

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045012**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.26

(21) Номер заявки
202090671

(22) Дата подачи заявки
2018.09.06

(51) Int. Cl. **C07K 16/18** (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ОГРАНИЧЕННЫЕ УСЛОВНО АКТИВИРУЕМЫЕ СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ

(31) **62/555,943; 62/586,627; 62/587,318**

(32) **2017.09.08; 2017.11.15; 2017.11.16**

(33) **US**

(43) **2020.07.28**

(86) **PCT/US2018/049774**

(87) **WO 2019/051102 2019.03.14**

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

(72) Изобретатель:
Мэй Чэд, Дьюбридж Роберт Б.,
Виноградова Майя, Панчал Ананд
(US)

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

(56) **WO-A2-2016046778**
WO-A2-2010081173
WO-A1-2016179285
WO-A1-2016156570
WO-A2-2007042289
WO-A1-2016180969
CHAD MAY ET AL.: "Advances in bispecific
biotherapeutics for the treatment of cancer",
BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, vol. 84, no.
9, 1 November 2012 (2012-11-01), pages 1105-1112,

XP055071310, ISSN: 0006-2952, DOI: 10.1016/
j.bcp.2012.07.011, figure 1; tables 1, 2

FRANKEL STANLEY R. ET AL.: "Targeting
T cells to tumor cells using bispecific antibodies.",
CURRENT OPINION IN CHEMICAL BIOLOGY
JUN 2013, vol. 17, no. 3, June 2013 (2013-06), pages
385-392, XP002787546, ISSN: 1879-0402, the whole
document

WO-A1-2011033105

WO-A1-2013083809

FRANCESCA FERRARI ET AL.: "Solitomab,
an EpCAM/CD3 bispecific antibody construct
(BiTE?), is highly active against primary uterine and
ovarian carcinosarcoma cell lines in vitro", JOURNAL
OF EXPERIMENTAL & CLINICAL CANCER
RESEARCH, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON
UK, vol. 34, no. 1, 17 October 2015 (2015-10-17),
page 123, XP021230211, ISSN: 1756-9966, DOI:
10.1186/S13046-015-0241-7, page 2, column 1,
paragraph 2

FOSSATI MARCO ET AL.: "Immunological
changes in the ascites of cancer patients after
intraperitoneal administration of the bispecific
antibody catumaxomab (anti-EpCAManti-CD3)",
GYNECOLOGIC ONCOLOGY, vol. 138, no. 2, 2015,
pages 343-351, XP029249222, ISSN: 0090-8258,
DOI: 10.1016/J.YGYNO.2015.06.003, the whole
document

WO-A1-2011144749

WO-A1-2017156178

(57) Изобретение относится к условным биспецифичным конструкциям перенаправленной активации или COBRA (Conditional Bispecific Redirected Activation constructs), которые вводят в формате активного пролекарства. При воздействии опухолевых протеаз указанные конструкции разрезаются и активируются таким образом, что они могут связывать как антигены-мишени опухоли (АМО - ТТА - tumor target antigen), так и CD3, тем самым рекрутируя Т-клетки, экспрессирующие CD3, в опухоль, что приводит к терапевтическому эффекту.

B1**045012****045012 B1**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Заявка на данный патент заявляет приоритет в соответствии с § 119(e) Раздела 35 Кодекса Законов США по предварительной заявке на патент США 62/555943, поданной 8 сентября 2017 г., предварительной заявке на патент США 62/586627, поданной 15 ноября 2017 г., и предварительной заявке на патент США 62/587318, поданной 16 ноября 2017 г., все из которых прямо включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте.

Ссылка на "Перечень последовательностей", таблицу или приложение-список компьютерной программы, представленные на компакт-диске

Перечень последовательностей, содержащийся в файле с именем "118459-5005_ST25.txt" и имеющий размер 984 килобайта, был представлен в электронном виде посредством EFS-Web, и содержимое txt-файла в данный документ полностью включено в качестве ссылки.

Уровень техники

Избирательное разрушение отдельной клетки или определенного типа клеток часто желательно в различных клинических условиях. Например, первичной целью терапии рака является специфическое разрушение опухолевых клеток, в то же время сохранение здоровых клеток и тканей как можно более целыми и неповрежденными. Одним из таких способов является индукция иммунного ответа против опухоли, чтобы заставить иммунные эффекторские клетки, такие как клетки естественные киллеры (NK) или цитотоксические Т-лимфоциты (CTL), атаковать и разрушать опухолевые клетки.

Использование интактных моноклональных антител (mAb), которые обеспечивают превосходную специфичность связывания и сродство к антигену, связанному с опухолью, успешно применяется в области лечения и диагностики рака. Тем не менее, большой размер интактных mAb, их плохое биораспределение, низкая активность и длительная сохранность в пуле крови ограничили их клиническое применение. Например, интактные антитела могут проявлять специфическое накопление в области опухоли. В исследованиях биораспределения при точном исследовании опухоли отмечается неоднородное распределение антител с первичным накоплением в периферических областях. Из-за некроза опухоли, неоднородного распределения антигена и повышенного межклеточного тканевого давления невозможно достичь центральных участков опухоли с помощью интактных конструкций антител. Напротив, более мелкие фрагменты антител демонстрируют быструю локализацию к опухоли, проникают глубже в опухоль, а также относительно быстро удаляются из кровотока. Однако многие антитела, включая scFv и другие конструкции, проявляют эффекты "на мишень/вне опухоли", при которых молекула активна на неопухолевых клетках, вызывая побочные эффекты, некоторые из которых могут быть токсичными. Данное изобретение относится к новым конструкциям, которые селективно активируются в присутствии опухолевых протеаз.

Краткое описание сущности изобретения

Данное изобретение предоставляет ряд различных белковых композиций для лечения рака. Соответственно, в одном аспекте данное изобретение относится к белкам "формата 2", содержащим от N- к C-концу: первый однодоменный антигенсвязывающий домен (одАСД - sdABD - single domain antigen binding domain), который связывается с антигеном-мишенью опухоли человека (АМО - TTA - tumor target antigens) (одАСД-АМО); b) первый линкер доменов; c) ограниченный Fv-домен, содержащий: i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; ii) ограничивающий неразрезаемый линкер (ОНПЛ - CNCL - constrained non-cleavable linker); и iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; d) второй линкер доменов; e) второй одАСД-АМО; f) разрезаемый линкер (ПЛ - CL - cleavable linker); g) ограниченный псевдо Fv-домен, содержащий: i) первый псевдо переменный легкий домен; ii) неразрезаемый линкер (НПЛ - NCL - non-cleavable linker); и iii) первый псевдо тяжелый переменный домен; h) третий линкер доменов; и i) третий одАСД, который связывается с человеческим сывороточным альбумином; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый переменный легкий домен способны связывать CD3 человека, но указанный ограниченный Fv-домен не связывает CD3; указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый псевдо переменный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и указанный первый переменный легкий домен и указанный первый псевдо переменный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к белкам "формата 1", содержащим от N- к C-концу: a) первый одАСД-АМО; b) первый линкер доменов; c) ограниченный Fv-домен, содержащий: i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; ii) ограничивающий разрезаемый линкер (ОПЛ); и iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; d) второй линкер доменов; e) второй одАСД-АМО; f) разрезаемый линкер (ПЛ); g) ограниченный псевдо Fv-домен, содержащий: i) первый псевдо переменный легкий домен; ii) неразрезаемый линкер (НПЛ); и iii) первый псевдо переменный тяжелый домен; h) третий линкер доменов; и i) третий одАСД, который связывается с человеческим сывороточным альбумином; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый переменный легкий домен способны связывать CD3 человека, но указанный ограниченный Fv-домен не связывает CD3; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый псевдо переменный легкий домен внутримолекулярно

ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом указанный первый переменный легкий домен и указанный первый псевдо переменный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к белкам "формата 4", содержащим от N-к С-концу: а) однодоменный антигенсвязывающий домен (одАСД), который связывается с антигеном-мишенью опухоли человека (АМО) (одАСД-АМО); б) первый линкер доменов; в) ограниченный Fv-домен, содержащий: i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; ii) ограниченный неразрезаемый линкер (ОНПЛ); и iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; d) разрезаемый линкер (ПЛ); е) второй одАСД, который связывается с человеческим сывороточным альбумином; f) линкер доменов; g) ограниченный псевдо Fv-домен, содержащий: i) первый псевдо переменный легкий домен; ii) неразрезаемый линкер (НПЛ); и iii) первый псевдо переменный тяжелый домен; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый переменный легкий домен способны связывать CD3 человека, но указанный ограниченный Fv-домен не связывает CD3; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый псевдо переменный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом указанный первый переменный легкий домен и указанный первый псевдо переменный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

В дополнительном аспекте для белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, указанный первый переменный тяжелый домен является N-концевым по отношению к указанному первому переменному легкому домену, и указанный псевдо переменный легкий домен является N-концевым по отношению к указанному псевдо переменному тяжелому домену.

В дополнительном аспекте для белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, указанный первый переменный тяжелый домен является N-концевым по отношению к указанному первому переменному легкому домену, а указанный псевдо переменный тяжелый домен является N-концевым по отношению к указанному псевдо переменному легкому домену.

В дополнительном аспекте для белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, указанный первый переменный легкий домен является N-концевым по отношению к первому переменному тяжелому домену, а указанный псевдо переменный легкий домен является N-концевым по отношению к указанному псевдо переменному тяжелому домену.

В дополнительном аспекте для белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, указанный первый переменный легкий домен является N-концевым по отношению к первому переменному тяжелому домену, а указанный псевдо переменный тяжелый домен является N-концевым по отношению к указанному псевдо переменному легкому домену.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к белкам формата 1 и 2, в которых указанные первая и вторая АМО являются одинаковыми.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к белкам формата 1 и 2, в которых указанные первая и вторая АМО различны.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к белкам формата 1, 2 и 4, в которых указанные первая и вторая АМО выбраны из EGFR, EpCAM, FOLR1 и B7H3. Данные последовательности могут быть выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29; SEQ ID NO: 33; SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 41.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к белкам формата 1, 2 и 4, в которых указанный домен продления периода полураспада имеет SEQ ID NO: 45.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к белкам формата 1, 2 и 4, в которых указанный разрезаемый линкер разрезается человеческой протеазой, выбранной из группы, состоящей из MMP2, MMP9, Меприна А, Меприна В, Катепсина S, Катепсина К, Катепсина L, Гранзим В, УАП, Калликреин7, матриптазы и тромбина.

В следующем аспекте данное изобретение обеспечивает белок, выбранный из группы, состоящей из Pro186, Pro225, Pro226, Pro233, Pro311, Pro312, Pro313, Pro495, Pro246, Pro254, Pro255, Pro256, Pro420, Pro421, Pro432, Pro479, Pro480, Pro187, Pro221, Pro222, Pro223, Pro224, Pro393, Pro394, Pro395, Pro396, Pro429, Pro430 и Pro431.

В дополнительном аспекте данное изобретение обеспечивает нуклеиновые кислоты, кодирующие белок формата 1, формата 2 или формата 4, как описано в данном документе, а также векторы экспрессии и клетки-хозяева, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие белок.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к способам получения белков по данному изобретению и способам лечения пациентов, нуждающихся в этом.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к композициям, содержащим пары пролекарственных белков "формата 3А", содержащим: а) первый белок, содержащий от N- до С-конца: i) первый одАСД-АМО; ii) первый линкер доменов; iii) псевдо Fv-домен, содержащий от N- к С-концу: 1) переменную тяжелую цепь, содержащую vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; 2) разрезаемый линкер; и 3) первый псевдо переменный легкий домен, содержащий iVLCDR1, iVLCDR2 и iVLCDR3; iv) второй

линкер доменов; v) одАСД-ЧСА; а) первый второй белок, содержащий от N- до С-конца: i) третий одАСД, который связывается с антигеном-мишенью опухоли человека; ii) третий линкер доменов; iii) псевдо Fv-домен, содержащий от N- к С-концу: 1) переменную легкую цепь, содержащую VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3; 2) разрезаемый линкер; и 3) первый псевдо переменный тяжелый домен, содержащий iVHCDR1, iVHCDR2 и iVHCDR3; iv) четвертый линкер доменов; v) одАСД-ЧСА; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый переменный легкий домен способны связывать человеческий CD3, при ассоциации; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый псевдо переменный легкий домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; при этом указанный первый переменный легкий домен и указанный первый псевдо переменный тяжелый домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом указанные первый и третий одАСД выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29; SEQ ID NO: 33; SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 41.

В дополнительном аспекте изобретение относится к композициям, содержащим пары пролекарственных белков "формата 3В", включающие а) первый белок, содержащий от N- до С-конца: i) первый одАСД-АМО; ii) первый линкер доменов; iii) второй одАСД-АМО; iv) второй линкер доменов; iii) псевдо Fv-домен, содержащий от N- к С-концу: 1) переменную тяжелую цепь, содержащую vHCDR1, vHCDR2 и vHCDR3; 2) разрезаемый линкер; и 3) первый псевдо переменный легкий домен, содержащий iVLCDR1, iVLCDR2 и iVLCDR3; iv) третий линкер доменов; и v) одАСД-ЧСА; а) первый второй белок, содержащий от N- до С-конца: i) третий одАСД-АМО; ii) четвертый домен линкер; iii) четвертый одАСД-АМО; iv) пятый линкер доменов; iii) псевдо Fv-домен, содержащий от N- к С-концу: 1) переменную легкую цепь, содержащую VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3; 2) разрезаемый линкер; и 3) первый псевдо переменный тяжелый домен, содержащий iVHCDR1, iVHCDR2 и iVHCDR3; iv) шестой линкер доменов; v) одАСД-ЧСА; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый переменный легкий домен способны связывать человеческий CD3, при ассоциации; при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый псевдо переменный легкий домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом указанный первый переменный легкий домен и указанный первый псевдо переменный тяжелый домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

В дополнительном аспекте белки формата 3А и формата 3В имеют одАСД-ЧСА, которые имеют SEQ ID NO: 45.

