы или пористые гранулы и депо-инъекции, также известны специалистам в данной области техники. Смотрите, например, заявку на международный патент № PCT/US93/00829, в которой описано контролируемое высвобождение пористых полимерных микрочастиц для доставки фармацевтических композиций. Препараты с замедленным высвобождением могут содержать полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Матрицы для замедленного высвобождения могут содержать сложные полиэфиры, гидрогели, полилактиды (описанные в патенте США № 3773919 и публикации заявки на европейский патент № EP 058481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма этил-L-глутамата (Sidman et al., 1983, *Bio-polymers* 2:547-556), поли(2-гидроксиэтил-метакрилат) (Langer et al., 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 и Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105), этиленвинилацетат (Langer et al., 1981, выше) или поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту (публикация заявки на европейский патент № EP 133988). Композиции для замедленного высвобождения также могут содержать липосомы, которые можно готовить любым из нескольких способов, известных в данной области техники. Смотрите, например, Eppstein et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3688-3692; публикации заявок на европейский патент № EP 036676; EP 088046 и EP 143949.

Конструкция антитела также может быть заключена в микрокапсулах, приготовленных, например, методами коацервации или межфазной полимеризации (например, микрокапсулы из гидроксиметилцеллюлозы или желатина и микрокапсулы из поли(метилметакрилата) соответственно), в коллоидных системах доставки лекарственного препарата (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и наночапсулы) или в макроэмульсиях. Такие методики описаны в Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980).

Фармацевтические композиции, применяемые для *in vivo* введения, как правило, предоставляются в виде стерильных препаратов. Стерилизацию можно проводить путем фильтрации через стерильные фильтровальные мембраны. Если композиция является лиофилизированной, стерилизацию с применением этого способа можно проводить до или после лиофилизации и восстановления. Композиции для па-

рентерального введения можно хранить в лиофилизированной форме или в растворе. Парентеральные композиции в общем случае помещают в контейнер, имеющий стерильное входное отверстие, например, пакет для внутривенного раствора или флакон, имеющий пробку, прокалываемую гиподермической иглой для инъекций.

Другой аспект изобретения включает самобуферизирующиеся готовые формы конструкции антитела согласно изобретению, которые можно использовать как фармацевтические композиции, как описано в заявке на международный патент WO 06138181A2 (PCT/US2006/022599). Доступны различные описания для стабилизации белков и составляющих материалов, а также способов, применяемых в связи с этим, например, Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," *Pharm Res.* 8(3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution" in: *RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE*, Carpenter and Manning, eds. *Pharmaceutical Biotechnology.* 13: 61-84 (2002), и Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", *Pharm Biotechnol.* 13: 159-75 (2002), в частности, смотрите части, относящиеся к вспомогательным веществам и связанным с ними процессам для самобуферизирующихся готовых белковых форм в соответствии с данным изобретением, в особенности к белковым фармацевтическим продуктам и процессам для применений в ветеринарии и/или медицине человека.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации изобретения можно использовать соли, например, для корректировки ионной силы и/или изотоничности готовой формы, и/или для улучшения растворимости и/или физической стабильности белка или другого ингредиента композиции в соответствии с изобретением. Как хорошо известно, ионы могут стабилизировать нативное состояние белков посредством связывания с заряженными остатками на поверхности белка и путем экранирования заряженных и полярных групп в белке и уменьшения силы их электростатических взаимодействий, взаимодействий притяжения и отталкивания. Ионы также могут стабилизировать денатурированное состояние белка посредством связывания, в частности, с денатурированными пептидными связями (--CONH) белка. Кроме того, ионное взаимодействие с заряженными и полярными группами в белке может уменьшать межмолекулярные электростатические взаимодействия и, таким образом, предотвращать или снижать агрегацию и нерастворимость белка.

Ионные молекулы существенно отличаются по своему воздействию на белки. Было разработано большое количество категоричных классификаций ионов и их воздействия на белки, которые можно использовать при приготовлении фармацевтических композиций в соответствии с изобретением. Одним из примеров является ряд Гофмейстера, в котором ионные и полярные неионные растворенные вещества упорядочены в соответствии с их воздействием на конформационную стабильность белков в растворе. Стабилизирующие растворенные вещества называются "космотропными". Дестабилизирующие растворенные вещества называются "хаотропными". Космотропы обычно используются в высоких концентрациях (например, >1-молярный сульфат аммония) для осаждения белков из раствора ("высаливание"). Хаотропы обычно используются для денатурации и/или солиubilизации белков ("всаливание"). Относительная эффективность ионов в отношении "всаливания" и "высаливания" определяет их позицию в ряде Гофмейстера.

Свободные аминокислоты можно использовать в готовых формах конструкции антитела согласно изобретению в соответствии с различными вариантами реализации изобретения в качестве объемобразующих агентов, стабилизаторов и антиоксидантов, а также для других стандартных применений. Лизин, пролин, серин и аланин можно использовать для стабилизации белков в готовой форме. Глицин применяют при лиофилизации, чтобы гарантировать правильную структуру и свойства лепешки. Аргинин можно применять для ингибирования агрегации белка, как в жидких, так и в лиофилизированных готовых формах. Метионин применяют в качестве антиоксиданта.

Полиолы включают сахара, например, маннит, сахарозу и сорбит, а также многоатомные спирты, такие как, например, глицерин и пропиленгликоль, и, в целях обсуждения в данном документе, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и родственные вещества. Полиолы являются космотропными. Они являются полезными стабилизирующими агентами как в жидких, так и в лиофилизированных готовых формах для защиты белков от процессов физической и химической деградаци. Полиолы также применяют для корректировки тоничности готовых форм. Среди полиолов, применяемых в выбранных вариантах реализации изобретения, находится маннит, обычно используемый для гарантии структурной стабильности лепешки в лиофилизированных готовых формах. Он гарантирует структурную стабильность лепешки. В общем случае его используют с лиопротектором, например, сахарозой. Сорбит и сахароза находятся среди предпочтительных агентов для корректировки тоничности и применения в качестве стабилизаторов для защиты от стрессов при замораживании-размораживании во время перевозки или приготовления нерасфасованных форм во время процесса производства. Редуцирующие сахара (которые содержат свободные альдегидные или кетоновые группы), такие как глюкоза или лактоза, могут гликировать поверхностные остатки лизина и аргинина. Следовательно, в общем случае они не находятся среди предпочтительных полиолов для применения в соответствии с этим изобретением. Кроме того, сахара, которые образуют реактивные молекулы, такие как сахароза, которая гидролизует до фруктозы и глюкозы в кислых условиях и впоследствии приводит к гликированию, в связи с этим также не находятся среди предпочтитель-

ных полиолов согласно изобретению. ПЭГ применяют для стабилизации белков и в качестве криопротектора, и в связи с этим его можно применять в данном изобретении.

Варианты реализации конструкции антитела согласно изобретению дополнительно включают поверхностно-активные вещества. Белковые молекулы могут быть восприимчивы к адсорбции на поверхности и денатурации и последующей агрегации на поверхностях раздела воздух-жидкость, твердое вещество-жидкость и жидкость-жидкость. Эти эффекты в общем случае обратно пропорциональны концентрации белка. Эти вредные взаимодействия в общем случае обратно пропорциональны концентрации белка и, как правило, усугубляются физическим взбалтыванием, таким как возникает во время перевозки и работы с продуктом. Поверхностно-активные вещества обычно используют для предотвращения, минимизации или снижения поверхностной адсорбции. В этой связи применимые поверхностно-активные вещества согласно изобретению включают полисорбат 20, полисорбат 80, другие сложные эфиры жирных кислот полиэтоксилатов сорбитана и полоксамер 188. Поверхностно-активные вещества также обычно используют, чтобы регулировать конформационную стабильность белка. Применение поверхностно-активных веществ в этой связи является белок-специфическим, так как любое заданное поверхностно-активное вещество будет стабилизировать одни белки и дестабилизировать другие.

Полисорбаты чувствительны к окислительной деградации и часто в том виде, в котором они поставляются, содержат достаточные количества пероксидов, чтобы вызывать окисление боковых цепей белковых остатков, в особенности метионина. Следовательно, полисорбаты нужно использовать осторожно, а при использовании их следует применять в самой низкой эффективной концентрации. В этой связи полисорбаты являются примером общего правила, что вспомогательные вещества следует применять в самой низкой эффективной концентрации.

Варианты реализации готовых форм конструкции антитела согласно изобретению дополнительно включают применение одного или более антиоксидантов. Вредное окисление белков в фармацевтических готовых формах можно в некоторой степени предотвратить, поддерживая надлежащие внешние уровни кислорода и температуры и избегая воздействия света. Также можно использовать вспомогательные вещества антиокислительного действия для предотвращения окислительной деградации белков. Среди применимых в этой связи антиоксидантов находятся восстановительные агенты, ловушки для кислорода/свободных радикалов и хелатирующие агенты. Антиоксиданты для применения в терапевтических белковых готовых формах в соответствии с изобретением предпочтительно растворимы в воде и сохраняют свою активность в продолжение срока годности продукта. ЭДТК является предпочтительным в этой связи антиоксидантом в соответствии с изобретением. Антиоксиданты могут повреждать белки. Например, восстановительные агенты, такие как, в частности, глутатион, могут разрушать внутримолекулярные дисульфидные связи. Таким образом, антиоксиданты для применения в изобретении выбирают так, чтобы, помимо прочего, устранить или существенно снизить возможность повреждения ими белков в готовой форме.

Готовые формы в соответствии с изобретением могут содержать ионы металлов, которые являются кофакторами белков и необходимы для образования координационных комплексов белков, например, как цинк, необходимый для образования некоторых суспензий инсулина. Ионы металлов также могут ингибировать некоторые процессы, которые разрушают белки. Однако ионы металлов также могут катализировать физические и химические процессы, которые разрушают белки. Ионы магния (10-120 мМ) можно использовать для ингибирования изомеризации аспарагиновой кислоты до изоаспарагиновой кислоты. Ионы Ca^{+2} (до 100 мМ) могут повышать стабильность человеческой дезоксирибонуклеазы. Однако Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} могут дестабилизировать рекомбинантную человеческую ДНКазу. Аналогично, Ca^{+2} и Sr^{+2} могут стабилизировать фактор VIII, при этом он может дестабилизироваться Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , Cu^{+2} и Fe^{+2} , а его агрегация может повышаться ионами Al^{+3} .

Варианты реализации готовых форм конструкции антитела согласно изобретению дополнительно включают применение одного или более консервантов. Консерванты необходимы при разработке многодозовых парентеральных готовых форм, которые предполагают более одного набора из одного и того же контейнера. Их основной функцией является ингибирование роста микроорганизмов и гарантия стерильности продукта на протяжении срока годности или срока применения лекарственного продукта. Обычно используемые консерванты включают бензиловый спирт, фенол и м-крезол. Хотя консерванты давно применяют с низкомолекулярными парентеральными средствами, разработка белковых готовых форм, которые содержат консерванты, может оказаться проблематичной. Консерванты почти всегда оказывают дестабилизирующее действие (агрегация) на белки, и это стало основным фактором в ограничении их применения в многодозовых белковых готовых формах. На данный момент большинство белковых лекарственных препаратов готовят исключительно для одного применения. При этом, в случае возможности многодозовых готовых форм, они имеют дополнительное преимущество обеспечения удобства для пациента и повышения конкурентоспособности на рынке. Хороший пример связан с человеческим гормоном роста (hGH), когда разработка содержащих консерванты готовых форм привела к коммерческой реализации более удобных, многодозовых шприцов-ручек. На сегодня по меньшей мере четыре таких устройства-ручки, содержащих готовые формы hGH с консервантами, доступны на рынке. Нордитропин (жидкий, Novo Nordisk), нутропин AQ (жидкий, Genentech) и генотропин (лиофилизированный, с двух-

камерным картриджем, Pharmacia & Upjohn) содержат фенол, тогда как соматроп (Eli Lilly) приготовлен с м-крезолом. При приготовлении и разработке содержащих консерванты дозированных форм необходимо учитывать несколько аспектов. Эффективная концентрация консерванта в лекарственном продукте должна быть оптимизирована. Это требует тестирования данного консерванта в дозированной форме в концентрационном диапазоне, который обеспечивает противомикробную эффективность, не нарушая стабильность белка.

Как можно ожидать, разработка жидких готовых форм, содержащих консерванты, является более сложной, чем в случае лиофилизированных готовых форм. Высушенные сублимацией продукты можно лиофилизировать без консерванта и восстанавливать с помощью содержащего консервант разбавителя во время использования. Это уменьшает время, в течение которого консервант находится в контакте с белком, что существенно минимизирует связанный с ним риск в отношении стабильности. В случае жидких готовых форм эффективность и стабильность консерванта должна сохраняться в продолжении всего срока годности продукта (от около 18 до 24 месяцев). Важным моментом, который стоит отметить, является то, что эффективность консерванта должна проявляться в конечной готовой форме, содержащей активный лекарственный препарат и все вспомогательные компоненты.

Описанные в данном документе конструкции антител также можно готовить в виде иммунолипосом. "Липосома" представляет собой маленькую везикулу, состоящую из различного типа липидов, фосфолипидов и/или поверхностно-активного вещества, которую используют для доставки лекарственного препарата в организм млекопитающих. Компоненты липосомы обычно имеют бислоевое упорядочение, аналогично липидному упорядочению биологических мембран. Липосомы, содержащие конструкцию антитела, готовят известными в данной области техники способами, такими как описанные в Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); патентах США № 4485045 и 4544545; и WO 97/38731. Липосомы с увеличенным временем нахождения в циркуляции описаны в патенте США № 5013556. В особенности применимые липосомы можно создавать методом обращенно-фазового выпаривания с липидной композицией, содержащей фосфатидилхолин, холестерин и ПЭГ-derivатизированный фосфатидилэтаноламин (ПЭГ-ФЭ). Липосомы пропускают через фильтры с определенным размером пор для получения липосом с необходимым диаметром. Фрагменты Fab' конструкции антитела согласно данному изобретению можно конъюгировать к липосомам, как описано в Martin et al. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982), посредством реакции дисульфидного обмена. В липосоме необязательно содержится химиотерапевтический агент. Смотрите Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989).

После приготовления фармацевтической композиции ее можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, твердого вещества, кристалла или в виде обезвоженного или лиофилизированного порошка. Такие готовые формы можно хранить в готовой для применения форме или в форме (например, лиофилизированной), которую восстанавливают перед введением.

Биологическую активность определенной в данном документе фармацевтической композиции можно определить, например, с помощью анализа цитотоксичности, как описано в нижеприведенных примерах, в WO 99/54440 или в Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12). В контексте данного документа "эффективность" или "in vivo эффективность" относится к ответу на терапию фармацевтической композицией согласно изобретению, оцениваемому по стандартизированным критериям ответа NCI (Национального института рака). Успех или in vivo эффективность терапии с применением фармацевтической композиции согласно изобретению относится к эффективности композиции в отношении ее предполагаемой цели, т.е. способности композиции оказывать желаемое действие, т.е. уничтожение патологических клеток, например, опухолевых клеток. In vivo эффективность можно отслеживать с помощью общепринятых стандартных методов для соответствующих нозологических форм, включая, но не ограничиваясь этим, число белых кровяных телец, лейкоцитарную формулу, сортировку флуоресцентно-активированных клеток, аспирацию костного мозга. Кроме того, можно использовать различные специфические для заболевания клинические химические параметры и другие общепринятые стандартные методы. Кроме того, можно использовать компьютерную томографию, рентгеновское исследование, ядерную магнитно-резонансную томографию (например, для оценки ответа на основании критериев Национального института рака [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Доклад на международном семинаре по стандартизированным критериям ответа для неходжкинских лимфом. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999 Apr;17(4):1244]), сканирование методом позитронно-эмиссионной томографии, число белых кровяных телец, лейкоцитарную формулу, сортировку флуоресцентно-активированных клеток, аспирацию костного мозга, биопсию/гистологию лимфатических узлов и различные специфические в отношении лимфомы клинические химические параметры (например, уровень лактат дегидрогеназы) и другие общепринятые стандартные методы.

Другой основной задачей при разработке лекарственных препаратов, таких как фармацевтическая композиция согласно изобретению, является прогнозируемая модуляция фармакокинетических свойств. С этой целью можно устанавливать фармакокинетический профиль кандидатного лекарственного препа-

рата, т.е. профиль фармакокинетических параметров, которые влияют на способность конкретного лекарственного препарата лечить заданное патологическое состояние. Фармакокинетические параметры лекарственного препарата, влияющие на способность лекарственного препарата лечить определенную нозологическую форму, включают, но не ограничиваются этим: время полужизни, объем распределения, пресистемный метаболизм в печени и степень связывания сыворотки крови. На эффективность заданного лекарственного агента может влиять каждый из вышеупомянутых параметров. Подразумеваемой характеристикой конструкций антител согласно данному изобретению, предоставляемых со специфической модальностью ФС, является то, что они влекут за собой, например, разницу в фармакокинетическом поведении. Нацеливающая конструкция антитела с продленным временем полужизни в соответствии с данным изобретением предпочтительно демонстрирует неожиданно возросшее время удержания *in vivo* по сравнению с "каноническими" не-HLE версиями указанной конструкции антитела.

"Время полужизни" означает время, за которое выводится 50% введенного лекарственного препарата посредством биологических процессов, например, метаболизма, экскреции и т.д. Под "пресистемным метаболизмом в печени" подразумевается подверженность лекарственного препарата метаболизму после первого контакта с печенью, т.е. во время первого прохождения через печень. "Объем распределения" означает степень удержания лекарственного препарата в различных компартментах организма, таких как, например, внутриклеточное и внеклеточное пространство, ткани или органы и т.д., и распределение лекарственного препарата в этих компартментах. "Степень связывания сыворотки крови" означает предрасположенность лекарственного препарата к взаимодействию и связыванию с белками сыворотки крови, такими как альбумин, что приводит к снижению или утрате биологической активности лекарственного препарата.

Фармакокинетические параметры также включают биодоступность, временной лаг (Tlag), Tmax, скорость всасывания, начало действия и/или Cmax для заданного количества вводимого лекарственного препарата. "Биодоступность" означает количество лекарственного препарата в кровяном компартменте. "Временной лаг" означает время запаздывания между введением лекарственного препарата и его выявлением и возможностью определения в крови или плазме. "Tmax" представляет собой время, через которое достигается максимальная концентрация лекарственного препарата в крови, а "Cmax" представляет максимальную концентрацию в крови, получаемую при применении данного лекарственного препарата. На время, необходимое для достижения концентрации лекарственного препарата в крови или ткани, которая требуется для биологического действия, влияют все параметры.

Фармакокинетические параметры биспецифических конструкций антител, демонстрирующих межвидовую специфичность, которые можно определить в доклинических исследованиях на животных для отличных от шимпанзе приматов, как указано выше, также приведены, например, в публикации Schlereth et al. (*Cancer Immunol. Immunother.* 20 (2005), 1-12).

В предпочтительном аспекте изобретения фармацевтическая композиция является стабильной по меньшей мере в течение четырех недель при около -20°C. Как очевидно из прилагающихся примеров, качество конструкции антитела согласно изобретению по сравнению с качеством соответствующих существующему уровню техники конструкций антител можно исследовать, используя разные системы. Понятно, что эти исследования согласуются с "ICH Harmonised Tripartite Guideline: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products Q5C and Specifications: Test procedures and Acceptance Criteria for Biotech Biotechnological/Biological Products Q6B" и, следовательно, выбраны так, чтобы обеспечивать указывающий на стабильность профиль, который обеспечивает достоверность выявления изменений в идентичности, чистоте и эффективности продукта. Общепринято, что термин чистота является относительным термином. Вследствие действия гликозилирования, деамидирования или другой гетерогенности абсолютную чистоту биотехнологического/биологического продукта, как правило, следует оценивать более чем одним способом, а полученное значение чистоты зависит от способа. В целях испытания стабильности, исследования в отношении чистоты должны фокусироваться на способах определения продуктов деградации.

Для оценки качества фармацевтической композиции, содержащей конструкцию антитела согласно изобретению, можно проводить анализ, например, анализируя содержание растворимых агрегатов в растворе (ВМК, оцениваемые с помощью эксклюзионной хроматографии). Предпочтительно, чтобы стабильность в течение по меньшей мере четырех недель при около -20°C характеризовалась содержанием менее 1,5% ВМК, предпочтительно менее 1% ВМК.

Предпочтительная готовая форма конструкции антитела в виде фармацевтической композиции может, например, содержать компоненты готовой формы, описанные ниже.