В дополнительном аспекте белки формата 3А и формата 3В имеют одАСД-АМО, который связывается с АМО, выбранным из EGFR, EpCAM, FOLR1 и B7H3. ОдАСД-АМО могут быть выбраны из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 29; SEQ ID NO: 33; SEQ ID NO: 37 и SEQ ID NO: 41.

В дополнительном аспекте данное изобретение относится к композициям нуклеиновых кислот, содержащим первые нуклеиновые кислоты, которые кодируют первые белковые члены пары пролекарства, и вторые нуклеиновые кислоты, которые кодируют вторые белковые члены пар, а также векторы экспрессии и клетки-хозяева, содержащие нуклеиновые кислоты.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображен "формат 1" тип активации протеазы по данному изобретению, называемый в данном документе "ограниченными, разрезаемыми конструкциями" или "ор конструкциями". В данном варианте осуществления типичной конструкцией является Pro140: существуют АСД для двух АМО (как изображено на фиг. 1, оба они одинаковы, хотя, как описано в данном документе, они могут быть разными). После разрезания конструкция пролекарства разрезается на три компонента, один из которых содержит домен α -АМО, связанный через линкер доменов с активным VH α CD3, второй содержит домен α -АМО, связанный через линкер доменов с активным VL α CD3, и "оставшийся" элемент, содержит домен продления периода полураспада, связанный с неактивными VH и VL. Два активных переменных домена затем могут свободно ассоциироваться с образованием функционального анти-CD3-связывающего домена. Следует отметить, что в вариантах осуществления "формата 1" полученный активный компонент является трехвалентным: имеется одновалентное связывание с CD3 и двухвалентное связывание с АМО, что образует биспецифический связывающий белок, хотя в некоторых случаях эта трехвалентность может быть триспецифической с моновалентным связыванием с CD3, моновалентным связыванием с первым АМО и моновалентным связыванием со вторым АМО. Фиг. 1 также демонстрирует домен человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) в качестве домена продления периода полураспада, во многих вариантах осуществления одАСД, как определено в данном документе, хотя, как обсуждается в данном документе, это необязательно и/или он может быть заменен другим доменом продления периода полураспада. Кроме того, домен продления периода полураспада также может быть N-концевым по отношению к конструкции или внутренним. Фиг. 1 также имеет VH и VL Fv и iVH и iVL псевдо Fv в определенном порядке, например, от N- к С-концу, VH-линкер-VL (и iVL-линкер-iVH), хотя и как специалистам в данной области будет понятно, что они могут быть обращены (VL-линкер-VH и

iVH-линкер-iVL). Альтернативно, один из этих Fv может находиться в одной ориентации, а другой в другой ориентации, хотя экспрессия белка в ориентации, продемонстрированной в данном документе, была неожиданно выше, чем в других ориентациях.

На фиг. 2 изображен "формат 2" тип активации протеазы по данному изобретению, называемый в данном документе "ограниченными, неразрезаемыми конструкциями" или "ОНРЛ конструкциями", также иногда называемыми в данном документе "конструкциями димеризации", как обсуждалось в данном описании. Данные конструкции не изомеризуются, как обсуждается в данном документе. После разрезания две пролекарственные конструкции разрезаются на четыре компонента, два домена продления периода полураспада (в данном случае одАСД для ЧСА), связанные с двумя псевдодоменами (которые могут или не могут быть способны самоассоциироваться, в зависимости от длины линкеров и инактивирующих мутаций), и две активные части, которые самостоятельно собираются в димерную активную группу, которая содержит четыре домена против АМО (которые могут быть одинаковыми или две одинаковыми, а две другие разными). Следует отметить, что в вариантах осуществления "формата 2" полученный активный компонент является шестивалентным: имеется двухвалентное связывание с CD3 и четырехвалентное связывание с АМО, что образует биспецифический связывающий белок, хотя в некоторых случаях эта шестивалентность может быть триспецифической, с двухвалентным связыванием с CD3, двухвалентным связыванием с первым АМО и двухвалентным связыванием со вторым АМО. Фиг. 2 также демонстрирует домен человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) в качестве домена продления периода полураспада, во многих вариантах осуществления одАСД, как определено в данном документе, хотя, как обсуждено в данном документе, это необязательно и/или он может быть заменен другим доменом продления периода полураспада. Кроме того, домен продления периода полураспада также может быть N-концевым по отношению к конструкции или внутренним. Фиг. 2 также имеет VH и VL Fv и iVH и iVL псевдо Fv в определенном порядке, например, от N- к C-концу, VH-линкер-VL (и iVL-линкер-iVH), хотя и как специалистам в данной области будет понятно, они могут быть обращены (VL-линкер-VH и iVH-линкер-iVL). Альтернативно, один из этих Fv может находиться в одной ориентации, а другой в другой ориентации, хотя экспрессия белка в ориентации, как продемонстрировано в данном документе, была неожиданно выше, чем в других ориентациях.

Фиг. 3А-3В изображают конструкции "формата 3" типа, также иногда называемые "hemi-конструкциями" или "hemi-COBRA™" (COBRA - Conditional Bispecific Redirected Activation construct - условная биспецифическая конструкция перенаправленной активации), как указано в данном документе, поскольку они представляют собой две разные полипептидные цепи, которые вместе составляют МСЕ (multivalent conditionally effective) терапевтическое средство, как дополнительно обсуждается в данном документе. В данном варианте осуществления конструкции доставляются парами, при этом внутримолекулярная самосборка перед разрезанием приводит к неактивным доменам Fv анти-CD3. После разрезания инертные переменные домены высвобождаются, и два активных переменных домена затем межмолекулярно собираются, образуя активный анти-CD3-связывающий домен. Два одАСД-АМО связываются с соответствующим рецептором на поверхности опухолевых клеток, и расщепление осуществляется протеазой. Это обеспечивает межмолекулярную сборку, поскольку молекулы физически удерживаются на месте, способствуя сборке активного домена анти-CD3. Как и выше для форматов 1 и 2, в этом варианте осуществления порядок от N- к C-концу переменных доменов может быть обратным или смешанным. Кроме того, одАСД (ЧСА) может находиться на N- или C-конце каждой полуконструкции. Pro16 имеет одАСД (ЧСА) на C-конце, а Pro17 имеет его на N-конце (см. Pro19, SEQ ID NO: XX, имеет одАСД (ЧСА) на C-конце). На фиг. 3А продемонстрированы конструкции формата 3 с одним доменом одАСД-АМО на одну полуконструкцию, а на фиг. 3В продемонстрированы конструкции формата 3 с двумя одАСД-АМО на одну полу-конструкцию в виде "двойного нацеливания" или "гетеро нацеливания". Обратите внимание, что на фиг. 3В используются FOLR1 и EGFR в качестве двух АМО, но также могут использоваться другие комбинации, как описано в данном документе.

На фиг. 4 изображены конструкции "формата 4" типа, которые аналогичны конструкциям типа "2", но имеют только один одАСД-АМО. На данной фигуре продемонстрированы одАСД-АМО-EGFR, но, как будет понятно специалистам в данной области техники, также можно использовать другие АМО. После разрезания конструкция пролекарства разрезается на два компонента: домен удлинения периода полураспада (в данном случае одАСД для ЧСА), связанный с псевдо Fv, и активный фрагмент, который в присутствии второго активного фрагмента из другой расщепленной молекулы самоорганизуется в димерный активный фрагмент, который содержит два домена против АМО. Следует отметить, что в вариантах осуществления "формата 4" полученный активный компонент является четырехвалентным: имеется двухвалентное связывание с CD3 и двухвалентное связывание с АМО, что образует биспецифический связывающий белок. Фиг. 4 также демонстрирует домен человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) в качестве домена продления периода полураспада, во многих вариантах осуществления одАСД ($1/2$), как определено в данном документе, хотя, как обсуждено в данном документе, это необязательно и/или он может быть заменен другими доменами продления времени полураспада. Кроме того, домен продления периода полураспада также может быть N-концевым или внутренним по отношению к конструкции. Фиг. 4 также имеет VH и VL Fv и iVH и iVL псевдо Fv в определенном порядке, например, от N- к C-

концу, VH-линкер-VL (и iVL-линкер-iVH), хотя и как специалистам в данной области будет понятно, что они могут быть обращены (VL-линкер-VH и iVH-линкер-iVL). Альтернативно, один из этих Fv может находиться в одной ориентации, а другой в другой ориентации, хотя экспрессия белка в ориентации, как продемонстрировано в данном документе, была неожиданно выше, чем в других ориентациях.

Фиг. 5A-5G изображает ряд последовательностей по данному изобретению. CDR подчеркнуты для антигенсвязывающих доменов. Как более подробно описано в данном документе, эти домены могут быть собраны в широком разнообразии конфигураций в данном изобретении, включая ориентации "формата 1", "формата 2", "формата 3" и "формата 4". Следует отметить, что SEQ ID NO: 90 разрезается с помощью MMP9 немного быстрее, чем SEQ ID NO: 75 и 76, а SEQ ID NO: 91 разрезается медленнее, чем SEQ ID NO: 75 и 76.

На фиг. 6A-6B изображено несколько подходящих сайтов разрезания протеазой. Как будет понятно специалистам в данной области, эти сайты разрезания могут использоваться в качестве разрезаемых линкеров. В некоторых вариантах, например, когда требуются более гибкие разрезаемые линкеры, могут присутствовать дополнительные аминокислоты (обычно глицины и серины), которые являются N- или C-концевыми по отношению к этим сайтам разрезания.

Фиг. 7A-7D изображает некоторые данные, связанные со структурами "формата 3" или "hemi-COBRA™". Это демонстрирует, что конструкции формата 3 связываются кооперативно с CD3 после разрезания протеазой (в данном случае ЕК протеазой, хотя можно использовать любой из сайтов разрезания протеаз, описанных в данном документе и изображенных на фиг. 5 и 6) и образуют CD3-связывающий сайт, как продемонстрировано сэндвич-анализом FACS.

Фиг. 8A-8D демонстрирует, что расщепление протеазой совместно активирует уничтожение Т-клетками EGFR+клетки-мишени с помощью комплементарных пар hemi-COBRA™. Фиг. 8A и 8B демонстрируют, что конструкции в изоляции, но разрезанные с различными концентрациями протеазы, не влияют на жизнеспособность клеток-мишеней. Тем не менее, фиг. 8C демонстрирует, что в комбинации, в присутствии протеазы, жизнеспособность клеток-мишеней значительно снижается. Фиг. 8D демонстрирует общий механизм.

На фиг. 9 продемонстрированы некоторые нецелевые контроли для использования в анализах для проверки эффективности конструкций формата 1.

Фиг. 10A-10F демонстрирует, что генерация активного домена связывания CD3 зависит от связывания с мишенью обоих "плеч", например доменов одАСД-АМО, один из которых находится на каждой из двух конструкций. Анализ TDCC проводили, как описано в примерах.

На фиг. 11 продемонстрирована схема подходящих пар hemi-COBRA™. "Mep" обозначает сайт разрезания меприн-протеазы, "His-6" представляет собой метку, которая более подробно обсуждается в данном документе, ST14 представляет собой сайт разрезания матриптазной протеазой, а "Thb" представляет собой сайт разрезания тромбиновой протеазой.

Фиг. 12A-12C продемонстрированы данные TDCC, связанные с конструкциями фиг. 11. На фиг. 12A продемонстрировано, что добавление предварительно расщепленных пар hemi-COBRA приводит к эффективности на клетках OvCAR8, На фиг. 12B продемонстрировано, что добавление предварительно расщепленных пар hemi-COBRA приводит к эффективности на клетках HCT116, а на фиг. 12C продемонстрировано, что добавление предварительно расщепленных пар hemi-COBRA приводит к эффективности на клетках LoVo, которые все являются линиями раковых клеток.

Фиг. 13A-13B демонстрирует, что линкер MMP9 стабилен *in vivo*. Мышам NSG вводили одну внутривенную болюсную дозу либо Pro40 (разрезаемого MMP9), Pro74 (не разрезаемого) через хвостовую вену при уровне дозы 0,5 мг/кг. Раствор дозы для каждого соединения готовили в носителе из 25 mM лимонной кислоты, 75 mM L-аргинина, 75 mM NaCl и 4% сахарозы, pH 7,0. Два образца крови были собраны в предварительно выбранные моменты времени у каждого животного, один к началу исследования, собранный с помощью орбитального кровотечения или поднижнечелюстного кровотечения, а другой в конечный момент времени с помощью пункции сердца. Временные точки для сбора крови были 0,083, 1, 6, 24, 72 и 168 ч. Плазму готовили из каждого отдельного образца крови, используя пробирки K₂EDTA. Концентрации определяли с применением анализа MSD с mAb, специфичным к анти-ЧСА одАСД, и определяли с помощью внеклеточного домена EGFR.

На фиг. 14 изображены схемы конструкций hemi-COBRA™ формата 3A, использованных в экспериментах, изображенных на фиг. 15. Pro51 является положительным контролем, поскольку он "всегда включен", потому что он образует активный анти-CD3 Fv. Pro98 является отрицательным контролем, так как его одАСД направлен против лизоцима куриного яйца, который не экспрессируется опухолью. Pro77 и Pro53 - это пара пролекарств формата 3A, использующая одАСД против EGFR и сайт разрезания MMP9. Pro74 и Pro72 представляют собой пару формата 3A с отрицательным контролем, поскольку они не имеют сайтов разрезания.