Готовая форма: фосфат калия, L-аргинина гидрохлорид, дигидрат трегалозы, полисорбат 80 при pH 6,0

Другие примеры оценки стабильности конструкции антитела согласно изобретению в форме фармацевтической композиции приведены в прилагающихся примерах 4-12. В этих примерах варианты реализации конструкций антител согласно изобретению исследуют в отношении разных стрессовых условий в разных фармацевтических готовых формах, а результаты сравнивают с другими продлевающими

время полужизни (HLE) форматами биспецифической конструкции антитела, вовлекающей Т-клетки, известными в данной области техники. В общем случае подразумевается, что конструкции антител, имеющие специфическую модальность FC, в соответствии с данным изобретением, как правило, являются более стабильными в широком ряде стрессовых условий, таких как температурный и световой стресс, по сравнению с конструкциями антител, имеющими разные HLE-форматы, и в отсутствие какого-либо HLE-формата (т.е. "каноническими" конструкциями антител). Указанная температурная стабильность может относиться как к пониженной (ниже комнатной температуры, включая замораживание), так и к повышенной (выше комнатной температуры, включая температуры до или выше температуры тела) температуре. Как понятно специалисту в данной области техники, такая улучшенная стабильность в отношении стресса, которого трудно избежать при клинической практической реализации, делает конструкцию антитела более безопасной, так как при клинической практической реализации возникает меньше продуктов деградации. Соответственно, указанная повышенная стабильность означает повышенную безопасность.

В одном варианте реализации предложена конструкция антитела согласно изобретению или конструкция антитела, полученная в соответствии со способом согласно изобретению, для применения в предотвращении, лечении или уменьшении интенсивности рака, коррелирующего с экспрессией PSMA или сверхэкспрессией PSMA, нарушения, такого как рак предстательной железы.

Описанные в данном документе готовые формы применимы в качестве фармацевтических композиций в лечении, уменьшении интенсивности и/или предотвращении описанного в данном документе патологического состояния у нуждающегося в этом пациента. Термин "лечение" относится как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам. Лечение включает применение или введение готовой формы в организм, выделенную ткань или клетку пациента, который имеет заболевание/нарушение, симптом заболевания/нарушения или предрасположенность к заболеванию/нарушению, с целью лечения, излечения, смягчения, облегчения, изменения, исправления, уменьшения интенсивности, улучшения или воздействия на заболевание, симптом заболевания или предрасположенность к заболеванию.

В контексте данного документа термин "уменьшение интенсивности" относится к любому улучшению состояния заболевания у пациента, имеющего заболевание, указанное ниже в данном документе, посредством введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела в соответствии с изобретением. Такое улучшение также может проявляться как замедление или прекращение прогрессирования заболевания пациента. В контексте данного документа термин "предотвращение" означает предупреждение появления или повторного появления пациента, имеющего опухоль или рак, или метастатический рак, указанные ниже в данном документе, посредством введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела в соответствии с изобретением.

Термин "заболевание" относится к любому патологическому состоянию, на которое лечение описанными в данном документе конструкцией антитела или фармацевтической композицией оказало бы благоприятное действие. Он включает хронические и острые нарушения или заболевания, включая те патологические состояния, которые являются причиной предрасположенности млекопитающего к рассматриваемому заболеванию.

"Новообразование" представляет собой аномальное разрастание ткани, обычно, но не всегда образующее массу. При образовании массы оно также называется "опухолью". Новообразования или опухоли могут быть доброкачественными, потенциально злокачественными (предраковыми) или злокачественными. Злокачественные новообразования обычно называют раком. Они обычно инвазируют и разрушают окружающую ткань и могут образовывать метастазы, т.е. они распространяются в другие части, ткани или органы тела. Следовательно, термин "метастатический рак" включает метастазы в другие ткани или органы помимо тех, где находится исходная опухоль. Лимфомы и лейкозы являются лимфоидными новообразованиями. В целях данного изобретения они также включены в термины "опухоль" или "рак".

Термин "вирусное заболевание" описывает заболевания, которые возникают в результате вирусной инфекции у субъекта.

В контексте данного документа термин "иммунологическое нарушение" описывает, наряду с обычным определением этого термина, иммунологические нарушения, такие как аутоиммунные заболевания, гиперчувствительность, иммунодефицит.

В одном варианте реализации в изобретении предложен способ лечения или уменьшения интенсивности рака, коррелирующего с экспрессией PSMA или сверхэкспрессией PSMA, включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела согласно изобретению или конструкции антитела, полученной в соответствии со способом согласно изобретению. Биспецифическое одноцепочечное антитело к PSMAxCD3 в особенности благоприятно для терапии рака, предпочтительно солидных опухолей, более предпочтительно карцином и рака предстательной железы.

Термины "нуждающийся субъект" или "нуждающийся в лечении" включают тех, у кого уже есть нарушение, а также тех, у кого необходимо предотвратить нарушение. Нуждающийся субъект или "пациент" включает людей или других млекопитающих субъектов, которые получают профилактическое или терапевтическое лечение.

Конструкция антитела согласно изобретению в общем случае сконструирована для конкретных путей и способов введения, для конкретных дозировок и частоты введения, для конкретных вариантов лечения конкретных заболеваний, с определенными диапазонами биодоступности и способности сохранения в организме, помимо прочего. Материалы композиции предпочтительно готовят в концентрациях, которые являются приемлемыми для данного участка введения.

Таким образом, готовые формы и композиции могут быть получены в соответствии с изобретением для доставки любым подходящим путем введения. В контексте данного изобретения пути введения включают, но не ограничиваются этим

местные пути (такие как накожный, ингаляционный, назальный, глазной, аурикулярный/ушной, вагинальный, мукозальный);

энтеральные пути (такие как пероральный, желудочно-кишечный, подъязычный, сублабиальный, буккальный, ректальный);

парентеральные пути (такие как внутривенный, внутриартериальный, внутрикостный, внутримышечный, внутримозговой, интрацеребровентрикулярный, эпидуральный, интрастекальный, подкожный, внутривнутрибрюшинный, экстраамниотический, внутрисуставной, внутрисердечный, внутрикожный, внутриочаговый, внутриматочный, интравезикальный, интравитреальный, трансдермальный, интраназальный, трансмукозальный, интрасиновиальный, интралюминальный).

Фармацевтические композиции и конструкции антител согласно данному изобретению в особенности применимы для парентерального введения, например, подкожной или внутривенной доставки, например, путем инъекции, такой как болюсная инъекция, или путем инфузии, такой как непрерывная инфузия.

Фармацевтические композиции можно вводить с помощью устройства медицинского назначения. Примеры устройств медицинского назначения для введения фармацевтических композиций описаны в патентах США № 4475196; 4439196; 4447224; 4447233; 4486194; 4487603; 4596556; 4790824; 4941880; 5064413; 5312335; 5312335; 5383851 и 5399163.

В частности, в данном изобретении предложено непрерывное введение подходящей композиции. В качестве неограничивающего примера непрерывное или по существу непрерывное, т.е. продолжительное введение можно реализовать с помощью небольшой насосной системы, носимой пациентом, для дозирования подачи терапевтического агента в организм пациента. Фармацевтическую композицию, содержащую конструкцию антитела согласно изобретению, можно вводить, используя указанные насосные системы. В общем случае такие насосные системы известны в данной области техники, а их работа обычно основана на периодической замене картриджей, содержащих предназначенный для инфузии терапевтический агент. Замена картриджа в такой насосной системе влечет за собой временное прерывание или какое-либо иное прерывание потока терапевтического агента в организм пациента. В таком случае фаза введения до замены картриджа и фаза введения после замены картриджа все равно рассматриваются в рамках значения фармацевтических средств и способов согласно изобретению, которые вместе составляют одно "непрерывное введение" такого терапевтического агента.

Продолжительное или непрерывное введение конструкций антител согласно изобретению может быть внутривенным или подкожным и осуществляться посредством устройства для доставки жидкости или небольшой насосной системы, включая механизм направления жидкости для направления жидкости из резервуара и приводной механизм для приведения в действие направляющего механизма. Насосные системы для подкожного введения могут содержать иглу или канюлю для прокалывания кожи пациента и доставки подходящей композиции в организм пациента. Указанные насосные системы могут быть напрямую прикреплены или присоединены к коже пациента независимо от вен, артерий и кровяных сосудов, обеспечивая, таким образом, прямой контакт между насосной системой и кожей пациента. Насосная система может быть присоединена к коже пациента в течение от 24 часов до нескольких суток. Насосная система может иметь небольшой размер с резервуаром для небольших объемов. В качестве неограничивающего примера объем резервуара для предназначенной для введения подходящей фармацевтической композиции может составлять от 0,1 до 50 мл.

Продолжительное введение также может осуществляться трансдермальным путем посредством пластыря, носимого на коже и заменяемого через определенные интервалы. Специалисту в данной области техники известны подходящие для этой цели системы на основе пластырей для доставки лекарственного препарата. Следует отметить, что трансдермальное введение в особенности подходит для непрерывного введения, так как замену первого израсходованного пластыря можно преимущественно осуществлять одновременно с размещением нового, второго пластыря, например, на поверхности кожи, непосредственно вблизи первого израсходованного пластыря и непосредственно перед удалением первого израсходованного пластыря. Не возникает проблем с прерыванием потока или прекращением действия питающей ячейки.

Если фармацевтическая композиция была лиофилизирована, лиофилизированный материал сначала восстанавливают в соответствующей жидкости перед введением. Лيوфилизированный материал можно восстанавливать, например, в бактериостатической воде для инъекций (БВДИ), физиологическом солевом растворе, фосфатно-солевом буфере (ФСБ) или в том самом составе, в котором белок находился пе-

ред лиофилизацией.

Композиции согласно данному изобретению можно вводить субъекту в подходящей дозе, которую можно определить, например, с помощью исследований с повышением дозы путем введения возрастающих доз описанной в данном документе конструкции антитела согласно изобретению, демонстрирующей межвидовую специфичность, отличным от шимпанзе приматам, например, макакам. Как указано выше, описанную в данном документе конструкцию антитела согласно изобретению, демонстрирующую межвидовую специфичность, преимущественно можно использовать в идентичной форме в доклинических исследованиях на отличных от шимпанзе приматах и в качестве лекарственного препарата на людях. Режим дозирования определяется лечащим врачом и клиническими факторами. Как хорошо известно в области медицины, дозировки для любого пациента зависят от многих факторов, включая массу пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное предназначенное для введения соединение, пол, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие одновременно вводимые лекарственные препараты.

Термин "эффективная доза" или "эффективная дозировка" определяется как количество, достаточное для достижения или по меньшей мере частичного достижения желаемого эффекта. Термин "терапевтически эффективная доза" определяется как количество, достаточное для излечения или по меньшей мере частичного прерывания заболевания и его осложнений у пациента, который уже страдает от заболевания. Количества или дозы, эффективные для этого применения, зависят от предназначенного для лечения патологического состояния (показания), доставляемой конструкции антитела, терапевтического контекста и целей, тяжести заболевания, предыдущей терапии, клинической истории пациента и его ответа на терапевтический агент, пути введения, размера (массы тела, поверхности тела или размера органов) и/или состояния (возраста и общего состояния здоровья) пациента, и общего состояния собственной иммунной системы пациента. Надлежащую дозу можно корректировать в соответствии с решением лечащего врача так, чтобы ее можно было вводить пациенту за один раз или посредством серии введений и с целью получения оптимального терапевтического эффекта.

Типичная дозировка может находиться в диапазоне от около 0,1 мкг/кг до около 30 мг/кг или более, в зависимости от вышеупомянутых факторов. В конкретных вариантах реализации изобретения дозировка может находиться в диапазоне от 1,0 мкг/кг до около 20 мг/кг, оптимально от 10 мкг/кг до около 10 мг/кг или от 100 мкг/кг до около 5 мг/кг.

Терапевтически эффективное количество конструкции антитела согласно изобретению предпочтительно приводит к снижению тяжести симптомов заболевания, повышению частоты или длительности бессимптомных периодов или предотвращению нарушений или недееспособности вследствие поражения заболеванием. Для лечения вышеописанных заболеваний, коррелирующих с PSMA, терапевтически эффективное количество конструкции антитела согласно изобретению, в данном случае конструкции анти-PSMA/анти-CD3 антитела, предпочтительно ингибирует рост клеток или рост опухоли по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 80% или по меньшей мере на около 90% по сравнению с не проходящими лечение пациентами. Способность соединения ингибировать рост опухоли можно оценить в животной модели, прогностической в отношении эффективности.

Фармацевтическую композицию можно вводить в виде единственного терапевтического средства или в комбинации с дополнительными вариантами терапии, такими как противораковая терапия, в случае необходимости, например, другими белковыми и небелковыми лекарственными препаратами. Эти лекарственные препараты можно вводить одновременно с композицией, содержащей определенную в данном документе конструкцию антитела согласно изобретению, или отдельно, до или после введения указанной конструкции антитела в определенные временные интервалы и в определенных дозах.

В контексте данного документа термин "эффективная и нетоксичная доза" относится к переносимой дозе конструкции антитела согласно изобретению, которая является достаточно высокой, чтобы приводить к уничтожению патологических клеток, элиминации опухоли, уменьшению размеров опухоли или стабилизации заболевания без или практически без основных токсических явлений. Такие эффективные и нетоксичные дозы можно определить, например, с помощью исследований с повышением дозы, описанных в данной области техники, и они должны быть ниже дозы, индуцирующей серьезные нежелательные побочные явления (дозолимитирующая токсичность, ДЛТ).

В контексте данного документа термин "токсичность" относится к токсическому действию лекарственного препарата, проявляемому в нежелательных явлениях или серьезных нежелательных явлениях. Эти побочные явления могут относиться к отсутствию переносимости лекарственного препарата в целом и/или отсутствию локальной переносимости после введения. Токсичность также может включать тератогенное или карциногенное действие, вызываемое лекарственным препаратом.

В контексте данного документа термин "безопасность", "in vivo безопасность" или "переносимость" определяет введение лекарственного препарата без индукции серьезных нежелательных явлений непосредственно после введения (локальная переносимость) и на протяжении более длительного периода применения лекарственного препарата. "Безопасность", "in vivo безопасность" или "переносимость" можно оценивать, например, через регулярные интервалы во время лечения и в следующий за ним период. Измерения включают клиническую оценку, например, органные проявления, и исследование лабора-

торных аномалий. Можно проводить клиническую оценку и записывать/зашифровывать отклонения от нормальных результатов в соответствии со стандартами NCI-CTC и/или MedDRA. Органные проявления могут включать такие критерии, как аллергия/иммунология, кровь/костный мозг, сердечная аритмия, коагуляция и тому подобное, как описано, например, в общих терминологических критериях нежелательных явлений v3.0 (CTCAE). Лабораторные параметры, которые можно исследовать, включают, например, гематологию, клиническую химию, профиль коагуляции и анализ мочи, а также исследование других жидкостей организма, таких как сыворотка, плазма, лимфатическая или спинномозговая жидкость, ликвор и тому подобное. Таким образом, безопасность можно оценить, например, посредством физического осмотра, методов визуализации (т.е. ультразвукового исследования, рентгеновского исследования, КТ-сканов, магнито-резонансной томографии (МРТ), других измерений с помощью технических устройств (т.е. электрокардиограммы), показателей жизнедеятельности, путем измерения лабораторных параметров и записи нежелательных явлений. Например, нежелательные явления у отличных от шимпанзе приматов в применениях и способах согласно изобретению можно исследовать гистопатологическими и/или гистохимическими способами.

Вышеуказанные термины также перечислены, например, в Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived Pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997.

И наконец, в изобретении предложен набор, содержащий конструкцию антитела согласно изобретению или полученную в соответствии со способом согласно изобретению, фармацевтическую композицию согласно изобретению, полинуклеотид согласно изобретению, вектор согласно изобретению и/или клетку-хозяина согласно изобретению.

В контексте данного изобретения термин "набор" означает два или более компонентов, один из которых соответствует конструкции антитела, фармацевтической композиции, вектору или клетке-хозяину согласно изобретению, упакованным вместе в контейнере, приемнике или каким-либо другим образом. Следовательно, набор может быть описан как набор продуктов и/или принадлежностей, достаточный для достижения определенной цели, который может поступать в продажу в виде отдельной единицы.

Набор может содержать один или более приемников (таких как флаконы, ампулы, контейнеры, шприцы, бутылки, пакеты) любой подходящей формы, размера и из любого материала (предпочтительно водонепроницаемого, например, пластика или стекла), содержащих конструкцию антитела или фармацевтическую композицию согласно данному изобретению в подходящей для введения дозировке (смотрите выше). Набор может дополнительно содержать указания по применению (например, в форме вкладыша или инструкции по применению), средства для введения конструкции антитела согласно данному изобретению, такие как шприц, насос, инфузионное устройство и тому подобное, средства для восстановления конструкции антитела согласно изобретению и/или средства для разведения конструкции антитела согласно изобретению.

В изобретении также предложены наборы для устройства для однократного введения. Набор согласно изобретению также может содержать первый приемник, содержащий высушенную/лиофилизированную конструкцию антитела, и второй приемник, содержащий водную готовую форму. В определенных вариантах реализации данного изобретения предложены наборы, содержащие однокамерные и многокамерные предварительно наполненные шприцы (например, шприцы с жидкостью или шприцы с лиофилизатом).

Следует отметить, что в контексте данного документа формы единственного числа включают множественное число, если иное четко не следует из контекста. Таким образом, например, ссылка на "реагент" включает один или более таких разных реагентов, а ссылка на "способ" включает ссылку на эквивалентные этапы и способы, известные специалистам в данной области техники, которые можно модифицировать или заменить на описанные в данном документе способы.

Если не указано иное, термин "по меньшей мере", предвещающий ряд элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в ряде. Специалисты в данной области техники признают наличие или смогут определить, используя всего лишь рутинные эксперименты, многие эквиваленты конкретным вариантам реализации изобретения, описанным в данном документе. Подразумевается, что такие эквиваленты включены в данное изобретение.

В контексте данного документа термин "и/или" включает значение "и", "или" и "все или любая комбинация элементов, объединяемых указанным термином".

В контексте данного документа термин "около" или "приблизительно" означает в пределах 20%, предпочтительно в пределах 10% и более предпочтительно в пределах 5% заданной величины или диапазона. При этом он включает также конкретное число, например, около 20 включает 20.

Термины "меньше чем" или "больше чем" включают конкретное число. Например, меньше чем 20 означает меньше или равно. Аналогично, более чем или больше чем означает более или равно или больше или равно соответственно.

В тексте описания и в нижеприведенной формуле изобретения, если иное не следует из контекста, слово "содержать" и его вариации, такие как "содержит" и "содержащий" следует понимать как подразумевающие включение указанного целого числа или этапа или группы целых чисел или этапов, но не ис-

ключение любого другого целого числа или этапа или группы целых чисел или этапов. В контексте данного документа термин "содержащий" можно заменить термином "вещающий" или "включающий" или иногда термином "имеющий".

В контексте данного документа выражение "состоящий из" исключает любой элемент, этап или ингредиент, не указанный в заявляемом элементе. В контексте данного документа выражение "состоящий преимущественно из" не исключает материалы или этапы, которые не оказывают материального влияния на основные и новые характеристики заявляемого предмета.

В каждом случае любой из терминов "содержащий", "состоящий преимущественно из" и "состоящий из" можно заменить любым из оставшихся двух терминов.

Следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными методологиями, протоколами, материалами, реагентами и веществами и т.д., описанными в данном документе, и, следовательно, может варьироваться. Употребляемая в данном документе терминология используется только в целях описания конкретных вариантов реализации, и не подразумевает ограничения данного изобретения, которое определяется исключительно формулой изобретения.

Все публикации и патенты, цитируемые в тексте этого описания (включая все патенты, патентные заявки, научные публикации, спецификации производителей, инструкции и т.д.), выше или ниже, в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки. Ничто в данном документе не следует воспринимать как признание того, что данное изобретение не имеет права противопоставлять такое описание на основании более раннего изобретения. В тех случаях, когда включенный посредством ссылки материал противоречит или не согласуется с данным описанием, это описание имеет приоритет относительно любого такого материала.

Лучшее понимание данного изобретения и его преимуществ обеспечат следующие примеры, приведенные исключительно в иллюстративных целях. Подразумевается, что примеры не ограничивают объем данного изобретения каким-либо образом.

Пример 1. Индуцированная ViTE® экспрессия CD69 на Т-клетках в отсутствие клеток-мишеней.

Выделенные МКПК от здоровых человеческих доноров культивировали с возрастающими количествами биспецифических HLE-конструкций антител к мишени В/CD3 или мишени А/CD3 в течение 48 ч. Экспрессию маркера активации CD69 на Т-клетках определяли с помощью иммуоокрашивания и точной цитометрии и антиген-специфических конъюгатов mAb.

Независимую от мишени активацию Т-клеток в контексте повышающей регуляции CD69 наблюдали для всех анти-CDH 19 конструкций, но наиболее выраженной она была для молекул гетеро-Fc и кросстел. Повышение регуляции CD69 scFc-конструкцией против мишени В происходило при более высоких концентрациях, а амплитуда была немного ниже по сравнению с другими конструкциями на основе Fc.

В случае конструкций против мишени А практически не наблюдали независимую от мишени активацию Т-клеток для scFc-содержащей молекулы, тогда как конструкция гетеро-Fc индуцировала сильное повышение регуляции CD69 на клеточной поверхности Т-клеток в отсутствие клеток-мишеней.