На фиг. 15 продемонстрировано, что конструкции формата 1 работают для регрессии опухолей *in vivo* с применением двух разных линий опухолевых клеток, имплантированных мышам, с использованием протоколов в примерах. Противоопухолевая активность в отношении конструкций hemi-COBRA

(Pro77 и Pro53) зависела от включения как одАСД против EGFR, так и разрезаемых MMP9 линкеров, наряду с активным анти-CD3 Fv.

На фиг. 16 продемонстрирована схема формата следующего поколения, полноразмерной конструкции, которая имеет два псевдо Fv-домена с разрезаемыми сайтами между ними, как в целом описано в US 2018/0134789, включенном в данное описание посредством ссылки. Однако, как продемонстрировано на следующих рисунках, эта конструкция полной длины первого поколения не демонстрирует очень хорошей условности, поскольку она может изомеризоваться с образованием как активной, так и неактивной конструкции.

На фиг. 17 продемонстрировано, что пары конструкций формата 3A на самом деле демонстрируют лучшую условность, чем конструкции полной длины Pro100 первого поколения.

На фиг. 18 продемонстрированы дополнительные полноразмерные конструкции первого поколения, протестированные на фиг. 19.

На фиг. 19 продемонстрировано, что конструкции первого поколения демонстрируют высокую активность даже в неразрезанном формате, например плохую условность.

На фиг. 20 продемонстрировано, что конструкции полной длины первого поколения демонстрируют два пика мономеров на аналитическом SEC.

На фиг. 21 продемонстрирована схема причины неразрезанной активности, заключающейся в том, что полноразмерное первое поколение конструкторов изомеризуется с образованием двух конформаций, одна из которых неактивна, поскольку не образуется активный анти-CD3 Fv ("бивалентный scFv") и другой, который активен в отсутствие протеазы, тип конфигурации - "одноцепочечное диатело". См. PEDS 23 (8): 667-677 (2010).

На фиг. 22 продемонстрированы результаты анализа TDCC, проведенного при 37°C в течение 2 дней, с одноцепочечными конструкциями первого поколения. Результаты демонстрируют, что нерасщепленные конструкции демонстрируют сильное уничтожение. Данные результаты привели к созданию конструкций формата 1.

23A - 23G продемонстрированы конструкции формата 1, используемые в данном изобретении. Как будет понятно специалистам в данной области техники и описано в данном документе, они изображены с нацеливающим фрагментом одАСД-EGFR, хотя могут использоваться одАСД для других АМО.

На фиг. 24 продемонстрировано, что конструкции формата 1 (в данном случае Pro140) образуют один изомер, который стабилен при 37°C.

На фиг. 25 продемонстрировано, что конструкции формата 1 имеют очень низкое связывание с человеческим CD3 в неразрезанном формате, что измеряется анализом октетов. Верхняя линия - Pro120, средняя линия - Pro51 (положительный контроль), а нижние линии - Pro140, выдерживаемые при 4°C или 37°C в течение 3 дней.

На фиг. 26 также продемонстрировано, что конструкции формата 1 имеют очень низкую активность TDCC в неразрезанной форме.

На фиг. 27 изображена конкретная конструкция формата 1, Pro140, используемая в *in vivo* тестировании с применением одАСД-EGFR в качестве целевых фрагментов и сайта разрезания MMP9.

Фиг. 28A-28B демонстрирует регрессию опухоли с применением конструкции формата 1.

На фиг. 29 продемонстрировано, что благодаря сайту разрезания в ограниченном Fv можно генерировать несколько разных фрагментов: частично разрезанный фрагмент и полностью разрезанный фрагмент. Неожиданно, частично разрезанный формат является более активным, чем полностью разрезанный формат, что приводит к генерации формата 2.

На фиг. 30 продемонстрирован ряд схем формата 2, все из которых используют домены, нацеленные на одАСД-EGFR, хотя, как описано в данном документе и перечислено в последовательностях, могут использоваться одАСД для других АМО. Pro51 и Pro201 являются положительными контролями (в активной конфигурации "hemi"), а Pro214 является полноразмерным отрицательным контролем, так как сайт разрезания отсутствует.

На фиг. 31 продемонстрирована активность TDCC конструкции формата 2 Pro187, в которой используется сайт разрезания меприна. Pro187 в анализе TDCC был в 1200 раз более активным при добавлении предварительно разрезанным, чем при добавлении без разрезания. Предварительно разрезанный Pro187 продемонстрировал активность, которая упала между положительными контролями Pro51 и Pro201. Неразрезанный Pro187 продемонстрировал активность, сходную с Pro214, который не содержит разрезаемого протеазой линкера.

На фиг. 32 продемонстрирована активность TDCC конструкции формата 2 Pro186, которая использует сайт разрезания MMP9. Pro186 в анализе TDCC был в 18 раз более активным при добавлении предварительно разрезанным, чем при добавлении без разрезания. Предварительно разрезанный Pro186 продемонстрировал активность, которая упала между положительными контролями Pro51 и Pro201. Неразрезанный Pro186 продемонстрировал большую активность, чем Pro214, который не содержит разрезаемого протеазой линкера.

На фиг. 33 продемонстрировано, что конструкция Pro186 связывается с клетками, которые имеют разные уровни рецепторов EGFR, при этом клетки CHO не экспрессируют EGFR на клеточной поверх-

ности. Pro186 насыщает клетки, экспрессирующие различные уровни EGFR при сходных концентрациях COBRA.

На фиг. 34 продемонстрирована схема конструкций формата 2, использованных в исследованиях *in vivo* фиг. 35, все из которых используют домены, нацеленные на одАСД-EGFR.

На фиг. 35 продемонстрировано, что конструкция формата 2 Pro186 обладает высокой эффективностью при обеих концентрациях и лучше, чем конструкция формата 1 Pro140 при более низких концентрациях.

На фиг. 36 продемонстрирован ряд конструкций формата 2, основанных на Pro186, но с различными сайтами разрезания протеазой. Хотя все эти конструкции используют одАСД-EGFR для обоих нацеливаемых доменов, могут использоваться другие одАСД для разных АМО, которые могут быть одинаковыми или разными. Таким образом, можно выполнить как гомо-таргетинг (оба нацеливают одАСД на один и тот же АМО), так и гетеро-таргетинг (один одАСД на первый АМО и другой на другой АМО).

На фиг. 37 продемонстрированы схемы для различных конструкций формата 2, которые изменяют длину линкера между доменами Fv. Они продемонстрированы с использованием сайта разрезания MMP9, хотя другие могут быть использованы, как описано в данном документе. Точно так же, хотя все эти конструкции используют одАСД-EGFR для обоих доменов-мишеней, могут использоваться другие одАСД для разных АМО, и они могут быть одинаковыми или разными.

На фиг. 38 продемонстрировано, что длина линкера для псевдо Fv может варьироваться, например, что конструкция формата 2 с коротким линкером между активным Fv ("коротким активным") и более длинным линкером между псевдо Fv ("длинным неактивным") проявляет активность, аналогичную "короткому активному" с "коротким неактивным". Таким образом, условность конструкции COBRA не зависит от ограничения активных и неактивных scFv-линкеров; пока один из них ограничен, сворачивание одноцепочечного диатела, по-видимому, предпочтительнее сворачивания двухвалентного scFv.

На фиг. 39 продемонстрировано, что длина линкера для активного Fv может варьироваться, например, конструкции формата 2 с "длинным активным" и "коротким неактивным" ведут себя аналогично конструкциям "короткий активный" и "короткий неактивный". Таким образом, условность конструкции COBRA не зависит от ограничения активных и неактивных scFv-линкеров; пока один из них ограничен, сворачивание одноцепочечного диатела, по-видимому, предпочтительнее сворачивания двухвалентного scFv.

Фиг. 40А-40С демонстрирует схемы для ряда различных конструкций. Pro188 - это конструкция формата 1, которая похожа на Pro140, за исключением длинного линкера (16-мерный) в псевдо Fv. Pro189 и Pro190 (конструкции формата 2) аналогичны Pro186 и Pro187, за исключением длинного линкера (16-мерный) в псевдо Fv-домене. Pro191 и Pro192 (также конструкции формата 2) аналогичны Pro189 и Pro190, за исключением того, что они имеют дополнительный сайт разрезания перед одАСД (1/2). Pro193 (формата 4) имеет один домен нацеливания EGFR, iVH и iVL переставлены в обратном порядке и дополнительный сайт разрезания расположен перед одАСД (1/2). Pro195 - это конструкция формата 2, аналогичная Pro186, с нацеливающими доменами, которые связываются с одним и тем же АМО, EGFR, но с разными эпитопами. Pro196, Pro197 и Pro198 являются конструкциями формата 2 с переставленными вариabельными доменами.

Фиг. 41 изображает тот факт, что различные клоны одАСД, направленные на человеческий FOLR1, демонстрируют дифференциальное уничтожение. Конструкцию типа Pro22 (Pro51 с последовательностью FLAG вместо НРЛ), которая связывается с человеческим FOLR1, сравнивали с конструкцией Pro22-EGFR против ряда семейств клеточных линий.

На фиг. 42 продемонстрированы схемы для четырех конструкций одАСД-FOLR1, включая использование положительного контроля Pro201 с применением одАСД-EGFR2 (с двумя молекулами, межмолекулярно связывающимися для образования двух активных Fv против CD3) и двух тестовых конструкций формата 2, Pro311, с применением h77.2 одАСД и Pro312 с применением h59.3 одАСД, а также два отрицательных контроля, Pro299 с применением h77.2 одАСД и Pro303 с применением h59.3 одАСД.

Фиг. 43 изображает схемы конструкций формата 2 для дизайна FOLR/MMP9 *in vivo*.

На фиг. 44 продемонстрирована эффективность конструкции Pro312 *in vivo* и продемонстрировано, что разрезаемый линкер MMP9 необходим для противоопухолевой активности.

На фиг. 45 изображены схемы некоторых форматов с применением одАСД для человеческого В7Н3 (одАСД-В7Н3), включая Pro244, положительный контроль (с применением одАСД-В7Н3 (hF7) (с двумя молекулами, межмолекулярно ассоциирующимися с образованием двух активных Fv против CD3), и двумя тестовыми конструкциями формата 2, Pro225, конструкция формата 2 и Pro295, отрицательный контроль, лишенный сайта разрезания.

Фиг. 46 демонстрирует, что Pro225 имеет большую условность по сравнению с контрольным Pro295.

На фиг. 47 продемонстрировано, что конструкция формата 2 с применением мепринового линкера, Pro373, демонстрирует большую условность по сравнению с Pro295.

На фиг. 48 продемонстрирован ряд конструкций одАСД-В7Н3 (с применением последовательности hF12), на которых продемонстрирован положительный контроль Pro51 с применением одАСД-EGFR,

положительный контроль Pro244 с применением одАСД-hF12 В7Н3, тестовая конструкция, Pro226 и отрицательный контроль Pro296 без сайта разрезания.

На фиг. 49 продемонстрирована хорошая условность конструкции Pro226 в анализе TDCC.

На фиг. 50 продемонстрирована гуманизация одАСД для человеческого EpCAM.

На фиг. 51 продемонстрирована схема нескольких форматов: Pro22hVIB13 и Pro205 являются положительными контролями, Pro199 является конструкцией формата 2, а Pro175 является отрицательным контролем.

На фиг. 52 продемонстрирована активность TDCC конструкций одАСД-EpCAM, демонстрирующая хорошую условность.

Фиг. 53А-53В демонстрирует активность TDCC конструкции одАСД-EpCAM Pro199, демонстрируя хорошую условность в моделях клеток HT29 и LoVo.

Фиг. 54А-54В демонстрирует активность TDCC конструкции одАСД-EpCAM Pro200, которая демонстрирует хорошую условность в моделях клеток HT29 и LoVo.

На фиг. 55 продемонстрирована схема Pro255, в которой применяются два разных одАСД-АМО, один для EGFR (одАСД-EGFR), а другой для EpCAM (одАСД-EpCAM), по сравнению с Pro199, с двойными одАСД EpCAM. Они иногда упоминаются в данном документе как конструкции "гетеронацеливания", в данном случае это конструкция формата 2.

На фиг. 56 продемонстрировано, что молекула двойного нацеливания Pro255 с сайтом разрезания MMP9 демонстрирует хорошую условность.

На фиг. 57А-57D продемонстрированы результаты экспериментов с тремя различными типами клеток. Сначала были созданы трансфектанты Раджи с одинаковыми уровнями экспрессии EpCAM, EGFR и EpCAM+EGFR (данные не продемонстрированы). Затем Pro255, который нацелен как на EpCAM, так и на EGFR, был протестирован в анализах TDCC с применением каждого типа клеток. Фиг. А демонстрирует родительскую линию Раджи, которая не экспрессирует ни один из рецепторов. Фиг. 57В демонстрирует условность на линии EpCAM. Фиг. 57С демонстрирует условность на линии EGRF. Фиг. 57D демонстрирует условность на линии EpCAM/EGFR.

На фиг. 58 продемонстрирована схема конструкции формата 4 Pro258.

Фиг. 59А-59В демонстрирует, что Pro258 является условным как в FBS, так и в сыворотке человека. Состояние линкера MMP9 недооценивается из-за активности MMP9 в культуре. Интересно, что активность TDCC Pro51 ингибируется связыванием ЧСА, тогда как активность TDCC Pro258 аналогична активности Pro51 в присутствии ЧСА. Наконец, условность Pro258 несколько увеличивается в присутствии ЧСА в 6 раз.

Фиг. 60А-60С демонстрирует расщепление субстрата MMP9 другими MMP.

Фиг. 61А-61В демонстрирует некоторые иллюстративные конструкции и их форматы.