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую конструкциями антител ViTE®, содержащими одноцепочечный Fc или гетеро-Fc слияние в С-конце, оценивали для следующих конструкций.

Конструкции антител ViTE® (серийные разведения: 0,1 пМ-2 мкМ).

a. Мишень А-I2C scFc; 1,14 мг/мл;

b. Мишень А гетеро-Fc; 1,02 мг.

Эффекторные клетки - человеческие МКПК (3 донора; #065, #823, #836 (scFc) #401, #415, #433 (гетеро-Fc); #590, #595, 598, #605 (Х-тело)).

Время инкубации - 48 ч.

Определение экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с помощью проточного цитометра и антиген-специфических конъюгатов mAb. Результаты смотрите на фиг. 2.

Независимую от мишени активацию Т-клеток, индуцируемую конструкциями антител ViTE®, содержащими одноцепочечный Fc, гетеро-Fc или слияние кросстела в С-конце, оценивали для следующих конструкций:

Конструкции антител ViTE® (серийные разведения: 0,1 пМ-2 мкМ).

c. Мишень В x I2C-scFc; 245,3 мг/мл;

d. Мишень В гетеро-Fc; 1 мг/мл;

e. Мишень В кросстело; 6,3 мг/мл.

Эффекторные клетки - человеческие МКПК (от 3 до 4 доноров; #386, #392, #401 (scFc) #282, #284, #287 (гетеро-Fc)). Время инкубации - 48 ч.

Определение экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с помощью проточного цитометра и антиген-специфических конъюгатов mAb. Результаты смотрите на фиг. 3.

Независимую от мишени активацию Т-клеток в контексте повышающей регуляции CD69 наблюдали для нескольких биспецифических конструкций антител, исследуемых в этих анализах. Повышающая регуляция CD69 в общем случае была более выражена для канонических конструкций антител ViTE®,

конструкций антител на основе гетеро-Fc и кросстела по сравнению с соответствующими конструкциями антител на основе scFc. Повышение регуляции CD69 конструкциями scFc происходило в общем случае при немного больших концентрациях, а амплитуда была немного ниже по сравнению с другими двумя конструкциями на основе Fc.

В случае scFc-конструкции антитела против мишени В не наблюдали независимую от мишени активацию Т-клеток, тогда как конструкции антител на основе гетеро-Fc и Х-тела индуцировали сильное повышение регуляции CD69 на клеточной поверхности Т-клеток в отсутствие клеток-мишеней. Следовательно, что scFc-конструкция антитела в соответствии с настоящим изобретением демонстрирует преимущество, так как неспецифическая активация Т-клеток, на что в данном случае указывает повышение регуляции CD69, является нежелательной в специфической иммунотерапии.

Материалы и методы.

Мишень В.

Независимая от мишени активация Т-клеток, индуцируемая конструкциями антител ViTE®, содержащими одноцепочечный Fc, для следующей конструкции.

1. Конструкция антитела ViTE® (серийные разведения: 1,3 пМ-20 нМ);

1. Мишень В-scFc;

2. Эффекторные клетки - человеческие МКПК (3 донора);

3. Время инкубации - 48 ч;

4. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии CD69 на Т-клетках CD4+ и CD8+ с применением PE-Cy7-конъюгированного mAb, специфического в отношении CD69.

Пример 2

Очищенные конструкции антител ViTE® наносили на планшет Maxisorb в снижающейся концентрации (100 нМ, 1:4 разведение). После 3х промывок ФСБ-Т и блокирования ФСБ/3% (масс./об.) БСА (60 мин, 37°C) объединенную человеческую плазму инкубировали в течение 60 мин, при 80 об/мин при комнатной температуре. После 3х промывок добавляли мышинное моноклональное антитело, специфическое в отношении субъединицы А человеческого C1q (CC1q) (Thermo MA1-83963, 1:500) в течение 60 мин, при 80 об/мин при комнатной температуре, после описанных этапов промывки козье антимышиное Fc-РОХ mAb (1:5000) инкубировали в течение 60 мин, при 80 об/мин при комнатной температуре. После дополнительной промывки инкубировали ТМБ-субстрат и прекращали после колориметрической реакции путем добавления H₂SO₄. Поглощение определяли на 450 нм.

Результат: Как изображено на фиг. 4, при высоких концентрациях конструкция ViTE® на основе гетеро-Fc (квадраты) демонстрировала более высокие сигналы связывания в отношении человеческого CC1q по сравнению с конструкцией ViTE® на основе одноцепочечного Fc (треугольники). В качестве отрицательного контроля использовали каноническую конструкцию антитела ViTE® (круги), которая не демонстрировала существенного связывания CC1q.

Пример 3. Фармакокинетика конструкций антител ViTE®, слитых с продлевающими время полужизни модалностями.

Две нацеленные на PSMA конструкции антител ViTE® исследовали на яванских макаках в контексте фармакокинетических (ФК) исследований. Одна конструкция антитела ViTE® была слита с продлевающим время полужизни (HLE) компонентом scFc, тогда как другую использовали в виде единой, не продлевающей время полужизни (не-HLE) "канонической" конструкции антитела ViTE®. Соответствующая номенклатура обоих молекул кратко обобщена в табл. 4 ниже.

Таблица 4

Номенклатура соединений двух однодозовых конструкций антител ViTE®

синоним соединения	название исследуемого соединения	мишень
Соединение 11a	PM 76-B10-scFc	PSMA
Соединение 11b	MTR112-5	

Конструкцию антитела ViTE®-HLE (соединение 11a) вводили в виде внутривенной болюсной инъекции, каноническую конструкцию антитела - в виде непрерывной внутривенной инфузии (соединение 11b). Для сравнения фармакокинетических параметров обеих конструкций антител изображена только конечная фаза, начинающаяся непосредственно после завершения инфузии, для канонической конструкции антитела PSMA-ViTE®. Конструкции антител ViTE® вводили в линейном, фармакокинетически релевантном диапазоне доз, составляющем 15 мкг/кг (соединение 11a) и 15,4 мкг/кг/сутки (соединение 11b), соответственно. Для возможности сравнения приведенные сывороточные концентрации нормализованы относительно дозы и нормализованы относительно молекулярной массы (указанной в нмолях).

В случае каждого из вышеприведенных соединений использовали группу из двух животных. Собирали образцы крови и готовили сыворотку для определения сывороточных концентраций. Сывороточные

уровни конструкции антитела ViTE® определяли с помощью иммуноанализа. "Сандвич"-ИФА анализ проводили путем захвата с помощью специфического нацеленного на ViTE® антитела, тогда как антитело, направленное против CD3-связывающей части конструкции, использовали для выявления. Профили сывороточная концентрация - время использовали для определения ФК-параметров.

Моменты сбора образцов крови приведены для обоих дизайнов исследования в табл. 5 ниже.

Таблица 5

Время сбора образцов крови во время ФК-исследований.

время сбора образцов крови конструкция антитела HLE; [ч] после начала инфузии	время сбора образцов крови каноническая конструкция антитела; [ч] после начала инфузии
0,085	167,76
0,25	168,96
0,5	172,08
1	175,92
4	180,00
8	192,00
24	
48	
72	
168	
240	
336	

Фармакокинетика двух конструкций антител ViTE®-HLE приведена в качестве примера. Каждое соединение представляет одну конструкцию антитела ViTE®, слитую с продлевающим время полужизни компонентом scFc или оставленную в виде канонической молекулы. Для всех белков сывороточные уровни подлежали количественной оценке для всех моментов времени у всех животных после введения конструкции антитела ViTE®-HLE. (Фиг. 5).

Фармакокинетические параметры определяли, используя стандартные методы некомпартментного анализа (НКА). Используя некомпартментный анализ, оценили следующие ФК-параметры: ППК_{беск.} (площадь под кривой сывороточная концентрация - время), Vss (объем распределения в стационарном состоянии), CL (системное выведение) и терминальное $t_{1/2}$ (терминальное время полужизни).

ФК-параметры для каждого исследуемого соединения обобщены в виде среднего по n=2 в табл. 6 ниже.

Таблица 6

Фармакокинетические параметры двух нацеленных на PSMA конструкций антител ViTE®, исследуемые на яванских макаках

исследуемое соединение	терминальное $t_{1/2}$ [ч]	ППК _{беск.} [нормализация к 15 мкг/кг] [ч*нг/мл]	CL [мл/ч/ кг]	Vss [мл/ кг]
Соединение 11a	214	43014	0,4	98
Соединение 11b	6	7763	13,5	1132

Как правило, ФК-профиль для канонических конструкций антител PSMA-ViTE® демонстрирует очень крутое снижение профиля сывороточной концентрации, связанное с механизмом выведения этих канонических белков. Нацеленная на PSMA конструкция антитела ViTE®-scFc с продленным временем полужизни демонстрирует двухфазное, экспоненциальное снижение после введения каждого отдельного исследуемого соединения у яванских макаков.

В целом, конструкция антитела PSMA-ViTE® (соединение 11a), слитая с scFc HLE-модальностью, демонстрирует среднюю ППК_{беск.}, составляющую 43014 ч*нг/мл, значение системного выведения 0,4 мл/ч/кг, а также соответствующий объем распределения 98 мл/кг. Соединение 11b, каноническая, нацеленная на PSMA конструкция антитела ViTE® без продления времени полужизни демонстрирует быстрое выведение, составляющее 13,5 мл/ч/кг, приводящее к низкой представленности в сыворотке, составляющей 7763 ч*нг/мл.

Разница в фармакокинетическом поведении двух разных исследованных конструкций антител ViTE® является примером преимущества нацеленной на PSMA конструкции антитела ViTE®-scFc с продленным временем полужизни над соответствующей канонической не-HLE версией, в особенности в терминах времени удержания вещества в организме.

Пример 4.

В предварительно составленных лекарственных веществах, содержащих очищенные конструкции антител мишень A-hALB, мишень A-hFc и мишень A-scFc соответственно, проводили замену буфера посредством ультрафильтрации/диафильтрации с применением мембран с номинальным отсечением по молекулярной массе (НОММ) 10 кДа. Конечную готовую форму получали путем добавления концентрированных исходных растворов. Полученные в результате готовые формы для каждой конструкции перечислены в табл. 7. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл. Приготовленные конструкции антител к мишени A наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутилкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при 20, 5, 25 и 37°C. Один флакон с каждой версией подвергали пяти циклам замораживания и размораживания (З/Р). Целевая температура замораживания составляла 29°C. Целевая температура размораживания составляла 2°C. Скорость изменения составляла приблизительно 0,3 К/мин.

Подготовленные сотрудники оценивали видимые частицы в соответствии с методом, описанным Ph Eur 2.9.20. Число видимых частиц на флакон приведено в табл. 7. Число видимых (крупнее 125 мкм) белковых частиц было больше для конструкции мишень A-hFc по сравнению как с конструкцией мишень A-hALB, так и мишень A-scFc.

Таблица 7

Число видимых белковых частиц на флакон для подверженных и не подверженных стрессу (Т0) образцов, содержащих разные конструкции ViTE® против мишени А с продленным временем полужизни

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	
Готовая форма						
Число видимых (>125 мкм) белковых частиц на флакон						
Т0	0	0	1	0	0	
5 циклов З/Р	0	2	2	0	1	
2н 5°C	0	2	2	0	0	
2н 25°C	0	2	1	0	0	
2н 37°C	0	2	2	0	0	
4н -20°C	0	2	1	0	0	
4н 5°C	0	1	2	0	0	
4н 25°C	0	2	2	0	0	
4н 37°C	0	2	2	0	0	

Вышеописанные образцы также анализировали методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). ЭХ-УЭЖХ проводили на УЭЖХ-системе AcquityH-Class (Waters), используя 150 мм колонку Acquity UPLC BEH200 SEC (Waters). Температура колонки была установлена на 25°C. Разделение размерных вариантов обеспечивали применением изократического метода со скоростью потока 0,4 мл/мин. Подвижная фаза состояла из 100 мМ фосфата натрия, 250 мМ NaCl при pH 6,8. Время анализа составляло в целом 6,0 минут. Образцы держали при 8°C в автодозаторе до проведения анализа. Инжектировали общее количество белка 3 мкг. Чтобы избежать загрязнения после каждого образца проводили промежуточную инъекцию 40% ацетонитрила. Выявление базировалось на флуоресцентной эмиссии (возбуждение на 280 нм, эмиссия на 325 нм). Интегрирование пиков проводили с помощью программного обеспечения Empower®. Относительная площадь под кривой ВМК представлена в табл. 8.

Конструкции антител на основе Fc демонстрировали более низкое содержание ВМК в варианте готовой формы G40MSuT, чем в K60RTrT, независимо от стрессовых условий. Стало очевидно, что конструкция мишень A-scFc содержала меньше ВМК, чем мишень A-hFc в обоих препаратах G40MSuT, а также K60RTrT. Мишень A-scFc в своей предпочтительной готовой форме (G40MSuT) была менее предрасположена к образованию ВМК, чем мишень A-hALB, приготовленная в K60RTrT. В предыдущих экспериментах этот буфер демонстрировал улучшенный стабилизирующий потенциал для конструкций на основе hALB.

Таблица 8

Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных и не подверженных стрессу (Т0) препаратах конструкций антител мишень А hALB, hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	
%ВМК						
Т0	1,8	6,7	3,3	2,5	1,3	
5 циклов З/Р	2,0	7,2	4,1	3,0	1,5	
2н 5°C	н. и.	н. и.	н. и.	2,9	1,1	
2н 25°C	н. и.	6,6	2,7	2,4	0,5	
2н 37°C	2,6	6,3	2,1	2,7	0,3	
4н -20°C	5,9	8,7	1,6	6,6	0,3	
4н 5°C	2,0	8,2	2,8	3,6	0,6	
4н 25°C	2,2	6,8	2,6	2,7	0,4	
4н 37°C	3,5	7,6	1,9	4,3	0,3	

н. и.=не исследовано

Распространенность химических модификаций после теплового стресса (инкубации при 37°C) отслеживали с помощью пептидного картирования. Образцы белка ферментативно расщепляли, а полученные в результате пептиды разделяли, используя обращенно-фазовую хроматографию. Элюат из колонки инжестировали непосредственно в источник ионов масс-спектрометра для идентификации и количественного определения пептидов.

Для достижения максимального покрытия проводили два отдельных ферментативных расщепления: одно трипсином, а одно химотрипсином. В каждом случае белки денатурировали гуанидиний хлоридом, а затем восстанавливали дитиотреитолом (ДТТ). После инкубации в ДТТ свободные цистеиновые остатки алкилировали путем добавления йодоуксусной кислоты. Затем для образцов проводили замену буфера на 50 мМ Трис, pH 7,8, для расщепления. Трипсин и химотрипсин добавляли в отдельные реакционные пробирки в соотношении 1:10 (образец:фермент) каждого. Расщепление образцов проводили в течение 30 мин при 37°C и гасили реакцию добавлением трифторуксусной кислоты.

5 мкг каждого продукта расщепления отдельно инжестировали в обращенно-фазовую колонку Zorbax SB-C18 (Agilent #859700-902), уравновешенную в 0,1% (об./об.) муравьиной кислоты (МК). Применяли 156-минутный градиент из до 90% ацетонитрила, содержащего 0,1% МК, для элюирования пептидов непосредственно в источник ионов для электрораспыления масс-спектрометра Q-Exactive Plus (Thermo Scientific). Данные получали в зависимом от данных режиме, используя метод топ-12, в котором за полным сканированием (разрешение 70000; диапазон сканирования 200 2000 m/z) следует индуцируемая высокоэнергетическим соударением диссоциация (HCD) 12 наиболее распространенных ионов (разрешение 17500).

Пептиды идентифицировали на основании точных масс- и tandemных масс-спектров, используя внутрिलाбораторное программное обеспечение. Результаты идентификации подтверждали вручную. Относительные количества модифицированных и немодифицированных пептидов рассчитывали на основании распространенности ионов, используя программное обеспечение Pinpoint (Thermo Scientific).

Процентное содержание химических модификаций определяющих комплементарность областей (CDR) и продлевающей время полужизни части (hALB или Fc), определенное в препаратах конструкций антител мишень А-hALB, -hFc и -scFc, приведено в табл. 9. При сравнении аналогичных условий приготовления становится очевидно, что в целом химические модификации были наименее распространены в scFc-конструкциях.

Таблица 9

Обобщенная информация по химическим модификациям в подверженных и не подверженных стрессу (Т0) препаратах конструкций антигел мишень А-hALB, -hFc и -scFc, определенным с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
№N101 деамидирования (CDR)					
Т0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
2н 37°C	0,7	0,8	3,0	0,7	3,2
4н 37°C	1,3	н. и.	8,5	н. и.	6,4
№N162 деамидирования (CDR)					
Т0	3,0	1,7	1,9	2,3	2,5
2н 37°C	15,9	11,6	2,7	15,0	3,3
4н 37°C	26,8	н. и.	3,7	н. и.	4,1
№M279 окисления (CDR)					
Т0	0,6	1,4	1,6	0,6	1,0
2н 37°C	1,2	0,8	0,8	0,6	1,0
4н 37°C	0,9	н. и.	0,8	н. и.	0,6
№N348 деамидирования (CDR)					
Т0	0,5	3,2	3,3	0,5	0,9
2н 37°C	20,5	21,6	1,9	9,4	1,3
4н 37°C	22,8	н. и.	2,0	н. и.	2,9
№N351 деамидирования (CDR)					
Т0	0,2	2,9	2,6	0,5	1,0
2н 37°C	6,6	12,7	0,9	3,8	0,4
4н 37°C	8,7	н. и.	0,8	н. и.	0,8
№M530 окисления (Fc)					
Т0	н. п.	3,9	4,1	2,6	3,2
2н 37°C	н. п.	9,0	3,1	4,0	4,3
4н 37°C	н. п.	н. и.	3,4	н. и.	3,5
№N603 деамидирования (Fc)					
Т0	н. п.	1,3	1,9	1,3	1,4
2н 37°C	н. п.	7,9	4,6	7,0	5,6
4н 37°C	н. п.	н. и.	6,9	н. и.	8,1
№M706 окисления (Fc)					
Т0	н. п.	3,2	3,6	1,5	2,1
2н 37°C	н. п.	6,0	2,8	2,1	2,5
4н 37°C	н. п.	н. и.	2,6	н. и.	2,0
№M587 окисления (hALB)					
Т0	1,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

2н 37°C	2,2	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	2,3	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%М623 окисления (hALB)					
T0	1,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
2н 37°C	2,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	3,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%М798 окисления (hALB)					
T0	1,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
2н 37°C	3,3	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	3,5	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%М829 окисления (hALB)					
T0	8,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
2н 37°C	42,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
4н 37°C	44,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

н. п.=не применимо; н. и.=не исследовано.

Пример 5.

Конструкции антител мишень A-hALB, -hFc, -scFc, приготовленные так, как описано в примере 4, подвергали эксперименту со скачком pH. Концентрация исходных материалов составляла 1,0 мг/мл. В стеклянный флакон наливали объем 0,38 мл каждого стартового материала. После предварительного кондиционирования при 37°C растворы дополняли 20-кратным объемом фосфатно-солевого буфера (ФСБ), который состоял из 0,090 М фосфата калия, 0,480 М фосфата натрия (оба двухосновные), 0,052 М хлорида калия и 2,76 М NaCl. Дополненные образцы инкубировали при 37°C в течение двух недель. После инкубации их анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ, используя метод, описанный в примере 4, а процентное содержание ВМК приведено в табл. 10. При сравнении всех конструкций, приготовленных в K60RTrT, содержание ВМК возрастало в следующем порядке: hALB<scFc<hFc. Конструкция мишень A-scFc также демонстрировала более низкое содержание ВМК, чем мишень A-hFc при приготовлении в G40MSuT.

Таблица 10

Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок pH+2н 37°C) препаратах конструкций антител мишень A-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%ВМК					
2н 37°C	1,5	8,3	7,1	5,4	5,1

Пример 6.

Конструкции антител мишень A-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в примере 4, подвергали стрессу, вызываемому встряской. Концентрация исходных материалов составляла 1,0 мг/мл. Объем 0,5 мл каждого раствора фильтровали через соответствующий 0,22 мкм фильтр и наливали во флаконы из стекла 3сс. Флаконы помещали в пластиковую коробку, убедившись, что флаконы не смещаются внутри коробки во время встряски. Коробку помещали на орбитальный встряхиватель. Образцы встряхивали при 500 об/мин в течение 65 часов. Видимые частицы оценивали в соответствии с методом, описанным Ph Eur 2.9.20. Этот метод осуществляли подготовленные сотрудники. Число видимых частиц на флакон приведено в табл. 11. Видимые белковые частицы наблюдали только в препаратах мишень A-hFc.

Таблица 11

Число видимых белковых частиц на флакон в подверженных встряске образцах

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Число видимых (>125 мкм) белковых частиц на флакон					
65 ч, 500 об/мин	0	1	1	0	0

Вышеуказанные образцы также анализировали методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). Применяли тот же метод, который описан в примере 4. Содержание ВМК в образцах после встряски приведено в табл. 12. Образование ВМК было наиболее выражено для конст-

рукции антитела мишень А-hFc при сравнении препаратов К60RTrT. ВМК были больше распространены в случае конструкции мишень А-hFc, чем мишень А-scFc.

Таблица 12

Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок рН+2н 37°C) препаратах мишень А-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	К60RTrT	К60RTrT	G40MSuT	К60RTrT	G40MSuT
%ВМК					
65 ч, 500 об/мин	1,8	5,8	2,4	1,8	0,3

Пример 7.

Конструкции антител мишень А-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в примере 4, подвергали воздействию видимого и УФА-света (фотостресс). Во всех препаратах общая концентрация белка составляла 1 мг/мл. Белковые растворы фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм и наливали в 0,5 мл флаконы из стекла типа I. Конструкции мишень А-hALB и -scFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света и 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м² соответственно. Конструкцию мишень А-hFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света без УФА-света и 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м² УФА-света соответственно. Температуру в камере устанавливали на 25°C. После воздействия света образцы анализировали путем визуального осмотра (табл. 13), ЭХ-УЭЖХ (табл. 14) и пептидного картирования (табл. 15). Вышеуказанные методы осуществляли в соответствии с процедурами, описанными в примере 4. Хотя конструкции антител мишень А-hALB и -scFc подвергали воздействию более высоких доз УФА-света, видимых белковых частиц не наблюдали, тогда как образцы конструкции антитела мишень А-hFc демонстрировали по одной видимой белковой частице на флакон в обоих испытаниях, независимо от приготовления.

Таблица 13

Обобщенная информация по числу видимых белковых частиц на флакон в препаратах конструкций антител мишень А-hALB, -hFc и -scFc, определенному после воздействия света

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	К60RTrT	К60RTrT	G40MSuT	К60RTrT	G40MSuT
Число видимых (>125 мкм) белковых частиц на флакон					
T0	0	0	1	0	0
Испытание 1	0 ¹⁾	1 ²⁾	1 ²⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾
Испытание 2	0 ³⁾	1 ⁴⁾	1 ⁴⁾	0 ³⁾	0 ³⁾

¹⁾ 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²⁾ 0,2 Млк видимого света без УФА-света, ³⁾ 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴⁾ 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

Количество ВМК возрастало в следующем порядке: конструкция антитела мишень А-hALB < -scFc < -hFc, когда белок был приготовлен в К60RTrT. Количество ВМК могло быть снижено для конструкций на основе Fc при приготовлении в G40MSuT. При этом ВМК снова были менее выражены для конструкции мишень А-scFc. Оказалось, что конструкция антитела мишень А-hFc в особенности чувствительна к воздействию УФА-света.

Таблица 14

Обобщенная информация по содержанию ВМК в препаратах конструкций антител мишень А-hALB, -hFc и -scFc, определенному после воздействия света с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
Готовая форма	К60RTrT	К60RTrT	G40MSuT	К60RTrT	G40MSuT
%ВМК					
T0	1,8	6,7	3,3	2,5	1,3
Испытание 1	1,8 ¹⁾	6,3 ²⁾	2,5 ²⁾	2,1 ¹⁾	0,4 ¹⁾
Испытание 2	2,0 ³⁾	11,0 ⁴⁾	2,1 ⁴⁾	2,4 ³⁾	0,3 ³⁾

¹⁾ 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²⁾ 0,2 Млк видимого света без УФА-света, ³⁾ 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴⁾ 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

Процентное содержание химических модификаций определяющих комплементарность областей (CDR) и продлевающей время полужизни части (hALB или Fc), определенное в препаратах конструкций

антител мишень А-hALB, -hFc и -scFc, приведено в табл. 15. При сравнении аналогичных условий приготовления становится очевидно, что в целом химические модификации были наименее распространены в scFc-конструкциях.

Таблица 15

Обобщенная информация по химическим модификациям в препаратах конструкций антител мишень А-hALB, hFc и -scFc, определенным после воздействия света с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB	hFc		scFc	
	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
№N101 деамидирования (CDR)					
T0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
Испытание 1	0,2 ¹⁾	н. и.	0,3 ²⁾	н. и.	0,5 ¹⁾
Испытание 2	0,2 ³⁾	н. и.	0,6 ⁴⁾	н. и.	0,7 ³⁾
№N162 деамидирования (CDR)					
T0	3,0	1,7	1,9	2,3	2,5
Испытание 1	3,0 ¹⁾	н. и.	2,1 ²⁾	н. и.	2,7 ¹⁾
Испытание 2	3,6 ³⁾	н. и.	3,1 ⁴⁾	н. и.	2,8 ³⁾
№M279 окисления (CDR)					
T0	0,6	1,4	1,6	0,6	1,0
Испытание 1	0,8 ¹⁾	н. и.	2,6 ²⁾	н. и.	0,6 ¹⁾
Испытание 2	1,0 ³⁾	н. и.	6,3 ⁴⁾	н. и.	0,7 ³⁾
№N348 деамидирования (CDR)					
T0	0,5	3,2	3,3	0,5	0,9
Испытание 1	0,4 ¹⁾	н. и.	2,7 ²⁾	н. и.	0,2 ¹⁾
Испытание 2	0,9 ³⁾	н. и.	3,9 ⁴⁾	н. и.	0,2 ³⁾
№N351 деамидирования (CDR)					
T0	0,2	2,9	2,6	0,5	1,0
Испытание 1	0,4 ¹⁾	н. и.	2,0 ²⁾	н. и.	0,3 ¹⁾
Испытание 2	0,5 ³⁾	н. и.	2,6 ⁴⁾	н. и.	0,3 ³⁾
№M530 окисления (Fc)					
T0	н. п.	3,9	4,1	2,6	3,2
Испытание 1	н. п.	н. и.	7,6 ²⁾	н. и.	3,1 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. и.	21,8 ⁴⁾	н. и.	4,1 ³⁾
№M706 окисления (Fc)					
T0	н. п.	3,2	3,6	1,5	2,1
Испытание 1	н. п.	н. и.	6,5 ²⁾	н. и.	1,8 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. и.	17,8 ⁴⁾	н. и.	2,7 ³⁾
№M587 окисления (hALB)					
T0	1,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	1,5	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	2,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
№M623 окисления (hALB)					
T0	1,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	4,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	4,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
№M798 окисления (hALB)					
T0	1,4	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	2,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	3,1	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
№M829 окисления (hALB)					
T0	8,9	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	31,0	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	25,2	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

н. п.=не применимо; н. и.=не исследовано

Пример 8.

Конструкцию антитела мишень A-hALB готовили в K60RTrT, а конструкцию антитела мишень A-scFc готовили в G40MSuT в соответствии с процедурой, описанной в примере 4. Общая концентрация белка составляла 0,05 мг/мл. Стеклянные (боросиликат, тип I, 13 мм 3сс флакон от West, арт. № 68000375) и полипропиленовые контейнеры для испытаний (2 мл с O-кольцом, например, от Sarstedt, арт. № 72.694.005) наполняли 500 мкл исследуемого раствора. Исследуемый раствор оставляли на пять минут в первом контейнере для испытаний. Затем отбирали 150 мкл аликвоту для анализа. Оставшийся исследуемый раствор (350 мкл) последовательно переносили из одного контейнера для испытаний в следующий (всего пять контейнеров). В каждом флаконе раствор оставляли на пять минут перед следующим переносом. На каждом этапе переноса использовали один и тот же наконечник для пипетки. Такое же испытание проводили, используя 30 мл поликарбонатные бутылки (Nalgene, PCS-000295 с крышкой, PP/20-415/ZTPE). В случае этого типа контейнера первый контейнер наполняли 5 мл. После отбора 150 мкл аликвоты оставшийся объем переносили из одного контейнера для испытаний в следующий (в соответствии с процедурой, описанной выше). Образцы, полученные из контейнера #1 и #5 анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ (методом, аналогичным описанному в примере 4). Дополнительно проводили выявление белка с помощью детектора с ФДМ (280 нм), чтобы определить концентрацию белков. Процентное восстановление белка из каждого контейнера для испытаний приведено в табл. 16. Было показано, что восстановление белка было более выражено для конструкции антитела мишень A-scFc, чем для конструкции антитела мишень A-hALB, независимо от типа контейнера.

Таблица 16

Восстановление белка из разных типов контейнеров для конструкций антител мишень A-hALB и -scFc, определенное с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	scFc
Готовая форма	K60RTrT	G40MSuT
%Восстановления белка (от номинального)		
Стекло типа	80,0	92,0
I		
Полипропилен	87,0	97,3
Поликарбонат	87,0	96,0

Пример 9.

Конструкцию антитела мишень A-hALB готовили в K60RTrT, а конструкцию антитела мишень A-scFc готовили в K60RTrT и G40MSuT в соответствии с процедурой, описанной в примере 4. Общая концентрация белка составляла 1,0 мг/мл. 1950 мкл каждого исследуемого раствора дополняли 50 мкл 1000 м. д. кремниевого стандартного раствора (Specpure от AlfaAesar, Арт. № 38717), что приводило к получению 25 м. д. дополненного образца. Не дополненный исследуемый раствор служил в качестве контрольного образца. Дополненный исследуемый раствор с добавкой, а также контрольный образец наливали во флаконы из стекла типа I и инкубировали при 37°C в течение 24 часов. Все образцы анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ в соответствии с методом, описанным в примере 4, чтобы оценить количества ВМК (табл. 17).

Таблица 17

Обобщенная информация по содержанию ВМК в препаратах мишень A-hALB и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ после дополнения 25 м. д. кремния

Конструкция	hALB	scFc	
Готовая форма	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT
Δ %ВМК (по сравнению с не дополненным контролем)			
25 м. д. дополнение	1,0	1,0	0,2

Пример 10.

В предварительно составленных лекарственных веществах, содержащих очищенные конструкции антител мишень С (сс)-hALB, мишень С (сс)-hFc и мишень С (сс)-scFc соответственно, проводили замену буфера посредством ультрафильтрации/диафильтрации с применением мембран с номинальным отсечением по молекулярной массе (НОММ) 10 кДа. Конечную готовую форму получали путем добавления концентрированных исходных растворов. Полученные в результате готовые формы для каждой конструкции приведены в табл. 18. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл. Приготовленные конструкции мишень С (сс)-наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутылкаучу-

ковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при -20, 5, 25 и 37°C. Один флакон с каждой версией подвергали пяти циклам замораживания и размораживания (З/Р). Целевая температура замораживания составляла -29°C. Целевая температура размораживания составляла 2°C. Скорость изменения составляла приблизительно 0,3 К/мин. Вышеописанные образцы также анализировали методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). ЭХ-УЭЖХ проводили в соответствии с методом, описанным в примере 4. При приготовлении в K60RTtT количество ВМК в не подвергавшихся стрессу образцах возрастало в следующем порядке: scFc < hALB < hFc. Наименее выраженное повышение количества ВМК после стресса, связанного с замораживанием и размораживанием, наблюдали для scFc-конструкции. hFc-конструкция антитела оказалась наиболее предрасположенной к образованию ВМК при 20°C. Содержание ВМК повышалось после четырех недель хранения при 5°C. Образование ВМК в этих условиях было более выраженным для конструкций на основе Fc, чем для конструкций на основе альбумина. В K60RTtT не наблюдали существенного повышения количества ВМК при повышенных температурах хранения (25 и 37°C). При приготовлении в G40MSuT все конструкции продемонстрировали сходное содержание ВМК в не подвергавшихся стрессу образцах. Повышение во время замораживания и размораживания больше отличалось в случае конструкций на основе Fc, если сравнивать с конструкциями на основе альбумина. В G40MSuT hFc-конструкция была наименее стабильной при хранении при 20°C. Значительное повышение количества ВМК при хранении в жидком виде наблюдали только для hALB-конструкции.

Таблица 18

Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных и не подверженных стрессу (Т0) препаратах конструкций антител мишень С (cc)-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTtT	G40MSuT	K60RTtT	G40MSuT	K60RTtT	G40MSuT
Готовая форма						
%ВМК						
Т0	1,5	0,3	2,7	0,3	1,3	0,3
5 циклов З/Р	2,0	0,5	3,1	0,7	1,6	0,7
2н -20°C	н. и.	н. и.	н. и.	н. и.	1,5	0,5
2н 5°C	н. и.	н. и.	н. и.	н. и.	1,8	0,2
2н 25°C	1,7	0,6	2,3	0,2	1,3	0,2
2н 37°C	1,9	0,7	1,8	0,2	1,2	0,2
4н -20°C	1,6	0,4	4,2	1,5	1,7	0,9
4н 5°C	1,9	0,3	3,3	0,3	2,1	0,4
4н 25°C	1,4	0,6	2,2	0,2	1,4	0,4
4н 37°C	1,3	0,7	2,0	0,1	1,4	0,3

н. и.=не исследовано

Распространенность химических модификаций после теплового стресса (инкубации при 37°C) отслеживали с помощью пептидного картирования в соответствии с методом, описанным в примере 4. Процентное содержание химических модификаций определяющих комплементарность областей (CDR), определенное в препаратах мишень С (cc)-hALB, -hFc и -scFc, приведено в табл. 19. В целом, конструкция мишень С (cc)-scFc демонстрировала наименьшее количество химических модификаций в CDR. Стало очевидным, что в особенности деамидирование в CDR было наименее выраженным для scFc-конструкции.

Таблица 19

Обобщенная информация по химическим модификациям в подверженных и не подверженных стрессу (Т0) препаратах конструкций антител мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, определенным с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Готовая форма						
%M34 окисления (CDR)						
Т0	1,0	1,8	1,0	1,4	1,7	1,9
2н 37°C	0,9	1,3	0,9	1,1	1,0	1,7
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	1,6	н. и.	1,8
%D103 изомеризации (CDR)						
Т0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6
2н 37°C	4,0	4,6	4,5	4,4	5,8	7,3
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	8,0	н. и.	12,4
%M290 окисления (CDR)						
Т0	0,7	1,4	0,8	1	1,3	1,4
2н 37°C	0,7	1,0	0,8	0,8	0,8	1,3
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	1,2	н. и.	1,6
%N359 деамидирования (CDR)						
Т0	5,8	11,4	5,3	6,3	0,4	0,5
2н 37°C	19,3	5,8	11,2	2,8	7,0	0,9
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	2,9	н. и.	2,2
%N362 деамидирования (CDR)						
Т0	5,4	8,7	3,9	4,0	0,2	0,3
2н 37°C	13,5	3,6	6,7	1,2	3,1	0,3
4н 37°C	н. и.	н. и.	н. и.	1,4	н. и.	0,7

н. п.=не применимо; н. и.=не исследовано

Пример 11.

Конструкции антител мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в примере 4, подвергали эксперименту со скачком pH. Концентрация исходных материалов составляла 1,0 мг/мл. В стеклянный флакон наливали объем 0,38 мл каждого стартового материала. После предварительного кондиционирования при 37°C растворы дополняли 20-кратным объемом фосфатно-солевого буфера (ФСБ), который состоял из 0,090 М фосфата калия, 0,480 М фосфата натрия (оба двухосновные), 0,052 М хлорида калия и 2,76 М NaCl. Дополненные образцы инкубировали при 37°C в течение двух недель. После инкубации их анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ, используя метод, описанный в примере 4, а процентное содержание ВМК приведено в табл. 20. Конструкции мишень С (сс)-scFc демонстрировали наименьшее содержание ВМК после скачка pH по сравнению с конструкциями мишень С (сс)-hALB и -hFc, независимо от приготовления.

Таблица 20

Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок pH+2н 37°C) препаратах конструкций антител мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Готовая форма						
%ВМК						
2н 37°C	1,7	4,8	1,6	1,8	1,1	1,5

Пример 12.

Конструкции антител мишень С (сс)-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в примере 10, подвергали стрессу, вызываемому встряской. Концентрация исходных материалов составляла 1,0

мг/мл. Объем 0,5 мл каждого раствора фильтровали через соответствующий 0,22 мкм фильтр и наливали во флаконы из стекла типа I. Флаконы помещали в пластиковую коробку, убедившись, что флаконы не смещаются внутри коробки во время встряски. Коробку помещали на орбитальный встряхиватель. Образцы встряхивали при 500 об/мин в течение 65 часов. Образцы анализировали методом ЭХ-УЭЖХ, чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). Применяли тот же метод, который описан в примере 4. Содержание ВМК в образцах после встряски приведено в табл. 21. Образование ВМК было наименее выражено для конструкции мишень С (сc)-scFc в любой готовой форме.

Таблица 21

Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных стрессу (скачок pH+2н 37°C) препаратах конструкций антител мишень С (сc)-hALB, -hFc и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Готовая форма						
%ВМК						
65 ч, 500 об/мин	2,1	0,8	2,3	0,4	1,3	0,2

Пример 13.

Конструкции антител мишень С (сc)-hALB, -hFc и -scFc, приготовленные так, как описано в примере 4, подвергали воздействию видимого и УФА-света (фотостресс). Во всех препаратах общая концентрация белка составляла 1 мг/мл. Белковые растворы фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм и наливали в 0,5 мл флаконы из стекла типа I. Конструкции мишень С (сc)-hALB и -scFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света и 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м² соответственно. Конструкцию мишень С (сc)-hFc подвергали двум разным испытаниям, включающим 0,2 Млк видимого света без УФА-света и 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м² УФА-света соответственно. Температуру в камере устанавливали на 25°C. После воздействия света образцы анализировали методом ЭХ-УЭЖХ (табл. 22) и пептидного картирования (табл. 23). Вышеуказанные методы осуществляли в соответствии с процедурами, описанными в примере 4. Несмотря на более высокую интенсивность УФА-света, применяемую к конструкции мишень С (сc)-scFc, эта конструкция была стабильной против образования ВМК. В противоположность этому, конструкции мишень С (сc)-hFc и мишень С (сc)-hALB демонстрировали повышение количества ВМК после 2 условий испытаний.

Таблица 22

Обобщенная информация по содержанию ВМК в препаратах конструкций антител мишень С (сc)-hALB, -hFc и -scFc, определенному после воздействия света с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Готовая форма						
%ВМК						
T0	1,5	0,3	2,7	0,3	1,3	0,3
Испытание 1	1,8 ¹	0,3 ¹	2,5 ²	0,3 ²	1,4 ¹	0,3 ¹
Испытание 2	4,6 ³	1,1 ³	6,0 ⁴	0,7 ⁴	1,5 ³	0,3 ³

¹) 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²) 0,2 Млк видимого света без УФА-света, ³) 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴) 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

В целом, химические модификации после воздействия света были наименее выражены для конструкции мишень С (сc)-scFc. В особенности деамидирование CDR в большей степени проявлялось в конструкциях мишень С (сc)-hALB и мишень С (сc)-hFc. По сравнению с конструкциями на основе Fc было обнаружено, что конструкция мишень С (сc)-scFc была менее предрасположена к химическим модификациям Fc-части, хотя scFc-конструкцию подвергали более высоким дозам УФА-света, чем hFc-конструкцию. В табл. 23 также перечислены наиболее распространенные химические модификации альбуминовой части в конструкции мишень С (сc)-hALB, демонстрируя, что продлевающая время полужизни часть этой конструкции была более химически деградирована, чем Fc-части конструкции антитела мишень С (сc)-hFc и -scFc.