Фиг. 62А-62U демонстрируют ряд последовательностей по данному изобретению, хотя многие дополнительные последовательности также обнаружены в перечне последовательностей. CDR подчеркнуты и выделены жирным шрифтом, линкеры подчеркнуты дважды (разрезаемые линкеры выделены курсивом и подчеркнуты дважды), а разделение доменов обозначено знаком "/". Все His6 тэги являются необязательными, так как они могут быть использованы для снижения иммуногенности у людей, а также в качестве меток для очистки.

Подробное описание сущности изобретения

Вступление.

Данное изобретение направлено на способы снижения токсичности и побочных эффектов биспецифичных антител (включая антителоподобные функциональные белки), которые связываются с важными физиологическими мишенями, такими как CD3 и опухолевые антигены. Многие антигенсвязывающие белки, такие как антитела, могут иметь значительные побочные эффекты вне мишени, и, таким образом, существует необходимость активировать только способности связывания терапевтической молекулы в непосредственной близости от ткани заболевания, чтобы избежать взаимодействия вне мишени. Соответственно, данное изобретение направлено на многовалентные условно-эффективные ("МСЕ") белки, которые имеют ряд функциональных белковых доменов. В общем, один из этих доменов представляет собой антигенсвязывающий домен (АСД), который будет связывать антиген-мишень опухоли (АМО), а другой представляет собой АСД, который будет связывать Т-клеточный антиген, такой как CD3, при определенных условиях. Кроме того, белки МСЕ также включают один или несколько сайтов разрезания протеазой. То есть терапевтические молекулы изготавливаются в формате, подобном пролекарству, где CD3-связывающий домен неактивен, пока не подвергается воздействию опухолевой среды. Среда опухоли содержит протеазы, так что при воздействии протеазы пролекарство разрезается и становится активным.

Обычно это достигается с помощью белков, которые включают "псевдо" переменный тяжелый домен и "псевдо" переменный легкий домен, направленный на антиген Т-клеток, такой как CD3, которые удерживают Fv CD3 МСЕ в неактивном формате как обсуждается в данном документе. Поскольку АМО нацеливает МСЕ на окружение опухоли, МСЕ, таким образом, подвергается воздействию протеазы. После разрезания активный переменный тяжелый домен и активный легкий домен теперь могут

спариваться с образованием одной или нескольких АСД активных по отношению к CD3 и, таким образом, рекрутировать Т-клетки к опухоли, что приводит к лечению.

Обычно, домен связывания CD3 ("Fv") имеет ограниченный формат, в котором линкер между активным переменным тяжелым доменом и активным переменным легким доменом, который традиционно образует Fv, слишком короткий, чтобы позволить двум активным переменным доменам связываться друг с другом; он называется "ограничивающим линкером"; они могут быть ограничены и разрезаемы (ОРЛ, как используется в формате 1) или ограничены и не разрезаемы (ОНРЛ, как используется в формате 2). Вероятнее в пролекарственном (например, неразрезанном) формате пролекарственный полипептид также содержит "псевдо Fv домен". Псевдо-Fv-домен содержит переменный тяжелый и легкий домен со стандартными каркасными участками, но "инертными" или "неактивными" CDR. Псевдо-Fv-домен также имеет ограничивающий линкер между неактивными переменными тяжелыми и неактивными переменными легкими доменами. Поскольку ни Fv, ни псевдо Fv-домены не могут самоорганизоваться из-за стерических ограничений, существует внутримолекулярная сборка, которая связывает aVL с iVH и aVH с iVL, благодаря родству каркасных участков каждого. Однако из-за "инертных" псевдо-доменов CDR, полученные в результате АСД не будут связывать CD3, таким образом предотвращая нежелательную токсичность. Однако в присутствии протеаз, которые находятся в опухоли или рядом с ней, конструкция пролекарства разрезается так, что псевдо Fv-домен высвобождается с поверхности и, таким образом, позволяет "реальным" переменному тяжелому и переменному легкому доменам связываться внутримолекулярно (например, две разрезанные конструкции объединяются), таким образом, запускается активное связывание CD3 и, как следствие, эффективность против опухоли. Данные конструкции обычно упоминаются в данном документе как условные биспецифичные конструкции перенаправленной активации, или COBRA™ (Conditional Bispecific Redirected Activation constructs). Стабильность внутримолекулярной сборки продемонстрирована в экспериментах по условности (зависимости от условий), согласно которым в отсутствие протеазы нерасщепленные конструкции не имеют активности (например, не образуется активный связывающий CD3 домен).

Интересно, что для простоты описания, хотя все эти конструкции упоминаются в данном документе как "ограниченные", дополнительная работа демонстрирует, что внутримолекулярная сборка предпочтительна, даже если один из Fv-доменов не ограничен, например, один из доменов может иметь более длинный, гибкий линкер. То есть так, как продемонстрировано на фиг. 37, фиг. 38 и фиг. 39. Внутримолекулярная сборка все еще происходит (например, нерасщепленные конструкции не активны в отсутствие разрезания протеазой), если только один из Fv-доменов, либо один с активным VL и VH, или псевдо Fv доменом, ограничен. Однако в современных системах, когда оба линкера ограничивающие, белок имеет лучшую экспрессию. Однако, как будет понятно специалистам в данной области техники, любая из конструкций формата 1, формата 2 или формата 4 в данном документе может иметь один из этих Fv-доменов с "неограничивающим" или "гибким" линкером. Для удобства ссылки конструкции продемонстрированы с обоими доменами Fv в ограниченном формате.

Конструкции и форматы изобретения являются вариациями по сравнению с изобретениями, описанными в WO2017/156178, которая полностью включена в данное описание посредством ссылки. Как продемонстрировано на фиг. 21, предыдущие конструкции обладают способностью изомеризоваться благодаря присутствию двух наборов доменов VH и VL в одном полипептиде, образуя как двухвалентный scFv, так и одноцепочечное диатело. Даже после очистки каждой изоформы двухвалентная конструкция все еще может достигать равновесия с изоформой диатела. Поскольку одноцепочечное диатело обладает способностью связываться с CD3 в отсутствие разрезания протеазой, пригодность конструкции снижается.

Чтобы решить эту проблему, данное изобретение предусматривает четыре отдельных типа конструкций для выполнения этой условной активации. Активация пролекарства может происходить одним из четырех основных способов, как обычно продемонстрировано на фигурах. На фиг. 1 продемонстрирован механизм "формата 1". В данном варианте осуществления конструкция пролекарства имеет два сайта разрезания: один между доменами VH и VL ограниченного Fv, который высвобождает два переменных домена для связывания, и второй в сайте, который высвобождает псевдо Fv-домен из конструкции пролекарства, оставляя две молекулы, которые ассоциируются благодаря встроенной способности к самосборке переменного тяжелого и переменного легкого доменов, каждый из которых также имеет антигенсвязывающий домен направленный на опухолевый антиген, что позволяет рекрутировать Т-клетки в сайт опухоли.

В альтернативном варианте осуществления конструкция пролекарства продемонстрирована на фиг. 2, механизм "формата 2". В данном варианте осуществления линкер доменов между активной переменной тяжелой и активной легкой цепями является ограничивающим, но не разрезаемым линкером ("ОНРЛ"). В формате пролекарства неактивные VH и VL ограниченного псевдо Fv-домена ассоциируются с VH и VL ограниченного Fv-домена, так что CD3-связывание отсутствует. Однако, как только происходит расщепление в опухолевой среде, два разных активированных белка, каждый из которых содержит активный переменный тяжелый и легкий домен, связываются с образованием двух анти-CD3-связывающих доменов.

В дополнение к рассмотренным выше форматам COBRA "одноцепочечного белка", где все компоненты содержатся в одной аминокислотной последовательности, существуют также конструкции, основанные на двух белках "hemi-COBRA", которые действуют парами, как продемонстрировано на фиг. 3. В данном варианте осуществления каждый белок имеет один активный и один инертный вариабельный домен, разделенные сайтом разрезания протеазой. Каждая молекула содержит АМО-связывающий домен, так что, когда молекулы связываются с АМО и подвергаются воздействию опухолевой протеазы, инертные домены отщепляются и два активных вариабельных домена самоорганизуются, образуя анти-CD3-связывающий домен.

Кроме того, изобретение также предоставляет конструкции "формата 4", как продемонстрировано на фиг. 4. Они аналогичны конструкциям "формата 2", за исключением того, что используется один АСД для АМО, так что после разрезания две молекулы пролекарства теперь образуют четырехвалентную биспецифическую конструкцию, содержащую два активных домена против CD3, как далее описано ниже.

Соответственно, форматы и конструкции данного изобретения находят применение при лечении заболеваний.

Определения.

Для того чтобы применение могло быть более полно понято, ниже приведены несколько определений. Такие определения предназначены для охвата грамматических эквивалентов.

Под "аминокислотой" и "аминокислотной идентичностью" в контексте данного описания подразумевается одна из 20 встречающихся в природе аминокислот или любых неприродных аналогов, которые могут присутствовать в специфическом определенном положении. Во многих вариантах осуществления "аминокислота" означает одну из 20 встречающихся в природе аминокислот. Под белком в данном документе подразумевается, по меньшей мере, две ковалентно связанные аминокислоты, что включает белки, полипептиды, олигопептиды и пептиды.

Под "модификацией аминокислоты" в данном документе подразумевается аминокислотная замена, вставка и/или делеция в полипептидной последовательности или изменение фрагмента, химически связанного с белком. Например, модификация может представлять собой измененную углеводную или ПЭГ-структуру, присоединенную к белку. Для ясности, если не указано иное, аминокислотная модификация всегда относится к аминокислоте, кодируемой ДНК, например, к 20 аминокислотам, которые имеют кодоны в ДНК и РНК. Предпочтительной аминокислотной модификацией в данном описании является замена.

Под "аминокислотной заменой" или "заменой" в данном документе подразумевается замена аминокислоты в конкретном положении в исходной полипептидной последовательности другой аминокислотой. В частности, в некоторых вариантах осуществления замена представляет собой аминокислоту, которая не встречается в природе в конкретном положении, либо не встречается в природе в организме, либо в любом организме. Для ясности, белок, который был сконструирован для изменения последовательности, кодирующей нуклеиновую кислоту, но не для замены исходной аминокислоты (например, обмена CGG (кодирующего аргинин) на CGA (все еще кодирующего аргинин) для повышения уровня экспрессии в организме хозяина), не является аминокислотной заменой; то есть, несмотря на создание нового гена, кодирующего тот же белок, если белок имеет ту же аминокислоту в той конкретной Положения, с которой он начинался, это не замена аминокислоты.

Под "вставкой" или "вставкой аминокислоты", как используется в данном документе, подразумевается добавление аминокислотной последовательности в определенном положении в исходной полипептидной последовательности.

Под "делецией" или "удалением аминокислоты", как используется в данном документе, подразумевается удаление аминокислотной последовательности в конкретной Положения в исходной полипептидной последовательности.

Полипептиды по данному изобретению специфически связываются с CD3 и антигенами-мишенями опухоли (АМО), такими как рецепторы клеток-мишеней, как описано в данном документе. "Специфичное связывание" или "специфично связывается" или "специфично для" конкретного антигена или эпитопа означает связывание, которое измеримо отличается от неспецифического взаимодействия. Специфичное связывание может быть измерено, например, путем определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая обычно представляет собой молекулу сходной структуры, которая не обладает активностью связывания. Например, специфичное связывание может быть определено путем конкуренции с контрольной молекулой, которая похожа на мишень.

Специфичное связывание для конкретного антигена или эпитопа может проявляться, например, антителом, имеющим KD к антигену или эпитопу, по меньшей мере, около 10^{-4} M, по меньшей мере, 10^{-5} M, по меньшей мере, около 10^{-6} M, по меньшей мере, около 10^{-7} M, по меньшей мере, около 10^{-8} M, по меньшей мере, около 10^{-9} M, альтернативно, по меньшей мере, около 10^{-10} M, при по меньшей мере, около 10^{-11} M, по меньшей мере, около 10^{-12} M или более, при этом KD относится к скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Как правило, антитело, которое специфически связывает антиген, будет иметь KD, который в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 или более раз выше для контрольной молекулы относительно антигена или эпитопа.

Кроме того, специфическое связывание для конкретного антигена или эпитопа может проявляться, например, антителом, имеющим КА или Ка для антигена или эпитопа, по меньшей мере, в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000 в 10000 или более раз больше для указанного эпитопа по сравнению с контролем, при этом КА или Ка относится к скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Аффинность связывания обычно измеряют с использованием анализов Вiascore или Octet, как известно в данной области.

Под "родительским полипептидом" или "полипептидом-предшественником" (включая родительский Fc или Fc предшественники), как это используется в данном документе, подразумевается полипептид, который впоследствии модифицируют для получения варианта. Указанный родительский полипептид может представлять собой встречающийся в природе полипептид или вариант или сконструированный вариант встречающегося в природе полипептида. Исходный полипептид может относиться к самому полипептиду, композициям, которые содержат исходный полипептид, или к аминокислотной последовательности, которая его кодирует. Соответственно, под родительским Fc полипептидом, как используется в данном документе, подразумевается немодифицированный Fc полипептид, который модифицирован для получения варианта, и под родительским антителом, как используется в данном документе, подразумевается немодифицированное антитело, которое модифицировано для получения варианта антитела.

Под "положением", используемым в данном описании, подразумевается местоположение в последовательности белка. Положения могут быть пронумерованы последовательно или в соответствии с установленным форматом, например, индексом ЕС для нумерации антител.

Используемый в данном документе термин "антиген-мишень/антиген-мишень" означает молекулу, которая специфически связана с варибельным участком данного антитела. Целевой антиген может представлять собой белок, углевод, липид или другое химическое соединение. Ряд подходящих типичных целевых антигенов описаны в данном документе.

Термин "клетка-мишень" в контексте данного описания обозначает клетку, которая экспрессирует антиген-мишень. Как правило, для целей изобретения клетки-мишени представляют собой либо опухолевые клетки, которые экспрессируют АМО, либо Т-клетки, которые экспрессируют антиген CD3.

Под "Fv" или "Fv-доменом" или "Fv-участком", как используют в данном документе, подразумевается полипептид, который содержит домены VL и VH антигенсвязывающего домена, как правило, из антитела. Fv-домены обычно образуют антигенсвязывающий домен или АСД, как обсуждается в данном документе, если они содержат активные VH и VL домены (хотя в некоторых случаях используется Fv, содержащий ограничивающий линкер, так что активный АСД не образуется до разрезания). Как обсуждено ниже, Fv-домены могут быть организованы несколькими способами в данном изобретении и могут быть активными или неактивными, такими как в формате scFv, формате ограниченного Fv, формате псевдо Fv и т.д. Следует понимать, что в данном изобретении в некоторых случаях Fv-домен состоит из VH и VL домена на одной полипептидной цепи, например, как продемонстрировано на фиг. 1 и фиг. 2, но с ограничивающим линкером таким образом, что внутримолекулярный АСД не может быть сформирован. В этих вариантах осуществления именно после разрезания образуются два активных АСД. В некоторых случаях Fv-домен состоит из VH и VL доменов, один из которых является инертным, так что только после разрезания образуется межмолекулярная АСД. Как обсуждено ниже, Fv-домены могут быть организованы несколькими способами в данном изобретении и могут быть "активными" или "неактивными", такими как в формате scFv, ограниченном формате Fv, псевдо формате Fv и т.д. Кроме того, как обсуждалось в данном документе, Fv-домены, содержащие VH и VL, могут представлять собой/сформировать АСД, и другие АСД, которые не содержат доменов VH и VL, могут быть сформированы с применением одАСД.

Под "варибельным доменом" в данном документе подразумевается участок иммуноглобулина, который содержит один или несколько Ig-доменов, по существу кодируемых любым из генов V κ , V λ , и/или VH, которые составляют генетические локусы каппа, лямбда и тяжелой цепи иммуноглобулина соответственно, В некоторых случаях может использоваться один варибельный домен, такой как sdFv (также называемый в данном документе одАСД).

В вариантах осуществления, использующих как варибельные тяжелые (VH), так и варибельные легкие (VL) домены, каждый VH и VL состоит из трех гиперварибельных участков ("определяющих комплементарность участков", "CDR") и четырех "каркасных участков" или "FR", расположенных от amino-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Таким образом, домен VH имеет структуру vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4, а домен VL имеет структуру vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4-. Как более полно описано в данном документе, vhFR участки и vlFR участки самостоятельно собираются с образованием Fv-доменов. В общем, в форматах пролекарств по данному изобретению существуют "ограниченные Fv-домены", в которых домены VH и VL не могут самоассоциироваться, и "псевдо Fv-домены", для которых CDR не образуют антигенсвязывающие домены при самоассоциировании.

Гиперварибельные участки придают антигенсвязывающую специфичность и, как правило, охватывают аминокислотные остатки примерно от аминокислотных остатков 24-34 (LCDR1; "L" обозначает легкую цепь), 50-56 (LCDR2) и до 89-97 (LCDR3) в варибельном участке легкой цепи и возле примерно

31-35В (HCDR1; "H" обозначает тяжелую цепь), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3) в переменном участке тяжелой цепи; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991) и/или остатки, образующие гипер-переменную петлю (например, остатки 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) и 91-96 (LCDR3) в переменном участке легкой цепи и 26-32 (HCDR1), 53-55 (HCDR2) и 96-101 (HCDR3) в переменном участке тяжелой цепи; Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917. Конкретные CDR по данному изобретению описаны ниже.

Как будет понятно специалистам в данной области техники, точная нумерация и размещение CDR могут отличаться в разных системах нумерации. Однако следует понимать, что раскрытие последовательности переменной тяжелой и/или переменной легкой включает в себя раскрытие связанных (при-сущих) CDR. Соответственно, раскрытие каждого переменного тяжелого участка является раскрытием vHCDR (например, vHCDR1, vHCDR2 и vHCDR3), а раскрытие каждого переменного легкого участка является раскрытием vLCDR (например, vLCDR1, vLCDR2 и vLCDR3).

Полезное сравнение нумерации CDR приведено ниже, см. Lafranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003):

Таблица 1

	Кабат + Чотиа	IMGT	Кабат	AbM	Чотиа	Контакт
vHCDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
vHCDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
vHCDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
vLCDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
vLCDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
vLCDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

В данном описании система нумерации Кабата обычно используется для обозначения остатка в переменном домене (приблизительно, остатки 1-107 переменного участка легкой цепи и остатки 1-113 переменного участка тяжелой цепи) и нумерация системы ЕС для Fc-участков (например, Kabat et al., выше (1991)).

Данное изобретение обеспечивает большое количество различных наборов CDR. В этом случае "полный набор CDR" в контексте компонента против CD3 включает три переменных легких и три переменных тяжелых CDR, например, vLCDR1, vLCDR2, vLCDR3, vHCDR1, vHCDR2 и vHCDR3. Как будет понятно специалистам в данной области техники, каждый набор CDR, CDR VH и VL, может связываться с антигенами как индивидуально, так и в виде набора. Например, в ограниченных Fv-доменах vHCDR могут связываться, например, с CD3, а vLCDR могут связываться с CD3, но в ограниченном формате они не могут связываться с CD3.

В контексте однодоменного АСД ("одАСД"), который обычно используется в данном документе для связывания с антигенами-мишенями опухоли (АМО), набор CDR составляет только три CDR; иногда они также упоминаются в данной области как "VHH" домены.

Данные CDR могут быть частью большего переменного легкого или переменного тяжелого домена, соответственно. Кроме того, как более полно описано в данном документе, переменные тяжелые и переменные легкие домены могут находиться на отдельных полипептидных цепях или на одной полипептидной цепи в случае последовательностей scFv, в зависимости от формата и конфигурации фрагментов в данном документе.

CDR способствуют образованию антигенсвязывающих или, более конкретно, эпитоп-связывающих сайтов. "Эпитоп" относится к детерминанте, которая взаимодействует со специфическим сайтом связывания антигена в переменных участках, известных как паратоп. Эпитопы представляют собой группы молекул, таких как боковые цепи аминокислот или сахара, и обычно имеют специфические структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Один антиген может иметь более одного эпитопа.

Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа), и другие аминокислотные остатки, которые непосредственно не участвуют в связывании, такие как аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются специфическим антигенсвязывающим пептидом; другими словами, аминокислотный остаток находится в зоне действия специфического антигенсвязывающего пептида.

Эпитопы могут быть конформационными или линейными. Конформационный эпитоп продуцируется пространственно сопоставленными аминокислотами из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, продуцируемый соседними аминокислотными остатками в полипептидной цепи. Конформационные и неконформационные эпитопы могут различаться тем, что связывание с первым, но не с последним, теряется в присутствии денатурирующих раствори-

лей.

Эпитоп обычно включает, по меньшей мере, 3, а более обычно, по меньшей мере, 5 или 8-10 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Антитела, которые распознают один и тот же эпитоп, могут быть проверены с помощью простого иммуноанализа, демонстрирующего способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с антигеном-мишенью, например "биннинг". Как указано ниже, данное изобретение включает в себя не только перечисленные антигенсвязывающие домены и антитела, но и те, которые конкурируют за связывание с эпитопами, связанными с перечисленными антигенсвязывающими доменами.

Вариабельные тяжелые и вариабельные легкие домены по данному изобретению могут быть "активными" или "неактивными".

Как используется в данном документе, "неактивный VH" ("iVH") и "неактивный VL" ("iVL") относятся к компонентам псевдо Fv-домена, которые, в паре с их родственными партнерами VL или VH, соответственно, образуют результирующую пару VH/VL, которая специфично не связывается с антигеном, с которым активный VH или активный VL связывался бы, если бы он был связан с аналогичными VL или VH, которые не были бы неактивными. Типичные неактивные VH и неактивные VL домены образуются путем мутации последовательности VH или VL дикого типа, как более подробно описано ниже. Типичные мутации находятся в пределах CDR1, CDR2 или CDR3 VH или VL. Типичная мутация включает размещение линкера домена в CDR2, тем самым образуя неактивный VH или неактивный VL домен. Напротив, активный VH или активный VL представляет собой тот, который после спаривания с его активным родственным партнером, т.е. VL или VH, соответственно, способен специфически связываться с его антигеном-мишенью. Таким образом, следует понимать, что псевдо Fv может быть парой VH/iVL, парой iVH/VL или парой iVH/iVL.

Напротив, используемый в данном документе термин "активный" относится к домену, связывающему CD3, который способен специфически связываться с CD3. Этот термин используется в двух контекстах: (a) при обращении к одному члену пары связывания Fv (т.е. VH или VL), которая имеет последовательность, способную к спариванию со своим родственным партнером и, в частности, к связыванию с CD3; и (b) при обращении к паре родственных (то есть, VH и VL) последовательностей, способной специфически связываться с CD3. Иллюстративная активная пара VH, VL или VH/VL представляет собой последовательность дикого типа или родительскую последовательность.

"CD-x" относится к белкам кластера дифференцировки (CD). В иллюстративных вариантах осуществления CD-x выбран из тех белков CD, которые играют роль в рекрутировании или активации T-клеток у субъекта, которому вводили полипептидную конструкцию по данному изобретению. В примерном варианте осуществления CD-x представляет собой CD3, последовательность которая продемонстрирована на фиг. 5.

Термин "связующий/связывающий домен" характеризует, в связи с данным изобретением, домен, который (специфически) связывается/взаимодействует с/распознает данный эпитоп-мишень или данный сайт-мишень на молекулах-мишенях (антигенах), например: EGFR и CD3 соответственно. Структура и функция антигенсвязывающего домена-мишени (распознающего EGFR) и, предпочтительно, также структура и/или функция домена, CD3-связывающего (распознающего CD3), основана/основаны на структуре и/или функции антитела например, полной или цельной молекулы иммуноглобулина, включая одАСД. В соответствии с данным изобретением антиген-мишень-связывающий домен обычно характеризуется наличием трех CDR, которые связывают антиген-мишень опухоли (обычно называемые в данной области как вариабельные тяжелые домены, хотя соответствующие CDR легкой цепи отсутствуют). Альтернативно, АСД к АМО могут включать три CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участки VL) и/или три CDR тяжелой цепи (то есть CDR1, CDR2 и CDR3 участки VH). Домен связывания CD3 предпочтительно также содержит, по меньшей мере, минимальные структурные требования к антителу, которые допускают связывание с мишенью. Более предпочтительно, CD3-связывающий домен содержит по меньшей мере три CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и CDR3 участки VL) и/или три CDR тяжелой цепи (то есть CDR1, CDR2 и CDR3 участки VH). Предусматривается, что в иллюстративных вариантах осуществления антиген-мишень и/или CD3-связывающий домен получают или он может быть получен методами фагового дисплея или скрининга библиотеки.

Термин "домен", используемый в данном документе, означает последовательность белка с функцией, как описано в данном документе. Домены по данному изобретению включают в себя домены связывающие антигены-мишени опухоли (АМО домены), вариабельные тяжелые домены, вариабельные легкие домены, линкерные домены и домены продления периода полураспада.

Под "линкером доменов" в данном документе подразумевается аминокислотная последовательность, которая соединяет два домена, как указано в данном документе. Линкеры доменов могут быть разрезаемыми линкерами, ограниченно разрезаемыми линкерами, неразрезаемыми линкерами, ограничивающими неразрезаемыми линкерами, линкерами scFv и т. д.

Под "разрезаемым линкером" ("РЛ") в данном документе подразумевается аминокислотная последовательность, которая может разрезаться протеазой, предпочтительно человеческой протеазой в патологической ткани, как описано в данном документе. Разрезаемые линкеры обычно имеют длину по

меньшей мере 3 аминокислоты, причем 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более аминокислот находят применение в данном изобретении, в зависимости от требуемую гибкость. Ряд разрезаемых линкерных последовательностей можно найти на фиг. 6 и фиг. 5.

Под "неразрезаемым линкером" ("НРЛ") в данном документе подразумевается аминокислотная последовательность, которая не может быть разрезана человеческой протеазой при нормальных физиологических условиях.

Под "ограничивающим разрезаемым линкером" ("ОРЛ") в данном документе подразумевается короткий полипептид, который содержит сайт разрезания протеазой (как определено в данном документе), который соединяет два домена, как описано в данном документе, таким образом, что два домена не могут значительно взаимодействовать друг с другом до тех пор, пока они не находятся на разных полипептидных цепях, например, после разрезания. Когда ОРЛ присоединяется к домену VH и VL, как определено в данном документе, VH и VL не могут самостоятельно собираться с образованием функционального Fv до разрезания из-за стерических внутримолекулярных ограничений (хотя они могут собираться в псевдо Fv-домены в межмолекулярном соединении). После разрезания соответствующей протеазой VH и VL могут собираться с образованием активного антигенсвязывающего домена межмолекулярным путем. Как правило, ОРЛ имеют длину менее 10 аминокислот, причем 9, 8, 7, 6, 5 и 4 аминокислот находят применение в данном изобретении. В общем, сайты разрезания протеазой, как правило, имеют длину не менее 4+ аминокислот для придания достаточной специфичности, как продемонстрировано на фиг. 6.

Под "ограничивающим неразрезаемым линкером" ("ОНРЛ") в данном документе подразумевается короткий полипептид, который соединяет два домена, как описано в данном документе, таким образом, что два домена не могут значительно взаимодействовать друг с другом, и который не разрезается протеазами человека в значительной степени в физиологических условиях.