Таблица 23

Обобщенная информация по химическим модификациям в препаратах конструкций антител мишень С (сс) -hALB, -hFc и -scFc, определенным после воздействия света с помощью пептидного картирования

Конструкция	hALB		hFc		scFc	
	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
§M34 окисления (CDR)						
T0	1,0	1,8	1,0	1,4	1,7	1,9
Испытание 1	1,5 ¹⁾	н. и.	0,7 ²⁾	4,2 ²⁾	1,4 ¹⁾	1,2 ¹⁾
Испытание 2	1,7 ³⁾	н. и.	1,1 ⁴⁾	4,2 ⁴⁾	1,3 ³⁾	1,7 ³⁾
§D103 изомеризации (CDR)						
T0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6
Испытание 1	0,8 ¹⁾	н. и.	0,9 ²⁾	0,9 ²⁾	0,8 ¹⁾	1,0 ¹⁾
Испытание 2	1,1 ³⁾	н. и.	1,2 ⁴⁾	1,4 ⁴⁾	1,0 ³⁾	1,3 ³⁾
§M290 окисления (CDR)						
T0	0,7	1,4	0,8	1	1,3	1,4
Испытание 1	1,1 ¹⁾	н. и.	0,5 ²⁾	3,3 ²⁾	1,0 ¹⁾	0,9 ¹⁾
Испытание 2	1,4 ³⁾	н. и.	1,1 ⁴⁾	4,2 ⁴⁾	1,0 ³⁾	1,4 ³⁾
§N359 деамидирования (CDR)						
T0	5,8	11,4	5,3	6,3	0,4	0,5
Испытание 1	10,8 ¹⁾	н. и.	4,5 ²⁾	5,6 ²⁾	0,4 ¹⁾	0,2 ¹⁾
Испытание 2	12,4 ³⁾	н. и.	10,3 ⁴⁾	3,6 ⁴⁾	0,6 ³⁾	0,2 ³⁾
§N362 деамидирования (CDR)						
T0	5,4	8,7	3,9	4,0	0,2	0,3
Испытание 1	8,8 ¹⁾	н. и.	3,4 ²⁾	3,5 ²⁾	0,3 ¹⁾	0,3 ¹⁾
Испытание 2	9,8 ³⁾	н. и.	6,4 ⁴⁾	2,3 ⁴⁾	0,5 ³⁾	0,3 ³⁾
§D510 изомеризации (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	0,4	0,4	0,5	0,4
Испытание 1	н. п.	н. п.	0,4 ²⁾	0,6 ²⁾	0,6 ¹⁾	0,5 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	0,7 ⁴⁾	0,7 ⁴⁾	0,7 ³⁾	0,7 ³⁾
§M541 окисления (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	2,0	3	3,7	4,1
Испытание 1	н. п.	н. п.	5,0 ²⁾	0,7 ²⁾	3,8 ¹⁾	3,8 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	17,5 ⁴⁾	18,4 ⁴⁾	4,8 ³⁾	5,5 ³⁾
§N614 деамидирования (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	1,2	1,2	1,6	1,5
Испытание 1	н. п.	н. п.	1,3 ²⁾	1,7 ²⁾	2,8 ¹⁾	2,2 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	6,1 ⁴⁾	1,9 ⁴⁾	1,9 ³⁾	2,3 ³⁾
§N673 деамидирования (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	0,3	0,3	0,0	0,0
Испытание 1	н. п.	н. п.	0,5 ²⁾	0,6 ²⁾	0,5 ¹⁾	0,6 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	0,5 ⁴⁾	0,6 ⁴⁾	0,5 ³⁾	1,5 ³⁾
§M717 окисления (Fc)						
T0	н. п.	н. п.	2,1	2,4	2,5	2,8
Испытание 1	н. п.	н. п.	4,1 ²⁾	7,3 ²⁾	2,2 ¹⁾	2,3 ¹⁾
Испытание 2	н. п.	н. п.	13,7 ⁴⁾	13,5 ⁴⁾	2,8 ³⁾	3,8 ³⁾
§M598 окисления (hALB)						
T0	1,0	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	2,3 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	6,4 ³⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
§M809 окисления (hALB)						
T0	1,8	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	3,5 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	8,3 ³⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
§M840 окисления (hALB)						
T0	12,8	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

Испытание 1	32,0 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	61,7	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
%K1036 гликирования (hALB)						
T0	10,1	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 1	10,2 ¹⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.
Испытание 2	9,9 ³⁾	н. и.	н. п.	н. п.	н. п.	н. п.

¹⁾ 0,2 Млк видимого света/25 Вт*ч/м² УФА-света, ²⁾ 0,2 Млк видимого света без УФА-света, ³⁾ 1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м², ⁴⁾ 1,2 Млк видимого света/30 Вт*ч/м²

Пример 14.

Разные конструкции антител ViTE®, разработанные для нацеливания на мишень С, включая мишень С-без продления времени полужизни (не-HLE, "каноническую"), мишень С-hALB (содержащую человеческий сывороточный альбумин) и мишень С-scFc (содержащую модальность scFc в виде третьего домена, как описано выше), готовили в растворе, содержащем 100 мМ L-аргинина гидрохлорида, 8% (масс./об.) трегалозы дигидрат и полисорбат 80. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл для hALB и scFc и 0,4 мг/мл для не-HLE версии. Приготовленные конструкции антител ViTE® наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутилкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при -20°C и 37°C (без и с 25 м. д. кремния, который известен своим потенциалом индуцировать агрегацию белков) в течение 4 недель. Вышеуказанные конструкции также подвергали воздействию света (1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м² УФА-света). В случае стресса, вызванного светом, температуру в камере устанавливали на 25°C. Образцы, хранимые при -70°C, служили в качестве контроля (T0).

Вышеописанные образцы анализировали в дубликатах методом эксклюзионной ультравысокоэффективной хроматографии (ЭХ-УЭЖХ), чтобы количественно оценить процентное содержание высокомолекулярных компонентов (ВМК). ЭХ-УЭЖХ проводили на УЭЖХ-системе Aquity H-Class (Waters), используя 150 мм колонку Acquity UPLC BEH200 SEC (Waters). Температура колонки была установлена на 25°C. Разделение размерных вариантов обеспечивали применением изократического метода со скоростью потока 0,4 мл/мин. Подвижная фаза состояла из 100 мМ фосфата натрия, 250 мМ NaCl, pH 6,8. Время анализа составляло в целом 6,0 минут. Образцы держали при 8°C в автодозаторе до проведения анализа. Инжектировали общее количество белка 3 мкг. Чтобы избежать загрязнения после каждого образца проводили промежуточную инъекцию 40% АЦН. Выявление базировалось на флуоресценции (возбуждение на 280 нм, эмиссия на 325 нм). Интегрирование пиков проводили с помощью программного обеспечения Empower®. Представлена относительная площадь под кривой ВМК (24).

Среди не подверженных стрессу образцов ВМК были наименее выражены для scFc-конструкции. Образование ВМК наблюдали исключительно во время 4-недельного хранения при -20°C. Содержание ВМК в этих условиях возрастало в следующем порядке scFc < hALB < не-HLE.

Таблица 24

Обобщенная информация по содержанию ВМК в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень С-не-HLE, -hALB и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	не-HLE (каноническая)	hALB	scFc
T0	1,3%	1,3%	1,0%
4н -20°C	4,6%	1,8%	1,6%
4н 37°C	0,9%	0,6%	0,5%
4н 37°C (25 м. д. кремния)	1,1%	0,8%	0,8%
Воздействие света	1,0%	0,9%	0,5%

В дополнение образцы после теплового стресса в отсутствие и присутствии кремния оценивали в отношении наличия невидимых невооруженным глазом частиц методом микрофлюидной визуализации (МФВ), используя Flowcam от Fluid Imaging Technologies, Inc. Прибор был оборудован проточной ячейкой FC80FV. Применяли десятикратное оптическое увеличение.

Применимость системы подтверждали с помощью не содержащей частиц воды. Применяли скорость автоматического получения изображений 20 кадров в секунду. Теневое и световое пороговые значения были установлены на 25 и 20 пикселей соответственно. Общий объем образца для одного измерения составлял 0,25 мл. Измерения образцов проводили в трипликатах. Перед каждым трипликатом систему промывали 0,5 мл соответствующих растворов образцов. В начале и между каждым из трипликатов проводили промывку 1,0 мл не содержащей частиц воды. Оценку данных проводили с помощью программного обеспечения Visual Spreadsheet. Измерения образцов проводили в трипликатах. Результаты

приведены в табл. 25.

Тепловой стресс приводил к образованию невидимых невооруженным глазом частиц в препаратах, содержащих конструкции не-HLE и hALB. scFc-конструкция, наоборот, оставалась стабильной. Добавление кремния не стимулировало образование невидимых невооруженным глазом частиц независимо от природы конструкции антитела ViTE®.

Таблица 25

Оценка невидимых невооруженным глазом частиц методом МФВ в препаратах мишень F-не-HLE (каноническая), -hALB и -scFc после теплового стресса в отсутствие и присутствии кремния

Конструкция	Не-HLE (каноническая)				hALB				scFc			
	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
Размер частиц [мкм]												
T0	146	35	12	0	281	71	35	0	298	150	33	0
4н 37°C	410	163	23	0	742	225	11	0	110	44	0	0
4н 37°C (25 м. д. кремния)	69	35	11	0	272	91	34	0	146	55	11	0

Образцы, которые подвергали тепловому стрессу, также анализировали методом слабой катионообменной (СКО) хроматографии, чтобы количественно оценить содержание зарядовых вариантов, используя UPLC Aquity H-класса от Waters. Применяли 4,6×100 мм колонку Protein-Pak Hi Res CM 7im (Waters, кат. № 186004929). Температуру колонки устанавливали на 30°C. Скорость потока устанавливали на 0,65 мл/мин. Применяемый градиент был спроектирован следующим образом (табл. 26). Температуру автодозатора поддерживали при 2-8°C.

Таблица 26

Градиент, применяемый для СКО хроматографии

Время [мин : с]	% А	% В
	20 мМ фосфата натрия, рН 6,5	20 мМ фосфата натрия, 250 мМ хлорида натрия, рН 6,5
00:00	100	0
4:00	100	0
25:00	50	50
25:01	0	100
29:00	0	100
29:01	100	0
33:00	100	0

Инжектировали общее количество белка 3 мкг. Выявление базировалось на флуоресценции (возбуждение на 280 нм, эмиссия на 325 нм). Интегрирование пиков проводили с помощью программного обеспечения Empower®. Относительные площади под кривыми основного пика, а также для кислых и основных зарядовых вариантов приведены в табл. 27.

Тепловой стресс приводил к снижению процентной доли, приходящейся на основной пик, что должно быть связано с преобладающим образованием кислых зарядовых вариантов. Уменьшение процентной доли, приходящейся на основной пик, было наименее выражено для scFc-конструкции (7,5%). Основные зарядовые варианты образовывались в обеих конструкциях с продлением времени полужизни после воздействия света. Повышение количества основных зарядовых вариантов находилось в диапазоне от 5 до 6% в конструкциях hALB и scFc.

Таблица 27

Оценка зарядовых вариантов методом СКО-хроматографии в препаратах мишень F-не-HLE (каноническая), -hALB и -scFc после индуцированного теплом и светом стресса

Конструкция	He-HLE (каноническая)			hALB			scFc		
	основной	кислых	основных	основной	кислых	основных	основной	кислых	основных
T0	89,9	3,6	6,5	83,3	0,7	16,0	74,5	3,4	22,1
4н 37°C	79,3	11,1	9,5	75,6	9,8	14,6	67,0	11,2	21,8

В дополнение чистоту образцов оценивали в подвергнутых тепловому и световому стрессу образцах, используя анализ методом микрофлюидного капиллярного электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия (КЭ-ДСН) на основе системы LabChip GXII (Perkin Elmer). Денатурирующий раствор для образцов состоял из буфера для образца HT Protein Express (поставляемого Perkin Elmer) с добавлением 34 мМ дитиотреитола. Каждый образец разводили 1:8 денатурирующим раствором и нагревали до 70°C в течение 10 минут вместе с лэддером protein express. В 40 мкл денатурированного образца добавляли 35 мкл воды для инъекций (ВДИ). В 12 мкл лэддера добавляли 120 мкл ВДИ. Образцы, лэддер, промывочный буфер protein express, гелевый краситель и обесцвечивающий раствор переносили в соответствующие резервуары. Образцы загружали электрокинетическим способом из микротитровального планшета на чип, объединяя разделение, окрашивание, обесцвечивание и выявления белка и его размерных вариантов. Оценивали полученные в результате электроферограммы и записывали изменения в чистоте. Общая информация по выраженной в процентах чистоте, зарегистрированной после стресса, приведена в табл. 28 и сравнена с не подвергнутыми стрессу образцами (T0).

Более высокую чистоту наблюдали для конструкций hALB и scFc по сравнению с конструкцией He-HLE во всех условиях. Небольшое снижение чистоты по сравнению с T0 было зарегистрировано для конструкций hALB и scFc после теплового и светового стресса. Снижение чистоты после 4-недельного хранения при 37°C составляло в общем 8,4% для конструкции hALB и 6,6% для конструкций scFc. Снижение после воздействия света было сравнимо для конструкций hALB и scFc.

Таблица 28

Обобщенная информация по выраженной в процентах чистоте в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень F-не-HLE, -hALB и -scFc, определенной с помощью LabChip GXII (Caliper)

Конструкция	He-HLE (каноническая)	hALB	scFc
T0	57,4	96,0	92,2
4н 37°C	60,6	87,6	85,6
Воздействие света	61,5	90,1	86,4

Пример 15.

Готовили разные конструкции антител ViTE®, сконструированные для нацеливания на мишень D, включая мишень D-hALB и мишень D-scFc, соответственно, при pH 7,0. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл для обеих конструкций. Приготовленные конструкции антител ViTE® наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутилкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при 37°C (мишень D-hALB) и 40°C (мишень D-scFc) в течение 4 недель. Образцы, хранимые при -70°C, служили в качестве контроля (T0). Образцы анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ в соответствии с методом, описанным в примере 14. Результаты приведены в табл. 29.

scFc-конструкция демонстрировала меньшее снижение количества мономеров (2,3%) после теплового стресса по сравнению с конструкцией hALB (4,0%), хотя температура инкубации была немного выше.

Таблица 29

Обобщенная информация по процентной доле, приходящейся на мономерный пик, в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень D-hALB и -scFc, определенной с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	hALB	scFc
T0	97,6%	99,8%
4w	93,6%	97,5%

Пример 16.

Исследовали разные конструкции антител ViTE®, сконструированные для нацеливания на PSMA включая PSMA-не-HLE (каноническую) и PSMA-scFc. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл. Приготовленные конструкции антител ViTE® наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутилкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками.

Наполненные флаконы инкубировали при -20°C и 37°C (без и с 25 м. д. кремния) в течение 4 недель. Вышеуказанные конструкции также подвергали воздействию света (1,2 Млк видимого света/173 Вт*ч/м² УФА-света). В случае стресса, вызванного светом, температуру в камере устанавливали на 25°C. Образцы, хранимые при -70°C, служили в качестве контроля (T0). Образцы анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ в соответствии с методом, описанным в примере 14. Результаты приведены в табл. 30.

scFc-конструкция продемонстрировала более высокое содержание мономеров, чем не-HLE конструкция, во всех исследуемых стрессовых условиях, что указывает на более низкую предрасположенность к образованию высоко- (агрегаты) или низкомолекулярных молекул (фрагменты) scFc-конструкции.

Таблица 30

Обобщенная информация по содержанию мономеров в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах PSMA-не-HLE и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	He-HLE (каноническая)	scFc
T0	97,0%	98,6%
4н -20°C	96,7%	98,9%
4н 37°C	88,3%	94,1%
4н 37°C (25 м. д. кремния)	90,4%	96,1%
Воздействие света	96,1%	99,0%

В дополнение образцы после теплового стресса в отсутствие и присутствии кремния оценивали в отношении наличия невидимых невооруженным глазом частиц методом микрофлюидной визуализации (МФВ), используя метод, описанный в примере 14. Результаты приведены в табл. 31.

scFc-конструкция продемонстрировала существенно меньшее количество невидимых невооруженным глазом частиц, чем не-HLE-конструкция, при воздействии теплового стресса в отсутствие и присутствии кремния.

Таблица 31

Оценка невидимых невооруженным глазом частиц методом МФВ в препаратах PSMA-не-HLE (каноническая) и -scFc после теплового стресса в отсутствие и присутствии кремния

Конструкция	He-HLE (каноническая)				scFc			
	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
Размер частиц [мкм]								
4н 37°C	4675	2334	1017	22	2518	1364	655	24
4н 37°C (25 м. д. кремния)	8249	4243	1906	34	965	473	179	11

Образцы, которые подвергали тепловому и световому стрессу, также анализировали методом слабой катионообменной (СКО) хроматографии, чтобы количественно оценить процентное содержание зарядовых вариантов, используя UPLC Aquity H-класса от Waters в соответствии с методом, описанным в примере 14. Относительные площади под кривыми основного пика, а также для кислых и основных зарядовых вариантов приведены в табл. 32.

scFc-конструкция продемонстрировала более высокое процентное соотношение для основного пика (меньшее количество зарядовых вариантов), чем не-HLE конструкция. Эта разница была наиболее выраженной при сравнении образцов, подвергнутых тепловому стрессу, что указывает на более высокую химическую стабильность scFc-конструкции.

Таблица 32

Оценка зарядовых вариантов методом СКО-хроматографии в препаратах PSMA-не-HLE (каноническая) и -scFc после индуцированного теплом и светом стресса

Конструкция	He-HLE (каноническая)			scFc		
	% основной	% кислых	% основных	% основной	% кислых	% основных
T0	66,1	18,4	15,6	70,4	14,5	15,1
4н 37°C	32,1	51,8	16,1	41,5	45,6	12,9
Воздействие света	68,0	24,6	7,4	69,9	12,6	17,5

В дополнение чистоту образцов оценивали в подвергнутых тепловому и световому стрессу образцах, используя анализ методом микрофлюидного капиллярного электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия (КЭ-ДСН) на основе системы LabChip GXII (Perkin Elmer) в соответствии с методом, описанным в примере 14. Общая информация по выраженной в процентах чистоте, зарегистрированной после стресса, приведена в табл. 33 и сравнена с не подвергнутыми стрессу образцами (T0).

Более высокую чистоту наблюдали для scFc-конструкции по сравнению с конструкцией не-HLE во всех стрессовых условиях. Следовательно, как показано в данном документе в виде примера, scFc-конструкции антител являются более стабильными в широком ряде стрессовых условий по сравнению с не-HLE-конструкциями антител и, таким образом, являются более безопасными и лучше подходят для универсального клинического применения с постоянно меняющимися на практике стрессовыми условиями.

Таблица 33

Обобщенная информация по выраженной в процентах чистоте в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах PSMA-не-HLE и -scFc, определенной с помощью LabChip GXII

Конструкция	He-HLE (каноническая)	scFc
T0	89,2	100,0
4н 37°C	85,4	87,3
Воздействие света	89,5	93,8

Пример 17.

Исследовали разные конструкции антител ViTE®, сконструированные для нацеливания на мишень В, включая мишень В-Х-тело и мишень В-scFc. Концентрация целевого белка составляла 1,0 мг/мл. Приготовленные конструкции антител ViTE® наливали до 1 мл во флаконы из стекла типа I, которые закрывали бутилкаучуковыми пробками и обжимали алюминиевыми колпачками. Наполненные флаконы инкубировали при -20°C и 37°C в течение 4 недель. Кроме того, все образцы подвергали воздействию 1,2 Млк видимого света и 173 Вт*ч/м² УФА-света. Температуру в камере устанавливали на 25°C. Образцы, хранимые при -70°C, служили в качестве контроля (T0). Образцы, хранимые при -20 и -37°C, анализировали с помощью ЭХ-УЭЖХ в соответствии с методом, описанным в примере 14. Результаты приведены в табл. 34.

scFc-конструкция сохраняла более высокое содержание мономеров при хранении в течение четырех недель при -20 и 37°C соответственно по сравнению с Х-телом.

Таблица 34

Обобщенная информация по содержанию мономеров в подверженных и не подверженных стрессу (T0) препаратах мишень В-Х-тело и -scFc, определенному с помощью ЭХ-УЭЖХ

Конструкция	Х-тело	scFc
T0	100,0	98,8
4н -20°C	97,1	97,9
4н 37°C	94,5	95,7

Кроме того, не подверженные стрессу образцы оценивали в отношении наличия невидимых невооруженным глазом частиц с помощью микрофлюидной визуализации (МФВ), используя метод, описанный в примере 14. Результат приведен в табл. 35. Препарат CD19-scFc демонстрировал существенно меньшие количества невидимых невооруженным глазом частиц по сравнению с препаратом CD19-Х-тело. Это применимо ко всем включенным размерным фракциям.

Таблица 35

Оценка невидимых невооруженным глазом частиц методом МФВ в не подверженных стрессу конструкциях мишень В-Х-тело и -scFc

Конструкция	Х-тело				scFc			
	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
Размер частиц [мкм]								
T0	2648	688	192	32	160	64	43	11

Образцы, которые подвергали световому стрессу, также анализировали методом слабой катионообменной (СКО) хроматографии, чтобы количественно оценить процентное содержание зарядовых вариантов, используя UPLC Aquity H-класса от Waters в соответствии с методом, описанным в примере 14. Относительные площади под кривыми основного пика, а также для кислых и основных зарядовых вариантов приведены в табл. 36.

Таблица 36

Оценка зарядовых вариантов методом СКО-хроматографии в препаратах мишень В-Х-тело и -scFc после индуцированного теплом и светом стресса

Конструкция	Х-тело			scFc		
	%	%	%	%	%	%
	основной	кислых	основных	основной	кислых	основных
T0	51,4	30,3	18,3	83,5	1,3	15,2
Воздействие света	45,9	33,2	20,9	82,1	1,2	16,7

scFc-конструкция продемонстрировала неожиданно повышенную стабильность после воздействия света по сравнению с Х-телом, на что указывает менее выраженное уменьшение основного пика, которое в общем составило 1,4% по сравнению с 5,5% для конструкции Х-тела. Следовательно, из указанного примера можно заключить, что анти-PSMA конструкция антитела с наличием scFc-домена в виде HLE превосходит другие конструкции антител, содержащие разные HLE в контексте устойчивости к стрессу и, как следствие, характеризуется неожиданно улучшенной стабильностью.

Пример 18. Эксклюзионная хроматография биспецифических scFc-вариантов.