Под "ограниченным Fv-доменом" в данном документе подразумевается Fv-домен, который содержит активный варибельный тяжелый домен и активный варибельный легкий домен, ковалентно связанный с ограничивающим линкером, как описано в данном документе, таким образом, что активные тяжелый и легкий варибельные домены не могут внутримолекулярно взаимодействовать с образованием активного Fv, который будет связывать антиген, такой как CD3. Таким образом, ограниченный Fv-домен представляет собой домен, который подобен scFv, но не способен связывать антиген из-за присутствия ограничивающего линкера (хотя они могут собираться внутримолекулярно с инертными варибельными доменами с образованием псевдо Fv-доменов).

Под "псевдо Fv-доменом" в данном документе подразумевается домен, который содержит псевдо или неактивный варибельный тяжелый домен или псевдо или неактивный варибельный легкий домен, или оба, связанные с помощью линкера доменов (который может быть разрезаемым, ограничивающим, неразрезаемым, неограничивающим и т.д.). Домены iVH и iVL псевдо Fv-домена не связываются с человеческим антигеном, либо когда связаны друг с другом (iVH/iVL), либо когда связаны с активным VH или VL; таким образом, Fv-домены iVH/iVL, iVH/VL и iVL/VH не связываются заметно с человеческим белком, так что эти домены инертны в организме человека.

Под "одноцепочечным Fv" или "scFv" в данном документе подразумевается варибельный тяжелый домен (VH), ковалентно присоединенный к варибельному легкому домену (VL), обычно с применением линкера доменов, как обсуждалось в данном документе, для образования scFv или scFv-домена. scFv-домен может иметь любую ориентацию от N к C-концу (VH-линкер-VL или VL-линкер-VH).

Под "однодоменным Fv", "sdFv" или "одАСД" в данном документе подразумевается антигенсвязывающий домен, который имеет только три CDR, как правило, на основе технологии антител верблюдов. См.: Protein Engineering 9 (7): 1129-35 (1994); Rev Mol Biotech 74: 277-302 (2001); Ann Rev Biochem 82: 775-97 (2013). Как указано в данном документе, существует два основных типа одАСД, используемых в данном документе: одАСД, которые связываются с АМО и аннотируются как таковые (одАСД-АМО для общего термина, или одАСД-EGFR для того, который связывается с EGFR, одАСД-FOLR1 для того, который связывается с FOLR1 и т. д.) и одАСД, которые связываются с ЧСА ("одАСД-ЧСА" или "одАСД (1/2)").

Термин "сайт разрезания протеазой" относится к аминокислотной последовательности, распознаваемой и разрезаемой протеазой. Подходящие сайты разрезания протеазой обрисованы в общих чертах ниже и продемонстрированы на фиг. 5 и 6.

Используемый в данном документе термин "домен разрезания протеазой" относится к пептидной последовательности, включающей "сайт разрезания протеазой" и любые линкеры между отдельными сайтами разрезания протеазой и между сайтом (сайтами) разрезания протеазой и другими функциональными компонентами конструкций по данному изобретению (например, V_H, V_L, iVH, iVL, домен(ы)-мишень(и) связывания антигена, домен продления периода полураспада и т. д.). Как указано в данном документе, домен разрезания протеазой может также включать дополнительные аминокислоты, если необходимо, например, для придания гибкости.

Термин "COBRA™" и "условная биспецифическая перенаправленная активация" относится к биспецифическому условно эффективному белку, который имеет ряд функциональных белковых доменов. В некоторых вариантах осуществления один из функциональных доменов представляет собой антигенсвязывающий домен.

звующий домен (АСД), который связывает антиген-мишень опухоли (АМО). В определенных вариантах осуществления другой домен представляет собой АСД, который связывается с антигеном Т-клеток при определенных условиях. Т-клеточный антиген включает, но не ограничивается этим, CD3. Термин hemi-COBRA™ относится к условно-эффективному белку, который может связывать Т-клеточный антиген, в то время как переменная тяжелая цепь hemi-COBRA может ассоциироваться с переменной легкой цепью другой hemi-COBRA™ (комплементарная hemi-COBRA™) из-за присущей способности к самосборке при концентрации на поверхности клетки, экспрессирующей мишень.

Слитые белки по данному изобретению.

Слитые белки по данному изобретению имеют ряд различных компонентов, обычно называемых в данном документе доменами, которые связаны друг с другом различными способами. Некоторые из доменов являются связывающими доменами, каждый из которых связывается с антигеном-мишенью (например, АМО или CD3). Поскольку они связываются с более чем одним антигеном, они упоминаются в данном документе как "мультиспецифичные"; например, пролекарственная конструкция по данному изобретению может связываться с АМО и CD3 и, таким образом, является "биспецифичной". Белок также может иметь более высокую специфичность; например, если первый αАМО связывается с EGFR, второй с EpCAM и существует домен, связывающий анти-CD3, это будет "триспецифичная" молекула. Точно так же добавление анти-ЧСА-связывающего домена к этой конструкции сделало бы ее "тетраспецифичной", как продемонстрировано на фиг. 3В.

Как будет понятно специалистам в данной области, белки по данному изобретению могут иметь различную валентность, а также быть мультиспецифичными. То есть белки по данному изобретению могут связывать мишень с более чем одним сайтом связывания; например, Pro140 является двухвалентным для EGFR.

Белки по данному изобретению могут содержать антигенсвязывающие домены CD3, расположенные различными способами, как описано в данном документе, антигенсвязывающие домены мишеней опухоли, домены продления периода полураспада, линкеры и т.д.

CD3 антигенсвязывающие домены.

Специфичность ответа Т-клеток опосредуется распознаванием антигена (отображается в контексте главного комплекса гистосовместимости, ГКГС) рецепторным комплексом Т-клеток. Как часть рецепторного комплекса Т-клеток, CD3 представляет собой белковый комплекс, который содержит CD3γ (гамма) цепь, CD3δ (дельта) цепь, две CD3ε (эпсилон) цепи и две CD3ζ (дзета) цепи, которые присутствуют на поверхности клетки. Молекулы CD3 связываются с α (альфа) и β (бета) цепями Т-клеточного рецептора (ТКР), образуя ТКР комплекс. Кластеризация CD3 на Т-клетках, например с помощью Fv-доменов, которые связываются с CD3, приводит к активации Т-клеток, сходной с активацией Т-клеточного рецептора, но не зависящей от его клональной типичной специфичности.

Однако, как известно в данной области, активация CD3 может вызывать ряд токсических побочных эффектов, и, соответственно, данное изобретение направлено на обеспечение активного связывания CD3 полипептидов по данному изобретению только в присутствии опухолевых клеток, где обнаруживаются специфические протеазы, которые затем расщепляют пролекарственные полипептиды по данному изобретению для обеспечения активного CD3-связывающего домена. Таким образом, в данном изобретении связывание Fv-домена анти-CD3 с CD3 регулируется доменом разрезания протеазой, который ограничивает связывание Fv-домена CD3 с CD3 только в микросреде патологической клетки или ткани с повышенным уровнем протеаз, например, в микроокружении опухоли, как описано в данном документе.

Соответственно, данное изобретение предоставляет два набора доменов VH и VL, активный набор (VH и VL) и неактивный набор (iVH и iVL), причем все четыре присутствуют в конструкции пролекарства. Конструкция отформатирована таким образом, что набор VH и VL не может самостоятельно ассоциироваться, а скорее ассоциируется с неактивным партнером, например, iVH и VL и iVL и VH, как продемонстрировано в данном документе.

1. Активные анти-CD3 переменные тяжелые и переменные легкие домены.

Существует ряд подходящих активных наборов CDR и/или доменов VH и VL, которые известны в данной области и находят применение в данном изобретении. Например, домены CDR и/или VH и VL получают из известных антител против CD3, таких как, например, муромонаб-CD3 (ОКТ3), отеликсизумаб (TRX4), теплизумаб (MGA031), висилизумаб (Nuvion), SP34 или I2C, TR-66 или X35-3, VIT3, BMA030 (BW264/56), CLB-T3/3, CRIS7, YTH12.5, F111-409, CLB-T3.4.2, TR-66, WT32, SPv-T3b, 11D8, XIII-141, XIII-46, XIII-87, 12F6, T3/RW2-8C8, T3/RW2-4B6, ОКТ3D, M-T301, SMC2, F101.01, UCNT-1 и WT-31.

В одном варианте осуществления последовательности VH и VL, которые образуют активный Fv-домен, который связывается с CD3 человека, продемонстрированы на фиг. 5. Как продемонстрировано в данном документе, эти активные VH ("aVH") и активные VL ("aVL") домены могут использоваться в различных конфигурациях и форматах 1, 2, 3 и 4.

2. Неактивные вариабельные тяжелые и вариабельные легкие домены против CD3.

Неактивные домены iVH и iVL содержат "обычные" каркасные участки (FR), которые разрешают ассоциацию, так что неактивный вариабельный домен будет ассоциироваться с активным вариабельным доменом, делая пару неактивной, например, неспособной связывать CD3.

Как будет понятно специалистам в данной области, существует ряд "неактивных" вариабельных доменов, которые находят применение в данном изобретении. По существу, можно использовать любой вариабельный домен с каркасными участками человека, который позволяет самосборку с другим вариабельным доменом, независимо от того, какие аминокислоты находятся в положении CDR в вариабельном участке. Для ясности говорят, что неактивные домены содержат CDR, хотя технически неактивные вариабельные домены не предоставляют возможности связывания.

Как будет понятно в данной области техники, обычно просто генерируют неактивные домены VH или VL, и это может быть сделано различными способами. В некоторых вариантах осуществления генерация неактивных вариабельных доменов обычно осуществляется путем изменения одного или нескольких CDR активного Fv, включая внесение изменений в один или несколько из трех CDR активного вариабельного домена. Это можно сделать, сделав одну или несколько аминокислотных замен в функционально важных остатках в одной или нескольких CDR, заменив некоторые или все остатки CDR случайными последовательностями, заменив одну или несколько CDR метками или последовательностями flag и/или поменяв местами CDR и/или вариабельные участки с таковыми из нерелевантного антитела (например, того, которое направлено на белок другого организма).

В некоторых случаях только один из CDR в вариабельном участке может быть изменен, чтобы сделать его неактивным, хотя другие варианты осуществления включают в себя изменения в одном, двух, трех, четырех, пяти или шести CDR.

В некоторых случаях неактивные домены могут быть спроектированы для стимулирования селективного связывания в формате пролекарства, чтобы стимулировать образование внутримолекулярных доменов iVH-VL и VH-iVL перед разрезанием (например, через образование межмолекулярных пар). См., например, Igawa et al., *Protein Eng. Des. Selection* 23 (8): 667-677 (2010), которая включена в данный документ в качестве ссылки во всей своей полноте, и конкретно для аминокислотных замен остатка на поверхности взаимодействия.

В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен полипептидных конструкций, описанных в данном документе, проявляет не только сильное сродство к CD3-связыванию с человеческим CD3, но также демонстрирует превосходную перекрестную реактивность с соответствующими белками CD3 обезьяны яванского макака (*Cynomolgus*). В некоторых случаях CD3-связывающий домен полипептидных конструкций перекрестно реактивен с CD3 от обезьяны яванского макака. В некоторых случаях отношения KD человек:яванский макак к CD3 составляют от 5 до 0,2.

В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка может быть любым доменом, который связывается с CD3, включая, но не ограничиваясь, домены из моноклонального антитела, поликлонального антитела, рекомбинантного антитела, человеческого антитела, гуманизованного антитела. В некоторых случаях полезно, чтобы CD3-связывающий домен происходил из того же вида, в котором в конечном итоге будет использоваться антигенсвязывающий белок. Например, для использования у людей может быть полезным, чтобы CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка содержал человеческие или гуманизованные остатки из антигенсвязывающего домена антитела или фрагмента антитела.

Таким образом, в одном аспекте антигенсвязывающий домен содержит гуманизованный или человеческий связывающий домен. В одном варианте осуществления гуманизованный или человеческий анти-CD3-связывающий домен содержит одну или несколько (например, все три) участок 1, определяющий комплементарность, легкой цепи (CDR1 LC), участок 2, определяющий комплементарность, легкой цепи (CDR2 LC), и участок 3, определяющий комплементарность, легкой цепи (CDR3 LC) гуманизованного или человеческого анти-CD3-связывающего домена, описанного в данном документе, и/или один или несколько (например, все три) участок 1, определяющий комплементарность, тяжелой цепи, (CDR1 HC), участок 2, определяющий комплементарность, тяжелой цепи, (CDR2 HC) и участок 3, определяющий комплементарность, тяжелой цепи, (CDR3 HC) гуманизованного или человеческого анти-CD3-связывающего домена, описанного в данном документе, например, гуманизованного или человеческого анти-CD3-связывающего домена, содержащего один или несколько, например, все три, CDR LC и один или более, например, все три, CDR HC.

В некоторых вариантах осуществления гуманизованный или человеческий анти-CD3-связывающий домен содержит вариабельный участок гуманизованной или легкой цепи человека, специфичный к CD3, при этом вариабельный участок легкой цепи, специфичный к CD3, включает CDR легкой цепи человека или не человека в каркасном участке легкой цепи человека. В некоторых случаях каркасный участок легкой цепи представляет собой каркас легкой цепи (лямбда). В других случаях каркасный участок легкой цепи представляет собой каркас легкой цепи (каппа).

В некоторых вариантах осуществления один или несколько CD3-связывающих доменов являются гуманизованными или полностью человеческими. В некоторых вариантах осуществления один или

несколько активированных CD3-связывающих доменов имеют KD связывания 1000 нМ или менее с CD3 на клетках, экспрессирующих CD3. В некоторых вариантах осуществления один или несколько активированных CD3-связывающих доменов имеют связывание KD 100 нМ или менее с CD3 на клетках, экспрессирующих CD3. В некоторых вариантах осуществления один или несколько активированных CD3-связывающих доменов имеют KD связывания 10 нМ или менее с CD3 на клетках, экспрессирующих CD3. В некоторых вариантах осуществления один или несколько CD3-связывающих доменов обладают перекрестной реактивностью с CD3 яванского макака. В некоторых вариантах осуществления один или несколько CD3-связывающих доменов содержат аминокислотную последовательность, представленную в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления гуманизированный или человеческий анти-CD3-связывающий домен содержит гуманизованную или человеческий переменный участок тяжелой цепи, специфичный к CD3, при этом переменный участок тяжелой цепи, специфичный к CD3, включает CDR тяжелой цепи человека или не человека в каркасном участке тяжелой цепи человека.

В одном варианте осуществления анти-CD3-связывающий домен, представляет собой Fv, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь аминокислотной последовательности, представленной в данном документе. В одном варианте осуществления анти-CD3-связывающий домен содержит переменный участок легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере одну, две или три модификации (например, замены), но не более 30, 20 или 10 модификаций (например, замены) аминокислотной последовательности переменного участка легкой цепи, представленной в данном документе, или последовательность с 95-99% идентичностью с аминокислотной последовательностью, представленной в данном документе; и/или переменный участок тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере одну, две или три модификации (например, замены), но не более 30, 20 или 10 модификаций (например, замены) аминокислотной последовательности переменного участка тяжелой цепи, представленной в данном документе, или последовательности с 95-99% идентичностью с аминокислотной последовательностью, представленной в данном документе. В одном варианте осуществления гуманизированный или человеческий анти-CD3-связывающий домен представляет собой scFv, и переменный участок легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, описанную в данном документе, присоединяется к переменному участку тяжелой цепи, содержащему аминокислотную последовательность, описанную в данном документе, посредством scFv линкера. Переменный участок легкой цепи и переменный участок тяжелой цепи scFv могут находиться, например, в любой из следующих ориентации: переменный участок легкой цепи - scFv линкер - переменный участок тяжелой цепи или переменный участок тяжелой цепи - scFv линкер - переменный участок легкой цепи.

В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка имеет сродство к CD3 на клетках, экспрессирующих CD3, с KD 1000 нМ или менее, 100 нМ или менее, 50 нМ или менее, 20 нМ или менее 10 нМ или менее, 5 нМ или менее, 1 нМ или менее или 0,5 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка имеет сродство к CD3ε с KD 1000 нМ или менее, 100 нМ или менее, 50 нМ или менее, 20 нМ или менее, 10 нМ или менее 5 нМ или менее, 1 нМ или менее или 0,5 нМ или менее. В дополнительных вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка имеет низкое сродство к CD3, т.е. около 100 нМ или более.

Сродство к связыванию с CD3 может быть определено, например, по способности самого антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена связываться с CD3, нанесенным на планшет для анализа; представленным на поверхности микробной клетки; в растворе; и т.д., как известно в данной области, обычно с использованием анализов Biacore или Octet. Активность связывания самого антигенсвязывающего белка, или его CD3-связывающего домена по данному изобретению, с CD3 можно анализировать путем иммобилизации лиганда (например, CD3) или самого антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена на грануле, подложке, клетке и т.д. Агенты могут быть добавлены в соответствующий буфер, а партнеры по связыванию могут инкубироваться в течение некоторого времени при данной температуре. После промывки для удаления несвязанного материала связанный белок может высвобождаться, например, с помощью SDS, буферов с высоким pH и т.п., и анализироваться, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR).

Во многих вариантах предпочтительными активными и инертными связывающими доменами являются те, которые продемонстрированы на фиг. 5.

Антигенсвязывающие домены, направленные на антигены-мишени опухолей.

В дополнение к описанным CD3 и доменам продления периода полураспада полипептидные конструкции, описанные в данном документе, также содержат нацеливающих доменов, которые связываются с одним или несколькими антигенами-мишенями или одним или несколькими участками на одном антигене-мишени. В данном документе предполагается, что полипептидная конструкция по данному изобретению разрезается, например, в специфической для заболевания микросреде или в крови субъекта в домене разрезания протеазой, и что каждый антигенсвязывающий целевой домен будет связываться с антигеном-мишенью на клетке-мишени, тем самым активируя CD3-связывающий домен для связывания T-

клетки. Как правило, АМО-связывающие домены могут связываться со своими мишенями до разрезания протеазой, поэтому они могут "ждать" активации на клетке-мишени, в качестве ловушки для Т клеток. По меньшей мере, один антиген-мишень вовлечен в и/или связан с заболеванием, расстройством или состоянием. Типичные антигены-мишени включают антигены, связанные с пролиферативным заболеванием, опухолевым заболеванием, воспалительным заболеванием, иммунологическим расстройством, аутоиммунным заболеванием, инфекционным заболеванием, вирусным заболеванием, аллергической реакцией, паразитарной реакцией, болезнью трансплантат против хозяина или болезнь хозяин против трансплантата. В некоторых вариантах осуществления антиген-мишень представляет собой опухолевый антиген, экспрессированный на опухолевой клетке. Альтернативно в некоторых вариантах осуществления антиген-мишень связан с патогеном, таким как вирус или бактерия. По меньшей мере, один антиген-мишень также может быть направлен против здоровой ткани.

В некоторых вариантах осуществления антиген-мишень представляет собой молекулу клеточной поверхности, такую как белок, липид или полисахарид. В некоторых вариантах осуществления антиген-мишень представляет собой опухолевую клетку, вирусно-инфицированную клетку, бактериально инфицированную клетку, поврежденный эритроцит, клетку артериальной бляшки или клетку фиброзной ткани.

Предпочтительные варианты осуществления изобретения используют одАСД в качестве нацеливающих доменов. Они предпочтительны по сравнению с scFv АСД, поскольку добавление других доменов VH и VL в конструкцию по данному изобретению может осложнить образование псевдо Fv доменов.

В некоторых вариантах осуществления в конструкциях пролекарств по данному изобретению используется один АМО-связывающий домен, обычно такой, как изображен на фиг. 3А, в виде пар одАСД-АМО, и на фиг. 4, в конфигурации "формата 4". На фиг. 4 продемонстрировано использование одного АСД против EGFR, хотя можно использовать и другие АМО-связывающие домены.

В некоторых вариантах осуществления, особенно в конструкциях формата 1 и формата 2, в конструкциях пролекарства по данному изобретению применяются два АСД АМО, опять же предпочтительно в формате одАСД-АМО. При использовании доменов двойного нацеливания они могут связываться с одним и тем же эпитопом одного и того же АМО. Например, как обсуждено в данном документе, многие из конструкций в данном документе используют два идентичных нацеливающих домена. В некоторых вариантах осуществления могут быть использованы два нацеливающих домена, которые связываются с разными эпитопами одной и той же АМО, например, как продемонстрировано на фиг. 5, два одАСД EGFR связываются с разными эпитопами на EGFR человека. В некоторых вариантах осуществления два нацеливающих домена связываются с различными АМО, см., например, фиг. 55.

Рассматриваемые в данном документе полипептидные конструкции содержат, по меньшей мере, один антигенсвязывающий домен, при этом указанный антигенсвязывающий домен связывается, по меньшей мере, с одним антигеном-мишенью. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающие домены-мишени специфически связываются с молекулой клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающие домены-мишени специфически связываются с опухолевым антигеном. В некоторых вариантах осуществления домены, связывающие антиген-мишень, специфически и независимо связываются с антигеном-мишенью опухоли ("АМО"), выбранным по меньшей мере из одного из ErCAM, EGFR, HER-2, HER-3, cMet, LyPD3, B7H3, CEA и FOLR1.

Особое применение в данном изобретении представляют собой одАСД для EGFR человека, как продемонстрировано на фиг. 5.

Дополнительные варианты применения в данном изобретении представляют собой одАСД для FOLR1 человека, как продемонстрировано на фиг. 5.

Дальнейшие варианты применения в данном изобретении представляют собой одАСД для человеческого B7H3, как продемонстрировано на фиг. 5.

Дополнительные варианты применения в данном изобретении представляют собой одАСД для человеческого ErCAM, как продемонстрировано на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления белок до разрезания домена разрезания протеазой составляет менее чем приблизительно 100 кДа. В некоторых вариантах осуществления белок после разрезания домена разрезания протеазой составляет от около 25 до около 75 кДа. В некоторых вариантах осуществления белок до разрезания протеазой имеет размер, который выше почечного порога для клиренса первого прохода. В некоторых вариантах осуществления белок до разрезания протеазой имеет период полувыведения, по меньшей мере, около 50 ч. В некоторых вариантах осуществления белок до разрезания протеазой имеет период полувыведения, по меньшей мере, приблизительно 100 ч. В некоторых вариантах осуществления белок имеет повышенное проникновение в ткани по сравнению с IgG к тому же антигену-мишени. В некоторых вариантах осуществления белок имеет повышенное распределение в ткани по сравнению с IgG к тому же антигену-мишени.

Домены продления периода полураспада.

МСЕ белки по данному изобретению (опять же, также называемые в данном документе белками или конструкциями "СОBRA™") необязательно содержат домены продления периода полураспада. Предполагается, что такие домены включают, но не ограничиваются ими, ЧСА-связывающие домены,

Fc-домены, малые молекулы и другие домены удлинения периода полураспада, известные в данной области.

Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) (молекулярная масса ~ 67 кДа) является наиболее распространенным белком в плазме, присутствует в концентрации около 50 мг/мл (600 мкМ) и имеет период полураспада у людей около 20 дней. ЧСА служит для поддержания pH в плазме, способствует коллоидному кровяному давлению, выполняет функцию переносчика многих метаболитов и жирных кислот и служит основным транспортным белком для лекарств в плазме.

Нековалентная ассоциация с альбумином продлевает период полувыведения короткоживущих белков. Например, рекомбинантное слияние альбумин-связывающего домена с фрагментом Fab приводило к снижению клиренса *in vivo* в 25 и 58 раз и продлению периода полураспада в 26 и 37 раз при внутривенном введении мышам и кроликам соответственно по сравнению с введением только одного Fab фрагмента. В другом примере, когда инсулин ацилируют жирными кислотами для стимуляции ассоциации с альбумином, наблюдается длительный эффект при подкожной инъекции кроликам или свиньям. Вместе эти исследования демонстрируют связь между связыванием альбумина и пролонгированным действием.

В одном аспекте антигенсвязывающие белки, описанные в данном документе, содержат домен продления периода полураспада, например домен, который специфически связывается с ЧСА. В других вариантах осуществления ЧСА-связывающий домен представляет собой пептид. В других вариантах осуществления ЧСА-связывающий домен представляет собой малую молекулу. Предполагается, что ЧСА-связывающий домен антигенсвязывающего белка является довольно небольшим и имеет не более 25 кДа, не более 20 кДа, не более 15 кДа или не более 10 кДа в некоторых вариантах осуществления. В некоторых случаях ЧСА-связывающий домен составляет 5 кДа или менее, если он представляет собой пептид или малую молекулу.

Во многих вариантах домен продления периода полураспада представляет собой однодоменный антигенсвязывающий домен из однодоменного антитела, которое связывается с ЧСА. Этот домен обычно называют в данном документе "одАСД" для ЧСА человека (одАСД-ЧСА) или, альтернативно, "одАСД ($1/2$)", чтобы отличать эти связывающие домены от одАСД для АМО. Особенно полезный одАСД ($1/2$) продемонстрирован на фиг. 5.

Домен продления периода полураспада антигенсвязывающего белка обеспечивает измененную фармакодинамику и фармакокинетику самого антигенсвязывающего белка. Как указано выше, домен продления периода полураспада продлевает время полувыведения. Домен продления периода полураспада также изменяет фармакодинамические свойства, включая изменение распределения ткани, проникновение и диффузию антигенсвязывающего белка. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полураспада обеспечивает улучшенное нацеливание на ткань (включая опухоль), проникновение в ткань, распределение в ткани, диффузию внутри ткани и повышенную эффективность по сравнению с белком без связывающего домена с продленным периодом полураспада. В одном варианте осуществления в терапевтических способах эффективно и продуктивно используется уменьшенное количество антигенсвязывающего белка, что приводит к уменьшенным побочным эффектам, таким как пониженная цитотоксичность неопухолевых клеток.

Кроме того, характеристики домена продления периода полураспада, например, ЧСА-связывающего домена, включают сродство связывания ЧСА-связывающего домена к ЧСА. Аффинность указанного ЧСА-связывающего домена может быть выбрана так, чтобы нацеливаться на специфическое время полувыведения в конкретной полипептидной конструкции. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления ЧСА-связывающий домен обладает высокой аффинностью связывания. В других вариантах осуществления ЧСА-связывающий домен обладает средней аффинностью связывания. В еще других вариантах осуществления ЧСА-связывающий домен имеет низкую или незначительную аффинность связывания. Типичные аффинности связывания включают концентрации KD при 10 нМ или менее (высокая), от 10 до 100 нМ (средняя) и более 100 нМ (низкая). Как указано выше, аффинность связывания с ЧСА определяют известными способами, такими как поверхностный плазмонный резонанс (SPR).

Сайты разрезания протеазой.

Белковые композиции по данному изобретению и, в частности, пролекарственные конструкции, содержат один или несколько сайтов разрезания протеазой, обычно присутствующих в разрезаемых линках, как описано в данном документе.

Как описано в данном документе, пролекарственные конструкции по данному изобретению содержат, по меньшей мере, один сайт разрезания протеазой, содержащий аминокислотную последовательность, которая разрезается, по меньшей мере, одной протеазой. В некоторых случаях описанные в данном документе МСЕ белки содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более сайтов разрезания протеазой, которые разрезаются по меньшей мере одной протеазой. Как более полно обсуждается в данном документе, когда в конструкции пролекарства используется более одного сайта разрезания протеазой, они могут быть одинаковыми (например, множественные сайты, разрезаемые одной протеазой) или разными (два или более сайтов разрезания разрезаются минимум двумя разными протеазами). Как будет понятно специалистам в данной области, конструкции, содержащие три или более сайтов разрезания протеазой, могут использовать один, два, три и т.д.; например, некоторые

конструкции могут использовать три сайта для двух разных протеаз и т. д.