Конструкции D9F, T2G, D3L, T7I и K6C (смотрите фиг. 6) исследовали в отношении их поведения во время испытаний методом эксклюзионной хроматографии в соответствии со стандартными процедурами. Конкретнее, определенное количество, составляющее 25 мкг, каждой конструкции анализировали (при 750 мкл/мин) в цитратном лизиновом буфере (10 мМ и 75 мМ, pH7) на колонке Superdex 200 increase 10/300GL при комнатной температуре и записывали ОП на 280 нм. После этого проводили сравнение конструкций в отношении времени удержания. В результате конструкция D9F демонстрировала существенно замедленное элюирование (табл. 37) по сравнению с T2G, D3L, T7I и K6C, что указывает на разницу в структуре/упорядочении Fc-доменов. Эта разница во времени удержания была наиболее существенной в случае конструкции T7I, содержащей неспаренные цистеины в шарнирной области и связь СН2 и СН2СН3 с СН3 (18,98 мин и 18,62 мин, разница 0,36 мин). При этом разница во времени удержания в 0,16 мин между D9F и T2G является существенной, учитывая соответствующее время удержания БСА-контроля. БСА-контроль показывал время удержания 19,07 мин для мономеров и 16,82 мин для димеров, демонстрируя разницу в 2,25 мин во времени удержания в случае удвоенной молекулярной массы. Следовательно, так как конструкции имеют структурную разницу только в Fc-части, разница во времени удержания в 0,16 мин является существенной. В целом, конструкция D9F продемонстрировала наибольшее время удержания, что указывает на самое сильное связывание. Этот вывод позволяет ожидать, что D9F также имеет самое большое время полужизни in vivo.

Таблица 37

Конструкция	Время удержания в мин
D9F	18,98
T2G	18,82
D3L	18,78
K6C	18,77
T7I	18,62
Мономер БСА	19,07
Димер БСА	16,82

Пример 19. Определение методом поверхностного плазмонного резонанса связывания с челове-

ским FcRn (FCGRT/B2M).

Каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C (фиг. 6) исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППП (Biacore) экспериментах в соответствии со стандартными процедурами. Конкретнее, сенсорные чипы CM5 (GE Healthcare) иммобилизовали 450-500 ЕО FCGRT/B2M (ACRO Biosystems), используя буфер на основе ацетата Na, pH 4,5, и подвижный буфер, состоящий из 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0. Затем конструкции инжестировали в последовательных опытах в двух концентрациях 250 нМ и 125 нМ, разведенных в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, и при 36°C. Ассоциацию проводили в течение 90 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин с последующей фазой диссоциации в течение 90 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, при 36°C. Последующее восстановление проводили в течение 10 с при 30 мкл/мин с помощью 10 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 7,4.

Максимальное связывание во время инъекционной фазы измеряли для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (ЕО), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. Средние значения определения дубликатов приведены на фиг. 7А и 7В соответственно.

В результате конструкция D9F демонстрировала существенно большее увеличение массы на покрытом FcRn чипе CM5 по сравнению с T2G, D3L, T7I и K6C, что указывает на большую аффинность связывания D9F с человеческим FcRn. Это наблюдение имело место для обеих концентраций соответствующих конструкций.

Связывание с FcRn опосредуется Fc-частью в конструкциях. Более сильное связывание с человеческим FcRn, согласно описанию в литературе, является показателем большего времени полужизни *in vivo* благодаря более высокому внутриклеточному сохранению соответствующего белка и, следовательно, сниженного уровня деградации. По этой причине более сильное связывание D9F с человеческим FcRn по сравнению с другими конструкциями делает эту молекулу бесспорно превосходящей в качестве основы для терапевтических молекул, обеспечивающей более длительное нахождение потенциального лекарственного препарата в организме пациента и меньшую частоту введения лекарственного препарата.

Пример 20. Определение методом поверхностного плазмонного резонанса связывания с человеческим FcRn (FCGRT/B2M).

Каждую из конструкций D9F, T2G, D3L, T7I и K6C и человеческое IgG1-каппа антитело MT201 исследовали в отношении их способности к связыванию с человеческим FcRn в ППП (Biacore) экспериментах в соответствии со стандартными процедурами. Конкретнее, сенсорные чипы CM5 (GE Healthcare) иммобилизовали около 350 ЕО FCGRT/B2M (ACRO Biosystems), используя буфер на основе ацетата Na, pH 4,5, и подвижный буфер, состоящий из 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0. Затем конструкции и человеческий IgG1-каппа контроль (MT201) инжестировали в концентрации 125 нМ, разведенной в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, и при 36°C. Ассоциацию проводили в течение 90 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин с последующей фазой диссоциации в течение 60 секунд со скоростью потока 30 мкл/мин в 200 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 6,0, при 36°C. Последующее восстановление проводили в течение 10 с при 30 мкл/мин с помощью 10 мМ ГЭПЭС, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЭДТК, pH 7,4.

Максимальное связывание во время фазы инъекции измеряли для всех конструкций в соответствующих единицах ответа (ЕО), эквивалентных увеличению молекулярной массы на покрытом FcRn чипе CM5 вследствие наличия связанной конструкции. Все конструкции измеряли в дубликатах. На Фигуре 8 приведены средние значения определения дубликатов, включая планки погрешностей, указывающие стандартное отклонение.

В результате конструкция D9F демонстрировала существенно большее увеличение массы на покрытом FcRn чипе CM5 по сравнению с T2G, D3L, T7I и K6C, что указывает на большую аффинность связывания D9F с человеческим FcRn. Увеличение массы на покрытом FcRn чипе CM5 для D9F хорошо сравнимо с увеличением массы человеческого IgG1-каппа контрольного антитела MT201, что указывает на сравнимое связывание конструкции D9F с человеческим FcRn.

Связывание с FcRn опосредуется Fc-частью человеческого IgG1 в конструкциях. Более сильное связывание с человеческим FcRn, согласно описанию в литературе, является показателем большего времени полужизни *in vivo* благодаря более высокому внутриклеточному сохранению соответствующего белка и, следовательно, сниженного уровня деградации. По этой причине более сильное связывание D9F с человеческим FcRn в диапазоне человеческого IgG1-каппа антитела (MT201) по сравнению с другими конструкциями делает эту молекулу бесспорно превосходящей в качестве основы для терапевтических молекул, обеспечивающей более длительное нахождение потенциального лекарственного препарата в организме пациента, предположительно в диапазоне полноразмерного человеческого антитела IgG1, и меньшую частоту введения лекарственного препарата.

Таблица 38
Таблица последовательностей

SEQ ID	Обозначение	Формат/Ис точник	Последовательность
NO:			
1.	Линкер G4S		GGGGS
2.	Линкер (G4S) 2		GGGGSGGGGS
3.	Линкер (G4S) 3		GGGGSGGGGSGGGGS
4.	Линкер (G4S) 4		GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
5.	Линкер (G4S) 5		GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
6.	Линкер (G4S) 6		GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
7.	Линкер (G4S) 7		GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
8.	Линкер (G4S) 8		GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
9.	Пептидный линкер		PGGGGS
10.	Пептидный линкер		PGGDGS
11.	Пептидный линкер		SGGGGS
12.	Пептидный линкер		GGGG
13.	CD3ε-связывающая VL		QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVL
14.	CD3ε-связывающая VH		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL EWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS
15.	CD3ε-связывающий scFv		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGL EWVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGS GGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQK KPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDE AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
16.	гекса-		HHHHHH

	ГИСТИДИН овая метка		
17.	Fc- мономер- 1 +c/-g		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP GK
18.	Fc- мономер- 2 +c/- g/delGK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP
19.	Fc- мономер- 3 -c/+g		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP GK
20.	Fc- мономер- 4 - c/+g/del GK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP
21.	Fc- мономер- 5 -c/-g		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP GK
22.	Fc- мономер- 6 -c/- g/delGK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP
23.	Fc- мономер- 7		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR

	+c/+g		EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
24.	Fc- mohomep- 8 +c/+g/de lGK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
25.	scFc-1		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
26.	scFc-2		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
27.	scFc-3		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
28.	scFc-4		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD

			VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
29.	scFc-5		DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
30.	scFc-6		DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
31.	scFc-7		DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTV

			KSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
32.	scFc-8		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
33.	Мишень A-HLE	Гетеро- Fc, цепь 1	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFS DYMTWIRQAPGKGL EWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLFLQMNSLRAED TAVYYCARDNRNSHFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQ MTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGINTWLA WYQQKPKGAPKLLI YGASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKS FPRTFGQGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNKLTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW GQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQT VVTQEP SLTVSPGGTVTL TCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFS GSLGGAALTLGSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLG GGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL P PSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LKS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSL S LSPGK
34.	Мишень A-HLE	Гетеро- Fc, цепь 2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDS DGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSL S GK
35.	Мишень A-HLE	hALB- слияние	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFS DYMTWIRQAPGKGL EWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLFLQMNSLRAED TAVYYCARDNRNSHFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQ MTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGINTWLA WYQQKPKGAPKLLI YGASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKS FPRTFGQGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF

			<p>TISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW GQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTL TCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGG TKFLAPGTPARFS GSLGGKAAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLP GGDGS DAHKSEVAHREFKDLG EENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHV KLVNEVTEFAKTCVADESAENC DKS LHTLFGDKLCTVATLRETYG EMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNPNL PRLVRPEVDVMCTAFHDN EETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAADKA ACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK CASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGD LLECADDRADLAKYIC ENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFV ESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EYARRHPDYSV VLLLR LAKTYET TLEKCCAAADPHECYAKVDFEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFEO LGE YKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKR MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT KCCTESLVNRRPCFSA LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ TALVELVKH KPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLV AASQ AALGLHHHHH</p>
36.	Мишень B-HLEa	X-тело, цепь 1	<p>EVQLVESGGGLVQP GGS LKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL EWWARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLK EDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDR LGEKYTSWYQQRPGQSP LL VIYQDTRKPSGIPERFSGSNSGNTATLTI SGTQAMDEADYCYQAW ESSTVVF GG GTKLTVLASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFP AVLQSSGLYLS SVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSR WQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
37.	Мишень B-HLEb	X-тело, цепь 2	<p>QVQLVESGGGVVQP GGS LRLS CAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWWAFIWIYEGSNKYAESVKDRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAED TAVYYCARRAGIIGTIGY YGMDVWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGS QTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQA PRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGGKAAALTL SGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKNYAASSY LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSL</p>

			TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSGFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
38.	Мишень B-HLE	Гетеро- Fc, цепь 1	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWFVAFIWEYSNKKYAESVKDRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAED TAVYYCARRAGIIGTIGYYGMDVWVGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLGEEKYTSWYQQRPG QSPLLVIYQDTRKPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADY YCQAWESSTVVFGGGKLTVLSSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY ISYWAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLVS PGGTVTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAP GTPARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVVKSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK
39.	Мишень B-HLE	Гетеро- Fc, цепь 2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTPPVLDSD DGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP GK
40.	Мишень C-HLE	Гетеро- Fc, цепь 1	QVQLVQSGAEVKKPQGESVKVSKASGYTFTNRYGMNWRQAPGQCL EWMGWINTYTGEPYADKFKQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDD TAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGGSGGG GSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQ QKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIIDSPQPED SATYYCQQAHPFITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA TYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTK FLAPGTPARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWV FGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVVKSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEAL LHNHYTQKSLSLSPGK

41.	Мишень C-HLE	Гетеро- Fc, цепь 2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDS DGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
42.	PM_1xCD3 -scFc	VH CDR1	DYYMN
43.	PM_1xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIKIG
44.	PM_1xCD3 -scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
45.	PM_1xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
46.	PM_1xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
47.	PM_1xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT
48.	PM_1xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
49.	PM_1xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGKLEIK
50.	PM_1xCD3 -scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIK
51.	PM_1xCD3 -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL

			TVL
52.	PM_1xCD3 -scFc	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
53.	PM_1xCD3 -scFc_del GK	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE</p>

			YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54.	PM_1_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSS
55.	PM_1_CCx CD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGCGTKLEIK
56.	PM_1_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIK
57.	PM_1_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVTVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
58.	PM_1_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVTVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

			<p>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
59.	PM_1_CCx CD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMNWVRQAPGKCL EWVAII SDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKHTTCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
60.	PM_2xCD3 -scFc	VH CDR1	DYYMY
61.	PM_2xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDAGGLTYSDIIKG
62.	PM_2xCD3 -scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
63.	PM_2xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
64.	PM_2xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
65.	PM_2xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT

66.	PM_2xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
67.	PM_2xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGTKLEIK
68.	PM_2xCD3 -scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIK
69.	PM_2xCD3 -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
70.	PM_2xCD3 -scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP

			EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
71.	PM_2xCD3 - scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNANKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDKHTHTCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
72.	PM_2_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNANKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSS
73.	PM_2_CCx CD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGCGTKLEIK
74.	PM_2_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNANKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIK
75.	PM_2_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNANKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP

			<p>KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
76.	PM_2_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKPGEISRLSCAASGFTFSYMYWVRQAPGKCL EWVAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFLLRHGAMYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
77.	PM_2_CCx CD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKPGEISRLSCAASGFTFSYMYWVRQAPGKCL EWVAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFLLRHGAMYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE</p>

			VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDGFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDGFLLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
78.	PM_3xCD3 -scFc	VH CDR1	DYYMY
79.	PM_3xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDAGGLTYYSDIKGG
80.	PM_3xCD3 -scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
81.	PM_3xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
82.	PM_3xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
83.	PM_3xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDDL RPT
84.	PM_3xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLT LVTVSS
85.	PM_3xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQQ YDDL RPTFGGGTKLEIK
86.	PM_3xCD3 -scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGGGTKLEIK
87.	PM_3xCD3 -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV

			KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
88.	PM_3xCD3 -scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
89.	PM_3xCD3 - scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDAGGLTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

			<p>TPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSEFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
90.	PM_3_CCx CD3-scFc	VH	<p>QVQLVESGGGLVLPKGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDAGGLTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSS</p>
91.	PM_3_CCx CD3-scFc	VL	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDDL RPTFGCGTKLEIK</p>
92.	PM_3_CCx CD3-scFc	scFv	<p>QVQLVESGGGLVLPKGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDAGGLTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGCGTKLEIK</p>
93.	PM_3_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	<p>QVQLVESGGGLVLPKGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDAGGLTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
94.	PM_3_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVLPKGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDAGGLTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL</p>

100.	PM_4xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
101.	PM_4xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT
102.	PM_4xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
103.	PM_4xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGKLEIK
104.	PM_4xCD3 -scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIK
105.	PM_4xCD3 -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
106.	PM_4xCD3 -scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV

			YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
107.	PM_4xCD3 - scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
108.	PM_4_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
109.	PM_4_CCx CD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ YDSYPYTFGGGKLEIK
110.	PM_4_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIK

111.	PM_4_CCx CD3-scFc	биспецифическая молекула	<p>QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWVAII SDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL</p>
112.	PM_4_CCx CD3-scFc	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWVAII SDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPELLEGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PELLEGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
113.	PM_4_CCx CD3- scFc_del GK	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWVAII SDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY</p>

			WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
114.	PM_5xCD3 -scFc	VH CDR1	DYYMY
115.	PM_5xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDKRHHTYYSDIKIG
116.	PM_5xCD3 -scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
117.	PM_5xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
118.	PM_5xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
119.	PM_5xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT
120.	PM_5xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDKRHHTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS
121.	PM_5xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGTKLEIK
122.	PM_5xCD3 -scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDKRHHTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIK
123.	PM_5xCD3 -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDKRHHTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG

			SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
124.	PM_5xCD3 -scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIIDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
125.	PM_5xCD3 - scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIIDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL

			TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNYTQ KSL SLS PGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNYTQKSL SLS PGGK
126.	PM_5_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSS
127.	PM_5_CCx CD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SR FSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGC GTKLEIK
128.	PM_5_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SR FSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGC GTKLEIK
129.	PM_5_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SR FSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGC GTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVAR I RSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCV RHNFGNFSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGG TKL TVL
130.	PM_5_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SR FSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGC GTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVAR I RSKYNNYATYYADSV

			<p>KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGSAFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSAFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
131.	PM_5_CCx CD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGSAFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSAFFLYS KLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
132.	PM_6xCD3 -scFc	VH CDR1	DYYMY
133.	PM_6xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDKRHHTYYSDIIK
134.	PM_6xCD3	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY

	-scFc		
135.	PM_6xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
136.	PM_6xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
137.	PM_6xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDDL RPT
138.	PM_6xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSS
139.	PM_6xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQQ YDDL RPTFGGGTKLEIK
140.	PM_6xCD3 -scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGGGTKLEIK
141.	PM_6xCD3 -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGG TKL TVL
142.	PM_6xCD3 -scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDKRHHTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTP

			ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
143.	PM_6xCD3 - scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSYMYWVRQAPGKGL EHWVAIIIDKRHHITYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ YDDLRLPTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSTVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
144.	PM_6_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSYMYWVRQAPGKCL EHWVAIIIDKRHHITYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSS
145.	PM_6_CCx CD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDDLRLPTFGCGTKLEIK
146.	PM_6_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSYMYWVRQAPGKCL EHWVAIIIDKRHHITYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED

			TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGCGTKLEIK
147.	PM_6_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDKRHHTYYSDI IKGRTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKL TVL
148.	PM_6_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDKRHHTYYSDI IKGRTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKL TVLGGGDKTHTCP PPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGG SGGGSGGGGSDKTHTC PPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
149.	PM_6_CCx CD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDKRHHTYYSDI IKGRTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP

			<p>KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTITSSLQSEDFATYYCQ QYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCP PPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTHTCP P CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
150.	PM_7xCD3 -scFc	VH CDR1	DYYMY
151.	PM_7xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDI IKG
152.	PM_7xCD3 -scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
153.	PM_7xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
154.	PM_7xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
155.	PM_7xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDQQLIT
156.	PM_7xCD3 -scFc	VH	<p>QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDGGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSS</p>
157.	PM_7xCD3 -scFc	VL	<p>DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGGGTKLEIK</p>
158.	PM_7xCD3 -scFc	scFv	<p>QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDGGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ</p>

			QYDQQLITFGGGTKLEIK
159.	PM_7xCD3 -scFc	биспецифическая молекула	<p>QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
160.	PM_7xCD3 -scFc	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
161.	PM_7xCD3 - scFc_del GK	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV</p>

			KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
162.	PM_7_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSS
163.	PM_7_CCx CD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVD TNVAWYQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGCGTKLEIK
164.	PM_7_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVD TNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQ YDQQLITFGCGTKLEIK
165.	PM_7_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVD TNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQ YDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
166.	PM_7_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSDI IKGRTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGG

		молекула	SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSEFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
167.	PM_7_CCx CD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVQKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSEFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
168.	PM_8xCD3	VH CDR1	DYYMY

	-scFc		
169.	PM_8xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIKIG
170.	PM_8xCD3 -scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
171.	PM_8xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
172.	PM_8xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
173.	PM_8xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDQVRLT
174.	PM_8xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
175.	PM_8xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDQVRLTFGGGKLEIK
176.	PM_8xCD3 -scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGGGKLEIK
177.	PM_8xCD3 -scFc	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLT TVL
178.	PM_8xCD3 -scFc	биспецифическая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS

			CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
179.	PM_8xCD3 - scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCYVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
180.	PM_8_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
181.	PM_8_CCx	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK

	CD3-scFc		SLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQ YDQVRLTFGCGTKLEIK
182.	PM_8_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGCGTKLEIK
183.	PM_8_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
184.	PM_8_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK

185.	PM_8_CCx CD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQVRLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
186.	PM_9xCD3 -scFc	VH CDR1	DYYMN
187.	PM_9xCD3 -scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIK
188.	PM_9xCD3 -scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
189.	PM_9xCD3 -scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
190.	PM_9xCD3 -scFc	VL CDR2	SASYRYS
191.	PM_9xCD3 -scFc	VL CDR3	QQYDDL RPT
192.	PM_9xCD3 -scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGL EWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
193.	PM_9xCD3 -scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDDL RPTFGGGTKLEIK
194.	PM_9xCD3	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGL

	-scFc		EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGGGTKLEIK
195.	PM_9xCD3 -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTAVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
196.	PM_9xCD3 -scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTAVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
197.	PM_9xCD3 - scFc_del	биспецифи ческая HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG

	GK	молекула	SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPP CPAPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK
198.	PM_9_CCx CD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
199.	PM_9_CCx CD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDDLRPFTFGCGTKLEIK
200.	PM_9_CCx CD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGCGTKLEIK
201.	PM_9_CCx CD3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKL

			TVL
202.	PM_9_CCx CD3-scFc	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
203.	PM_9_CCx CD3-scFc_del GK	биспецифическая HLE молекула	<p>QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDDLRPFTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE</p>

			YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK
204.	PM_10xCD 3-scFc	VH CDR1	DYYMY
205.	PM_10xCD 3-scFc	VH CDR2	IISDHHHWTYYSDI IKG
206.	PM_10xCD 3-scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
207.	PM_10xCD 3-scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
208.	PM_10xCD 3-scFc	VL CDR2	SASYRYS
209.	PM_10xCD 3-scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT
210.	PM_10xCD 3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDHHHWTYYSDI IKG RFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
211.	PM_10xCD 3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGTKLEIK
212.	PM_10xCD 3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDHHHWTYYSDI IKG RFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIK
213.	PM_10xCD 3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDHHHWTYYSDI IKG RFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
214.	PM_10xCD 3-scFc	биспецифи ческая	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDHHHWTYYSDI IKG RFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED

		HLE молекула	TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
215.	PM_10xCD 3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDHHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

216.	PM_10_CC xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
217.	PM_10_CC xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGCGTKLEIK
218.	PM_10_CC xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIK
219.	PM_10_CC xCD3- scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPFSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
220.	PM_10_CC xCD3- scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPFSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPELPGGPFVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PECPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP

			EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFLL YSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
221.	PM_10_CC xCD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDHHHTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPFCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGDKTHTCPFC CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFLLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
222.	PM_11xCD 3-scFc	VH CDR1	DYYMY
223.	PM_11xCD 3-scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYSDIIKG
224.	PM_11xCD 3-scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
225.	PM_11xCD 3-scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
226.	PM_11xCD 3-scFc	VL CDR2	SASYRYS
227.	PM_11xCD 3-scFc	VL CDR3	QQYDRQPLT
228.	PM_11xCD 3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKGL EHWVAIISDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSS

229.	PM_11xCD 3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDRQPLTFGGGKLEIK
230.	PM_11xCD 3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGGGKLEIK
231.	PM_11xCD 3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
232.	PM_11xCD 3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL

			YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
233.	PM_11xCD 3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
234.	PM_11_CC xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
235.	PM_11_CC xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQ YDRQPLTFGCGTKLEIK
236.	PM_11_CC xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGCGTKLEIK
237.	PM_11_CC xCD3- scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV

			KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
238.	PM_11_CC xCD3- scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDGGYYTYYSIDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTFDTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
239.	PM_11_CC xCD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDGGYYTYYSIDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTFDTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDRQPLTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTVQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

			<p>TPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSDKHTTCP CPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDNLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
240.	PM_12xCD 3-scFc	VH CDR1	DYYMN
241.	PM_12xCD 3-scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIKIG
242.	PM_12xCD 3-scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
243.	PM_12xCD 3-scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
244.	PM_12xCD 3-scFc	VL CDR2	SASYRS
245.	PM_12xCD 3-scFc	VL CDR3	QQYDLLLLT
246.	PM_12xCD 3-scFc	VH	<p>QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSS</p>
247.	PM_12xCD 3-scFc	VL	<p>DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDLLLLTFGGGKLEIK</p>
248.	PM_12xCD 3-scFc	scFv	<p>QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGGGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDLLLLTFGGGKLEIK</p>
249.	PM_12xCD 3-scFc	биспецифическая молекула	<p>QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGGGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDLLLLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQTVVVTQEPVSLVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP</p>

			ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
250.	PM_12xCD 3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDLLLTLFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
251.	PM_12xCD 3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDLLLTLFGGGKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV

			KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
252.	PM_12_CC xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSS
253.	PM_12_CC xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQQ YDLLLTLFGCGTKLEIK
254.	PM_12_CC xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDLLLTLFGCGTKLEIK
255.	PM_12_CC xCD3- scFc	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDLLLTLFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLT TVL
256.	PM_12_CC xCD3- scFc	биспецифическая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDLLLTLFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLT TVLGGGDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQV

			YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
257.	PM_12_CD xCD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVLPKGESLRLSCAASGFTFSYIMNWRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFGSASGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQ QYDLLLTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDSSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGQTVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWFVGGGTKL TVLGGGDKHTCCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
258.	PM_13xCD 3-scFc	VH CDR1	DYYMY
259.	PM_13xCD 3-scFc	VH CDR2	IISDSTLHTYYSDIIKG
260.	PM_13xCD 3-scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
261.	PM_13xCD 3-scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
262.	PM_13xCD 3-scFc	VL CDR2	SASYRYS
263.	PM_13xCD	VL CDR3	QQYDSYPYT

	3-scFc		
264.	PM_13xCD 3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
265.	PM_13xCD 3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGTKLEIK
266.	PM_13xCD 3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIK
267.	PM_13xCD 3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
268.	PM_13xCD 3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDKHTC

			PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
269.	PM_13xCD 3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQ KLSLSLPGGGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
270.	PM_13_CC xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
271.	PM_13_CC xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGCGTKLEIK
272.	PM_13_CC xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIK
273.	PM_13_CC xCD3-	биспецифи ческая	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG

	scFc	молекула	SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNCLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
274.	PM_13_CC xCD3- scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNCLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
275.	PM_13_CC xCD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNCLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL

			TVLGGGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQKSLSLSPGK
276.	PM_14xCD 3-scFc	VH CDR1	DYYMY
277.	PM_14xCD 3-scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIKIG
278.	PM_14xCD 3-scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
279.	PM_14xCD 3-scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
280.	PM_14xCD 3-scFc	VL CDR2	SASYRYS
281.	PM_14xCD 3-scFc	VL CDR3	QQYDAPMGT
282.	PM_14xCD 3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSS
283.	PM_14xCD 3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQ YDAPMGTFGGGTKLEIK
284.	PM_14xCD 3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGGGTKLEIK
285.	PM_14xCD 3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS

			CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
286.	PM_14xCD 3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK
287.	PM_14xCD 3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV

			YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
288.	PM_14_CC xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
289.	PM_14_CC xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQQ YDAPMGTFGCGTKLEIK
290.	PM_14_CC xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGCGTKLEIK
291.	PM_14_CC xCD3- scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
292.	PM_14_CC xCD3- scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLT I SSVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP

			ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLSPGK
293.	PM_14_CC xCD3- scFc_del GK	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EHWVAIISDGGYYTYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDAPMGTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLSPGK
294.	PM_15xCD 3-scFc	VH CDR1	DYYMN
295.	PM_15xCD 3-scFc	VH CDR2	IISDNKHQTYYSDI IKG
296.	PM_15xCD 3-scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
297.	PM_15xCD	VL CDR1	KASQNVDTNVA

	3-scFc		
298.	PM_15xCD 3-scFc	VL CDR2	SASYRYS
299.	PM_15xCD 3-scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT
300.	PM_15xCD 3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWVAII SDNKHQTYYSDI I KGRFAISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
301.	PM_15xCD 3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGTKLEIK
302.	PM_15xCD 3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWVAII SDNKHQTYYSDI I KGRFAISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIK
303.	PM_15xCD 3-scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWVAII SDNKHQTYYSDI I KGRFAISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
304.	PM_15xCD 3-scFc	биспецифи ческая HLE молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGL EWWVAII SDNKHQTYYSDI I KGRFAISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV

			QYDSYPYTFGCGTKLEIK
309.	PM_15_CC xCD3- scFc	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWAIIISDNKHQTYYSDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
310.	PM_15_CC xCD3- scFc	биспецифическая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWAIIISDNKHQTYYSDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPELPGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHC PPELPGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
311.	PM_15_CC xCD3- scFc_del GK	биспецифическая HLE молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCL EWAIIISDNKHQTYYSDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV

			KDRFTTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSDKHTCPCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
312.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VH CDR1	DYYMY
313.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VH CDR2	IISDAGYYTYYSDIKIG
314.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
315.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
316.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYRYS

317.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYESYPYT
318.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDAGYYTYYSIDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
319.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSRVSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YESYPYTFGCGTKLEIK
320.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDAGYYTYYSIDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSRVSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYESYPYTFGCGTKLEIK
321.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDAGYYTYYSIDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSRVSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYESYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGSGTQVTVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLT TVL
322.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDAGYYTYYSIDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSRVSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYESYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY

			<p>WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
323.	<p>PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc_del GK</p>	<p>биспецифич еская молекула HLE</p>	<p>QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDAGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYESYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTI SRDSDKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
324.	<p>PM 76- B10.02 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc</p>	<p>биспецифи ческая молекула</p>	<p>QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDAGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYESYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS</p>

			CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKT TVL
325.	PM 76- B10.02 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAII SDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYESYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKT TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
326.	PM 76- B10.02 CC x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAII SDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYESYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKT TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV

			YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQ KSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDNLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQKSLSLSPGK
327.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	VH CDR1	DYYMY
328.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIKIG
329.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPLLRRHGAMDY
330.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
331.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYRYS
332.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDQQLIT
333.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKGL EWWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRRHGAMDYWGQGTLLVTVSS
334.	PM 76- B10.08 x I2C0-	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGGGTKLEIK

	scFc		
335.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIK
336.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
337.	PM 76- B10.08 x I2C0- scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
338.	PM 76-	биспецифич	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL

	B10.08 x I2C0- scFc_del GK	еская молекула HLE	EWVAIISDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKL TVLGGGDKTHTCP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
339.	PM 76- B10.08 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKL TVL
340.	PM 76- B10.08 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифи ческая молекула HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG

			<p>TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWFVGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>
341.	<p>PM 76- B10.08 x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK</p>	<p>биспецифич еская молекула HLE</p>	<p>QVQLVESGGGLVKKPGEISLRSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNHLKTEDTAVYYCVRHGFNGNSIYISY WAYCGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGQTAVVTQEPISLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWFVGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGYSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>
342.	<p>PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc</p>	VH CDR1	DYYMY
343.	<p>PM 76- B10.08</p>	VH CDR2	IISDGYYTYYSDI IKG

	CC x I2C0- scFc		
344.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
345.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
346.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYRYS
347.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDQQLIT
348.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
349.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSRVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGCGTKLEIK
350.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSRVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIK

351.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSYDYMYWVRQAPGKCL EHWVAII SDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
352.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула HLE	QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSYDYMYWVRQAPGKCL EHWVAII SDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PCCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
353.	PM 76- B10.08 CC x I2C0- scFc_del GK	биспецифическая молекула HLE	QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSYDYMYWVRQAPGKCL EHWVAII SDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY

			<p>WAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK</p>
354.	<p>PM 76- B10.08 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc</p>	<p>биспецифи ческая молекула</p>	<p>QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
355.	<p>PM 76- B10.08 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc</p>	<p>биспецифич еская молекула HLE</p>	<p>QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQ</p>

			<p>KLSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>
356.	<p>PM 76- B10.08 CC x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK</p>	<p>биспецифич еская молекула HLE</p>	<p>QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARI RSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGQTVVTVQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>
357.	<p>PM 76- B10.11 x I2C0- scFc</p>	VH CDR1	DYYMY
358.	<p>PM 76- B10.11 x I2C0- scFc</p>	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDI IKG
359.	<p>PM 76- B10.11 x I2C0- scFc</p>	VH CDR3	GFLLRHGAMDY
360.	<p>PM 76-</p>	VL CDR1	KASQNVDTNVA

	B10.11 x I2C0- scFc		
361.	PM 76- B10.11 x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYVYW
362.	PM 76- B10.11 x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDQQLIT
363.	PM 76- B10.11 x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
364.	PM 76- B10.11 x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGGGTKLEIK
365.	PM 76- B10.11 x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIK
366.	PM 76- B10.11 x I2C0- scFc	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLQSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
367.	PM 76- B10.11 x I2C0-	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG

	scFc	HLE	SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
368.	PM 76- B10.11 x I2C0- scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KLSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
369.	PM 76-	биспецифи	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL

	B10.11 x I2C0 CC (103/43) -scFc	чешская молекула	EWVAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGG TKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
370.	PM 76- B10.11 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGG TKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCP PPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPC EEQY GSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTC PPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKT KPC EEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
371.	PM 76- B10.11 x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGG

			<p>TVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQKSLSLSPGK</p>
372.	<p>PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc</p>	VH CDR1	DYYMY
373.	<p>PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc</p>	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIK
374.	<p>PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc</p>	VH CDR3	GFLLRHGAMY
375.	<p>PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc</p>	VL CDR1	KASQNVDTNVA
376.	<p>PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc</p>	VL CDR2	SASYVYW
377.	<p>PM 76-</p>	VL CDR3	QQYDQQLIT

	B10.11 CC x I2C0- scFc		
378.	PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc	VII	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSS
379.	PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGCGTKLEIK
380.	PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIK
381.	PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKL TVL
382.	PM 76- B10.11 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула HLE	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPSTVSPGG

			KDRFTISRDDSKN TAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
385.	PM 76- B10.11 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKN TAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
386.	PM 76- B10.11 CC x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKN TAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

			<p>TPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSEFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
387.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VH CDR1	DYYMY
388.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VH CDR2	IISDAGYYTYYSDIKIG
389.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPLL RHGAMDY
390.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VL CDR1	KASQNV DANVA
391.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYRYS
392.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDQQLIT
393.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VH	<p>QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYMYWVRQAPGKGL EHWVAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPPLL RHGAMDYWGQGT LVTVSS</p>
394.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	VL	<p>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYS DVPSRFGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGGGTKLEIK</p>

395.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIK
396.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	биспецифи- ческая молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
397.	PM 76- B10.14 x I2C0- scFc	биспецифич- еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPELPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
398.	PM 76- B10.14 x	биспецифич- еская	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED

	I2C0- scFc_del GK	молекула HLE	TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLISGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGSEFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK
399.	PM 76- B10.14 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDAGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLISGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
400.	PM 76- B10.14 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDAGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVVTQEPSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP

			ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLT TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
401.	PM 76- B10.14 x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIIISDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKLT TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDS DGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
402.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	VH CDR1	DYYMY
403.	PM 76- B10.14	VH CDR2	IISDAGYYTYSDIIKG

	CC x I2C0- scFc		
404.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
405.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	VL CDR1	KASQNVDANVA
406.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYRYS
407.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDQQLIT
408.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
409.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDANVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSRVSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGCGTKLEIK
410.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSRVSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIK

411.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула	QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSYDYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
412.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc	биспецифическая молекула HLE	QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSYDYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
413.	PM 76- B10.14 CC x I2C0- scFc_del GK	биспецифическая молекула HLE	QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSYDYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVITITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY

			<p>WAYWGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
414.	<p>PM 76- B10.14 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc</p>	<p>биспецифич еская молекула</p>	<p>QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDAGYYTYSDII KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARISKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL</p>
415.	<p>PM 76- B10.14 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc</p>	<p>биспецифич еская молекула HLE</p>	<p>QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFT FSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDAGYYTYSDII KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARISKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ</p>

			KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
416.	PM 76- B10.14 CC x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVLPKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAII SDAGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGQTVVTVQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCP RGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
417.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	VH CDR1	DYYMY
418.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	VH CDR2	IISDAGYYTYYSDI IKG
419.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
420.	PM 76-	VL CDR1	KASQNV DANVA

	B10.17 x I2C0- scFc		
421.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYVYW
422.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDQQLIT
423.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
424.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGGGTKLEIK
425.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIK
426.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
427.	PM 76- B10.17 x I2C0-	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG

	scFc	HLE	SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVNANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPE EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
428.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVQKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDAGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVNANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTC CPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
429.	PM 76-	биспецифич	QVQLVESGGGLVQKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL

	B10.17 x I2C0 CC (103/43) -scFc	еская молекула	EWVAIISDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
430.	PM 76- B10.17 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVQPKGESLRSLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPELPGGKLVVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
431.	PM 76- B10.17 x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVQPKGESLRSLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG

			<p>TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPC CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
432.	<p>PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc</p>	VH CDR1	DYYMY
433.	<p>PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc</p>	VH CDR2	IISDAGYYTYYSDIKIG
434.	<p>PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc</p>	VH CDR3	GFPLLRHGAMDY
435.	<p>PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc</p>	VL CDR1	KASQNV DANVA
436.	<p>PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc</p>	VL CDR2	SASYVYW
437.	<p>PM 76-</p>	VL CDR3	QQYDQQLIT

	B10.17 CC x I2C0- scFc		
438.	PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDAGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
439.	PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQ YDQQLITFGCGTKLEIK
440.	PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDAGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIK
441.	PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDAGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
442.	PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDAGYYTYYSDI I KGRFTISRDNKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGGQTVVVTQEP SLTVSPGG

			<p>TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQKSLSLSPGK</p>
443.	<p>PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc_del GK</p>	<p>биспецифич еская молекула HLE</p>	<p>QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTTFSYIMYWRQAPGKCL EHWVAII SDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASVYVDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGTQVTVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTF ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQKSLSLSPGK</p>
444.	<p>PM 76- B10.17 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc</p>	<p>биспецифи ческая молекула</p>	<p>QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTTFSYIMYWRQAPGKCL EHWVAII SDAGYYTYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASVYVDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV</p>

			KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
445.	PM 76- B10.17 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDKHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
446.	PM 76- B10.17 CC x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFPLLRRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYVWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT

			TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
447.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VH CDR1	DYYMY
448.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDIKIG
449.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPLL RHGAMDY
450.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
451.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYRYS
452.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT
453.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTTSDYYMYWVRQAPGKGL EWVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAED TAVYYCARGFPLL RHGAMDYWGQGT LVTVSS
454.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFRSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGGGTKLEIK

455.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGG TKLEIK
456.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGG TKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKL TVL
457.	PM 76- B10 x I2C0- scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGG TKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAAL T LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKL TVLGGGDKTHTCP PCAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
458.	PM 76- B10 x	биспецифич еская	QVQLVESGGGLVVKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWWAII SDGGYYTYYSDI I KGRFTI SRDNAKNSLYLQMNLSKAED

	I2C0- scFc_del GK	молекула HLE	TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVSCVMHEALHNYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKHTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSQVSCVMHEALHNYTQKSLSLSPGK
459.	PM 76- B10 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVL
460.	PM 76- B10 x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EWAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP

			ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTC PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
461.	PM 76- B10 x I2C0 CC (103/43) - scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVLPKGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGL EHWVAII SDGGYYTYYSDI IKGRTI SRDNAKNSLYLQMNLSLKAED TAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSRVPSRFSGSASGTDFTLTITSSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSV KDRFTI SRDSSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGQTVVTVQEP SLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGGDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
462.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	VH CDR1	DYYMY
463.	PM 76- B10 CC x I2C0-	VH CDR2	IISDGGYYTYYSDI IKG

	scFc		
464.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	VH CDR3	GFPELLRHGAMDY
465.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	VL CDR1	KASQNVDTNVA
466.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	VL CDR2	SASYRYS
467.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	VL CDR3	QQYDSYPYT
468.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSS
469.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPK SLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQ YDSYPYTFGCGTKLEIK
470.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIK
471.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	биспецифи ческая молекула	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWWAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTAVTVTQEPSTVSPGG

			TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
472.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
473.	PM 76- B10 CC x I2C0- scFc_del GK	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EWAIIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGGSGGGGSGQTVVTVQEPVSLTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPP

			CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNYTQKSLSLSPGK
474.	PM 76- B10 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSIDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCPRLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL
475.	PM 76- B10 CC x I2C0 CC (103/43) -scFc	биспецифич еская молекула HLE	QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSIDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRSDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGQTVVTVQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQCPRLIGGTKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNYTQ KSLSLSPGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNYTQKSLSLSPGK
476.	PM 76- B10 CC x I2C0 CC	биспецифич еская молекула	QVQLVESGGGLVKKPGESLRRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCL EHWAIISDGGYYTYYSIDIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAED TAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGG

	(103/43) - scFc_del GK	HLE	SDIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAP KSLIYSASYRYSDVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQ QYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSV KDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSTVSPGG TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRLIGGKFLAPGTP ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTL TVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQ KSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQKSLSLSPGK
477.	шарнир IgG1		DKTHTCPPCP
478.	шарнир IgG2		ERKCCVECP
479.	шарнир IgG3		ELKTPLDTHTCPRCP
480.	шарнир IgG4		ESKYGPCCPSCP
481.	EGFRvIII схI2C- шарнир- CH2-CH3- линкер- шарнир- CH2-CH3 (DF9)	биспецифи ческая молекула HLE	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCL EWAIVAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAED TAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSG GGGSDTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWL QQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVDPDRFSGSAGTDFTLEISRVEAE DVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW VFGGKTLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAK

			VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
484.	EGFRvIII схI2C- шарнир- CH2- линкер- CH2-CH3- линкер- CH3 (T7I)	биспецифи ческая молекула HLE	QVQLVESGGGVVQSGRSLRSLCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCL EWVAVIWIYDGS DKYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAED TAVYYCARDGYDIL TGNPRDFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSG GGGSDTVMQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWL QQRPGQPPRLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAE DVG VYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCVLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQ YGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GGGGSGGGSGGGSGGGSAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
485.	EGFRvIII схI2C- CH2- линкер- CH2-CH3- линкер- CH3	биспецифи ческая молекула HLE	QVQLVESGGGVVQSGRSLRSLCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCL EWVAVIWIYDGS DKYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAED TAVYYCARDGYDIL TGNPRDFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSG GGGSDTVMQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWL QQRPGQPPRLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAE DVG VYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY

	(K6C)		ATYYADSVKDRFTTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGSSQTVVVTQEP SLTVSPGGTVTLTLCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLGGKAAALTLGSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRW VFGGGTKLTVLGGGAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGGSTYRCVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGGGGSGGGGS GGGGSGGGGAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGSGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
486.	шарнир IgG3		ELKTPLGDTTHTCPRCP
487.	шарнир IgG1		EPKSCDKTHTCPPCP

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конструкция одноцепочечного антитела, содержащая, в порядке от amino- к карбокси-концу: первый домен, который связывается с PSMA, второй домен, который связывается с внеклеточным эпитопом цепи CD3ε человека и Масаса; и третий домен, который содержит два мономера Fc, где каждый мономер Fc содержит шарнир, домен CH2 и домен CH3, где указанные два мономера Fc слиты друг с другом посредством пептидного линкера, и где указанный третий домен содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу: шарнир-CH2-CH3-линкер-шарнир-CH2-CH3.
2. Конструкция антитела по п.1, где каждый из указанных мономеров Fc указанного третьего домена имеет аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.
3. Конструкция антитела по п.2, где каждый из указанных мономеров Fc указанного третьего домена имеет аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17-24.
4. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что домен CH2 содержит внутримономерный цистеиновый дисульфидный мостик.
5. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что
 - (i) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;
 - (ii) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит два переменных домена антитела;
 - (iii) первый домен содержит два переменных домена антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела; или
 - (iv) первый домен содержит один переменный домен антитела, а второй домен содержит один переменный домен антитела.
6. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что первый и второй домены слиты с третьим доменом посредством пептидного линкера.
7. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что конструкция антитела содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:
 - (a) первый домен;
 - (b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;
 - (c) второй домен;
 - (d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;
 - (e) первый мономер Fc третьего домена;
 - (f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, со-

стоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и

(g) второй мономер Fc третьего домена.

8. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что первый домен указанной конструкции антитела содержит область VL, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, и область VH, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, выбранные из группы, состоящей из:

(a) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 45, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 46, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 47, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 42, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 43, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 44;

(b) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 63, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 64, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 65, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 60, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 61, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 62;

(c) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 81, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 82, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 83, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 78, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 79, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 80;

(d) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 99, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 100, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 101, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 96, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 97, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 98;

(e) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 117, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 118, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 119, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 114, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 115, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 116;

(f) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 135, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 136, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 137, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 132, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 133, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 134;

(g) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 153, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 154, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 155, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 150, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 151, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 152;

(h) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 171, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 172, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 173, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 168, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 169, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 170;

(i) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 189, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 190, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 191, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 186, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 187, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 188;

(j) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 207, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 208, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 209, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 204, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 205, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 206;

(k) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 225, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 226, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 227, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 222, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 223, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 224;

(l) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 243, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 244, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 245, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 240, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 241, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 242;

(m) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 261, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 262, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 263, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 258, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 259, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 260;

(n) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 279, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 280, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 281, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 276, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 277, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 278;

(o) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 297, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 298, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 299, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 294, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 295, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 296;

(p) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 315, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 316, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 317, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 312, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 313, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 314;

(q) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 330, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 331, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 332, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 327, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 328, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 329;

(r) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 345, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 346, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 347, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 342, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 343, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 344;

(s) CDR-L1, приведенной в SEQ ID NO: 360, CDR-L2, приведенной в SEQ ID NO: 361, CDR-L3, приведенной в SEQ ID NO: 362, CDR-H1, приведенной в SEQ ID NO: 357, CDR-H2, приведенной в SEQ ID NO: 358, и CDR-H3, приведенной в SEQ ID NO: 359;

(an) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 453, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 454; и
(ao) области VH, приведенной в SEQ ID NO: 468, и области VL, приведенной в SEQ ID NO: 469.

10. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что конструкция антитела содержит в порядке от amino-конца к карбокси-концу:

(a) первый домен, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 50, 56, 68, 74, 86, 92, 104, 110, 122, 128, 140, 146, 158, 164, 176, 182, 194, 200, 212, 218, 230, 236, 248, 254, 266, 272, 284, 290, 302, 308, 320, 335, 350, 365, 380, 395, 410, 425, 440, 455 и 470;

(b) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-3;

(c) второй домен, имеющий аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 15;

(d) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 и 12;

(e) первый мономер Fc третьего домена, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24;

(f) пептидный линкер, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, 6, 7 и 8; и

(g) второй мономер Fc третьего домена, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17-24.

11. Конструкция антитела по любому из пп.1-9, имеющая аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 52, 53, 58, 59, 70, 71, 76, 77, 88, 89, 94, 95, 106, 107, 112, 113, 124, 125, 130, 131, 142, 143, 148, 149, 160, 161, 166, 167, 178, 179, 184, 185, 196, 197, 202, 203, 214, 215, 220, 221, 232, 233, 238, 239, 250, 251, 256, 257, 268, 269, 274, 275, 286, 287, 292, 293, 304, 305, 310, 311, 322, 323, 325, 326, 337, 338, 340, 341, 352, 353, 355, 356, 367, 368, 370, 371, 382, 383, 385, 386, 397, 398, 400, 401, 412, 413, 415, 416, 427, 428, 430, 431, 442, 443, 445, 446, 457, 458, 460, 461, 472, 473, 475 и 476.

12. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что первый домен указанной конструкции антитела содержит область VL, содержащую CDR-L1, приведенную в SEQ ID NO: 375, CDR-L2, приведенную в SEQ ID NO: 376, и CDR-L3, приведенную в SEQ ID NO: 377, и область VH, содержащую CDR-H1, приведенную в SEQ ID NO: 372, CDR-H2, приведенную в SEQ ID NO: 373, и CDR-H3, приведенную в SEQ ID NO: 374.

13. Конструкция антитела по любому из предыдущих пунктов, отличающаяся тем, что первый домен указанной конструкции антитела содержит область VH, приведенную в SEQ ID NO: 378, и область VL, приведенную в SEQ ID NO: 379.

14. Конструкция антитела по любому из пп.1-9, имеющая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 382.

15. Полинуклеотид, кодирующий конструкцию антитела, определенную в любом из предыдущих пунктов.

16. Экспрессионный вектор, содержащий полинуклеотид, определенный в п.15.

17. Клетка-хозяин, трансформированная или трансфицированная полинуклеотидом, определенным в п.15, или вектором, определенным в п.16.

18. Способ получения конструкции антитела по любому из пп.1-14, включающий культивирование клетки-хозяина, определенной в п.17, в условиях, делающих возможной экспрессию конструкции антитела, определенной в любом из пп.1-14, и выделение полученной конструкции антитела из культуры.

19. Фармацевтическая композиция, содержащая конструкцию антитела в соответствии с любым из пп.1-14 или полученную в соответствии со способом по п.18.

20. Фармацевтическая композиция по п.19, которая является стабильной в течение по меньшей мере четырех недель при около -20°C .

21. Применение конструкции антитела по любому из пп.1-14 или полученной в соответствии со способом по п.18 для предотвращения, лечения или уменьшения интенсивности рака.

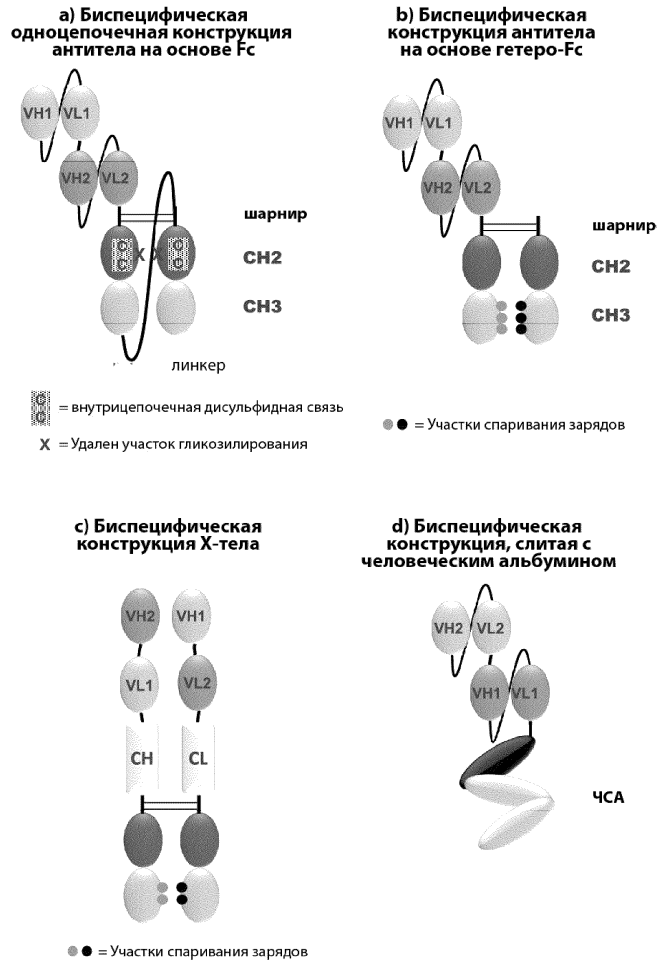
22. Применение по п.21, где указанный рак представляет собой рак предстательной железы.

23. Применение конструкции антитела по любому из пп.1-14 или полученной в соответствии со способом по п.18 для предотвращения, лечения или уменьшения интенсивности иммунологического нарушения.

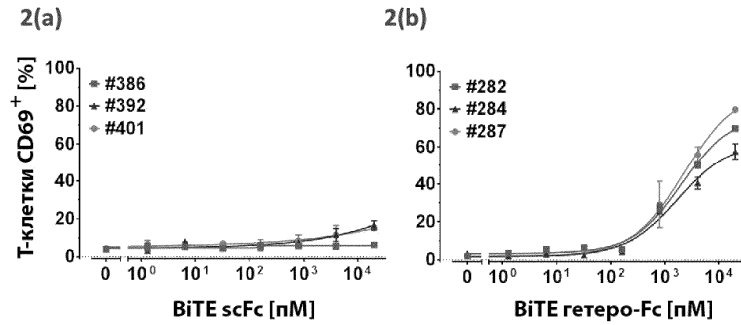
24. Способ лечения или уменьшения интенсивности рака, включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела в соответствии с любым из пп.1-14 или полученной в соответствии со способом по п.18.

25. Способ по п.24, где указанный рак представляет собой рак предстательной железы.

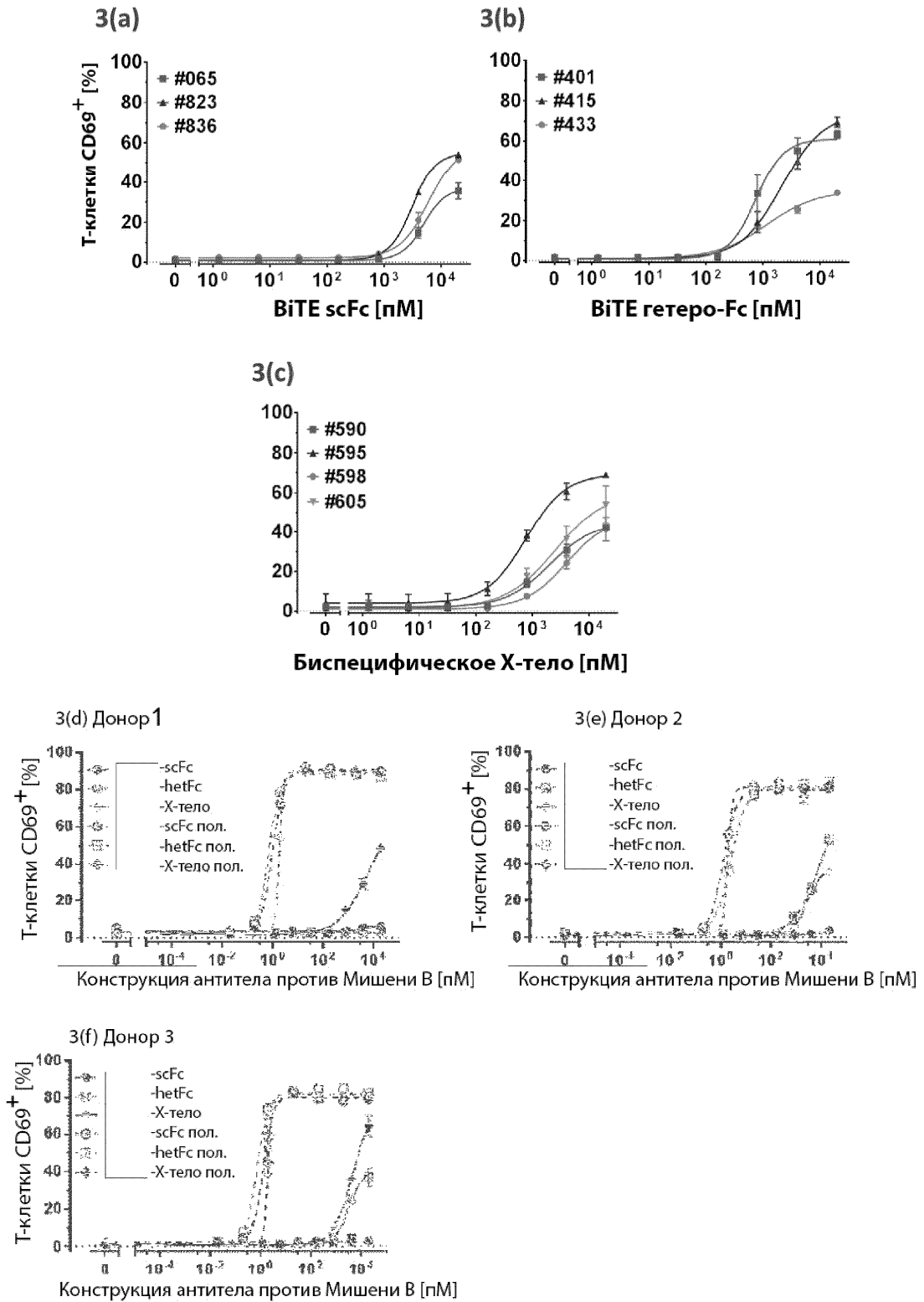
26. Способ лечения или уменьшения интенсивности иммунологического нарушения, включающий этап введения нуждающемуся в этом субъекту конструкции антитела в соответствии с любым из пп.1-14 или полученной в соответствии со способом по п.18.



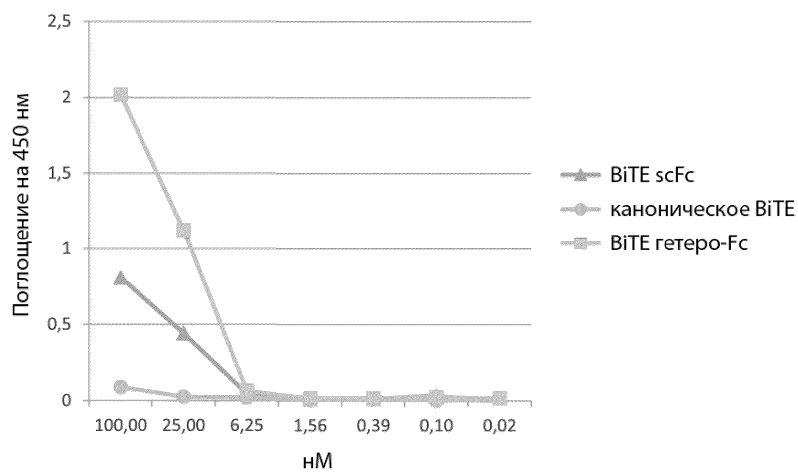
Фиг. 1



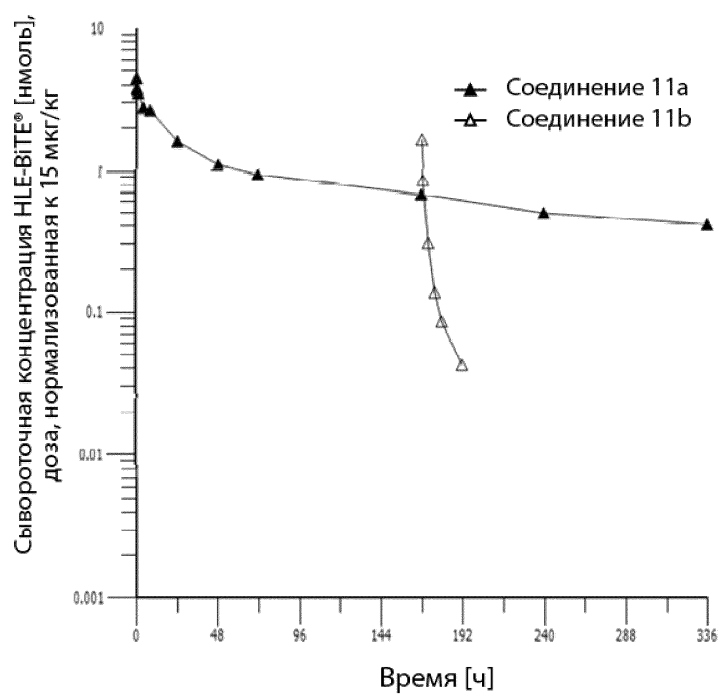
Фиг. 2



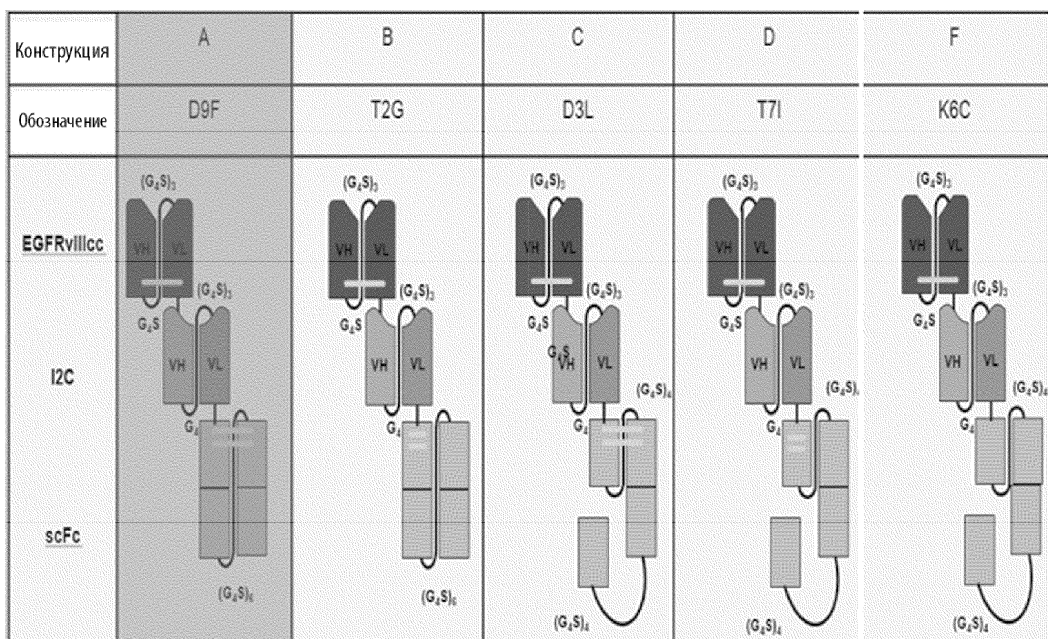
Фиг. 3



Фиг. 4

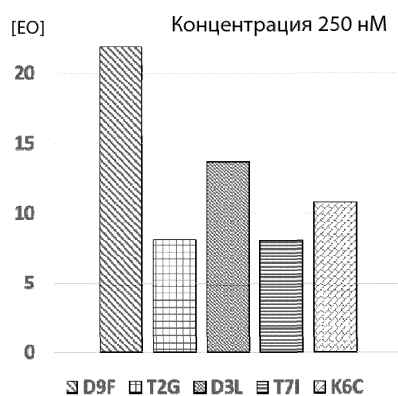


Фиг. 5

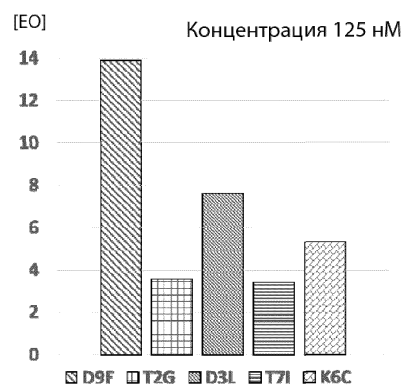


Фиг. 6

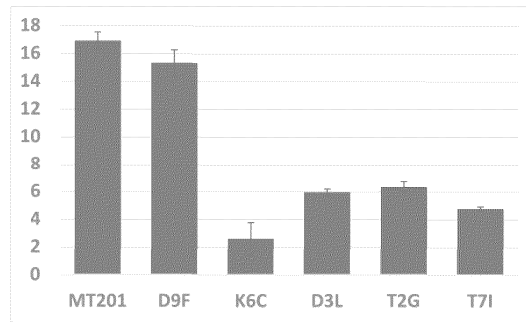
А



В



Фиг. 7



Фиг. 8