Аминокислотная последовательность сайта разрезания протеазой будет зависеть от целевой протеазы. Как известно в данной области, существует ряд человеческих протеаз, которые обнаруживаются в организме и могут быть связаны с болезненными состояниями.

Известно, что протеазы секретируются некоторыми больными клетками и тканями, например опухолевыми или раковыми клетками, создавая микроокружение, богатое протеазами, или богатое протеазами микроокружение. В некоторых случаях кровь субъекта богата протеазами. В некоторых случаях клетки, окружающие опухоль, выделяют протеазы в микроокружение опухоли. Клетки, окружающие опухоль, секретирующие протеазы, включают, но не ограничиваются ими, стромальные клетки опухоли, миофибробласты, клетки крови, тучные клетки, В-клетки, НК-клетки, регуляторные Т-клетки, макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, дендритные клетки, мезенхимальные стволовые клетки, полиморфно-ядерные клетки и другие клетки. В некоторых случаях протеазы присутствуют в крови субъекта, например протеазы, которые нацелены на аминокислотные последовательности, обнаруженные в микробных пептидах. Эта особенность позволяет нацеленным терапевтическим средствам, таким как антигенсвязывающие белки, обладать дополнительной специфичностью, поскольку Т-клетки не будут связаны антигенсвязывающим белком, кроме как в богатом протеазой микроокружении целевых клеток или тканей.

Протеазы - это белки, которые расщепляют белки, в некоторых случаях специфичным для последовательности образом. Протеазы включают, но не ограничиваются ими, сериновые протеазы, цистеиновые протеазы, аспартат-протеазы, треониновые протеазы, глутаминовые протеазы, металлопротеазы, аспарагиновые пептидные лиазы, сывороточные протеазы, катепсины (например, катепсин В, катепсин С, катепсин D, катепсин Е, катепсин К, Катепсин L, Катепсин S), калликреины, hK1, hK10, hK15, KLK7, Гранзим В, плазмин, коллагеназу, коллагеназу IV типа, стромелизин, фактор Ха, химотрипсиноподобную протеазу, трипсиноподобную протеазу, эластазоподобную протеазу, субтилизин, актинидин, бромелайн, кальпаин, каспазы (например, каспаза-3), Mir1-CP, папаин, ВИЧ-1-протеазу, HSV-протеазу, CMV-протеазу, химозин, ренин, пепсин, матриптазу, легумаин, плазмепсин, непентезин, металлоэкзопептидазы, металлоэндопептидазы, матричные металлопротеазы (ММР), ММР1, ММР2, ММР3, ММР8, ММР9, ММР13, ММР11, ММР14, меприн, урокиназный активатор пламиногена (УАП), энтерокиназу, простат-специфический антиген (PSA, hK3), интерлейкин-1 β -превращающий фермент, тромбин, ФАП (ФАП- α), дипептидилпептидазу и дипептидилпептидазу IV (DPP-IV/CD26).

Некоторые подходящие протеазы и последовательности разрезания протеазами продемонстрированы на фиг. 5 и 6.

Линкеры.

Как обсуждается в данном документе, различные домены по данному изобретению, как правило, связаны друг с другом с применением аминокислотных линкеров, которые также могут придавать функциональность, включая гибкость или негибкость (например, стерическое ограничение), а также способность разрезаться с применением протеазы *in situ*. Данные линкеры могут быть классифицированы несколькими способами.

Данное изобретение обеспечивает "линкеры доменов", которые применяются для соединения двух или более доменов (например, VH и VL, домена, связывающих опухолевый антиген-мишень (АСД АМО, иногда также упоминаемого в данном документе как " α АМО (для" анти-АМО ") с VH или VL, домена продления периода полураспада к другому компоненту и т. д. Например, линкеры доменов могут быть неразрезаемыми (НРЛ), разрезаемыми ("РЛ"), ограничивающими и разрезаемыми (ОРЛ) и ограничивающими и неразрезаемыми (ОНРЛ).

1. Нерезаемые линкеры.

В некоторых вариантах осуществления линкер доменов не разрезается. Как правило, они могут быть одного из двух типов: неразрезаемыми и гибкими, что позволяет компонентам "выше" и "ниже" линкера в конструкциях внутримолекулярно самостоятельно собираться определенными способами; или неразрезаемыми и ограничивающими, в которых два компонента, разделенных линкером, не способны к внутримолекулярной самосборке. Следует отметить, однако, что в последнем случае, хотя два домена-компонента, которые разделены неразрезаемым ограничивающим линкером, не самоорганизуются внутримолекулярно, другие внутримолекулярные компоненты будут самоорганизовываться с образованием псевдо Fv доменов.

Нерезаемые, но гибкие линкеры.

В данном варианте осуществления линкер используется для объединения доменов, чтобы сохранить функциональность доменов, как правило, посредством более длинных гибких доменов, которые не разрезаются протеазами *in situ* у пациента. Примеры внутренних неразрезаемых линкеров, подходящих для связывания доменов в полипептидах по данному изобретению, включают, но не ограничиваются ими, (GS) n , (GGS) n , (GGGS) n , (GSG) n , (GGSG) n , или (GGGS) n , где n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах длина линкера может составлять около 15 аминокислот.

Неразрезаемые и ограничивающие линкеры.

В некоторых случаях линкеры не содержат сайт разрезания и также являются слишком короткими, чтобы позволить белковым доменам, разделенным линкером, внутримолекулярную самоорганизацию и являются "и ограничивающими неразрезаемыми линкерами" или "ОНРЛ". Например, в Pro186 активный VH и активный VL разделены 8 аминокислотами ("8-мер"), что не позволяет VH и VL самостоятельно собираться в активный антигенсвязывающий домен. В некоторых вариантах осуществления линкер все еще является гибким; например, (GGGS)_n, где n=2. В других вариантах осуществления, хотя обычно они менее предпочтительны, могут использоваться более жесткие линкеры, такие как те, которые включают пролин или объемные аминокислоты.

2. Разрезаемые линкеры.

Все пролекарственные конструкции в данном документе содержат, по меньшей мере, один разрезаемый линкер. Таким образом, в одном варианте осуществления линкер доменов является разрезаемым (РЛ), и иногда упоминается в данном документе как "домен разрезания протеазой" ("ДРП"). В данном варианте осуществления РЛ содержит сайт разрезания протеазой, как описано в данном документе и изображено на фиг. 5 и фиг. 6. В некоторых случаях РЛ содержит только сайт разрезания протеазой. Не обязательно, в зависимости от длины сайта распознавания и разрезания, может быть несколько дополнительных связывающих аминокислот на одном или обоих N- или C-конце РЛ; например, может быть от 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот на одном или обоих N- и C-концах сайта разрезания. Таким образом, разрезаемые линкеры также могут быть ограничивающими (например, 8-мерными) или гибкими.

Особый интерес в данном изобретении представляют разрезаемые линкеры ММР9 и разрезаемые меприном линкеры, в частности разрезаемые линкеры, связанные с ММР9, и разрезаемые линкеры, связанные с меприном.

Домены по данному изобретению.

Данное изобретение обеспечивает ряд различных форматов пролекарственных полипептидов по данному изобретению. Данное изобретение предоставляет ограниченные Fv-домены и ограниченные псевдо Fv-домены. Кроме того, данное изобретение предлагает многовалентные условно-эффективные ("МСЕ") белки, которые содержат два Fv-домена, но являются неизомеризующимися конструкциями. Как указано в данном документе, это могут быть неизомеризующиеся разрезаемые форматы или неизомеризующиеся неразрезаемые форматы, хотя каждая конструкция содержит по меньшей мере один домен разрезания протеазой.

Важно отметить, что хотя оба этих домена (Fv-домен и псевдо Fv-домен) упоминаются в данном документе как "ограниченные", это означает, что, как обсуждалось выше и продемонстрировано на фиг. 37, 38 и 39 только один из них должен быть ограниченным, хотя обычно, когда оба линкера ограничивающие, белок имеет лучшую экспрессию.

Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что для форматов 1, 2 и 4 существует четыре возможности для порядка от N- к C-концу ограниченных и псевдо Fv-доменов по данному изобретению (линкеры не продемонстрированы): aVH-aVL и iVL-iVH, aVH-aVL и iVH-iVL, aVL-aVH и iVL-iVH, aVL-aVH и iVH-iVL. Все четыре были протестированы, и все четыре имеют активность, хотя первый порядок, aVH-aVL и iVL-iVH, демонстрирует лучшую экспрессию, чем остальные три. Таким образом, хотя описание в данном документе, как правило, продемонстрировано в формате aVH-aVL и iVL-iVH, все раскрытия в данном документе включают в себя и другие порядки для этих доменов.

Следует отметить, что обычно порядок от N- к C-концу для полноразмерных конструкций согласно данному изобретению основан на ориентации aVH-aVL и iVL-iVH.

Кроме того, в данной области техники известно, что у людей может быть иммуногенность, происходящая от C-концевых последовательностей определенных АСД. Соответственно, в целом, в частности, когда C-конец конструкций заканчивается в одАСД (например, домены одАСД-ЧСА многих конструкций), можно использовать гистидиновый тэг (His6 или His10). Многие или большинство последовательностей в данном документе были получены с применением His6 C-концевых тэгов по причинам очистки, но эти последовательности также можно использовать для снижения иммуногенности у людей, как продемонстрировано в Holland et al., DOI 10.1007/s10875-013-9915-0 и WO2013/024059.

Ограниченные Fv-домены.

Данное изобретение обеспечивает ограниченные Fv-домены, которые содержат активный VH и активный VL-домен, которые ковалентно присоединены с применением ограничивающего линкера (который, как указано в данном документе, может быть разрезаемым (форматы 1 и 3) или неразрезаемым (форматы 2 и 4)). Ограничивающий линкер предотвращает внутримолекулярную ассоциацию между aVH и aVL в отсутствие разрезания. Таким образом, ограниченный Fv-домен обычно содержит набор из шести CDR, содержащихся в переменных доменах, при этом vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 VH связывают CD3 человека, и vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3 VL связывают CD3 человека, но в формате пролекарства (например, неразрезанного) VH и VL неспособны стерически ассоциироваться с образованием активного связывающего домена, предпочитая вместо этого соединяться внутримолекулярно с псевдо Fv.

Ограниченные Fv-домены могут содержать активный VH и активный VL (aVH и aVL) или неактивные VH и VL (iVH и iVL, и в этом случае это ограниченный псевдо Fv-домен) или их комбинации, как

описано в данном документе.

Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL в ограниченном Fv-домене может быть (от N- к C-концу) либо VH-линкер-VL, либо VL-линкер-VH.

Как указано в данном документе, для конструкций формата 1 ограниченные Fv-домены могут содержать VH и VL, связанные с применением разрезаемого линкера, в случаях, таких как продемонстрированные на фиг. 5 и фиг. 6. В данном варианте осуществления ограниченный Fv-домен имеет структуру (от N- к C-концу) vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4-ОПЛ-vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4. Как правило, ограниченный Fv-домен содержит активные домены VH и VL (например, способен связывать CD3, когда он ассоциирован) и, таким образом, имеет структуру (от N- к C-концу) vhFR1-avhCDR1-vhFR2-avhCDR2-vhFR3-avhCDR3-vhFR4-ОПЛ-vlFR1-avlCDR1-vlFR2-avlCDR2-vlFR3-avlCDR3-vlFR4.

Как описано в данном документе, для конструкций формата 2 ограниченные Fv-домены могут содержать VH и VL, связанные с применением неразрезаемого линкера. В данном варианте осуществления ограниченный Fv-домен имеет структуру (от N- к C-концу) vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4-ОПЛ-vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4. Как правило, ограниченный Fv-домен содержит активные домены VH и VL (например, способен связываться с CD3, когда он ассоциирован) и, таким образом, имеет структуру (от N- к C-концу) vhFR1-avhCDR1-vhFR2-avhCDR2-vhFR3-avhCDR3-vhFR4-ОПЛ-vlFR1-avlCDR1-vlFR2-avlCDR2-vlFR3-avlCDR3-vlFR4.

Особое применение в данном изобретении имеют ограничивающие неразрезаемые Fv-домены, имеющие aVH, имеющий SEQ ID NO: 61, aVL, имеющий SEQ ID NO: 49, и линкер доменов, имеющий SEQ ID NO: 74.

Ограниченные псевдо Fv-домены.

Данное изобретение обеспечивает ограниченные псевдо Fv-домены, содержащие неактивные или псевдо iVH- и iVL-домены, которые ковалентно связаны с применением ограничивающего линкера (который, как указано в данном документе, может быть разрезаемым или неразрезаемым). Ограничивающий линкер предотвращает внутримолекулярную ассоциацию между iVH и iVL в отсутствие разрезания. Таким образом, общий ограниченный псевдо Fv-домен включает в себя iVH и iVL с каркасными участками, которые допускают ассоциацию (в неограниченном формате) iVH и iVL, хотя результирующий псевдо Fv-домен не связывается с человеческим белком. Домены iVH могут собираться с доменами aVL, а домены iVL могут собираться с доменами aVH, хотя полученные структуры не связываются с CD3.

Ограниченные псевдо Fv-домены содержат неактивные VH и VL (iVH и iVL).

Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL в ограниченном псевдо Fv-домене может быть либо (От N- к C-концу) VH-линкер-VL, либо VL-линкер-VH.

Как указано в данном документе, ограниченные псевдо Fv-домены могут содержать iVH и iVL, связанные с применением неразрезаемого линкера, как продемонстрировано в форматах 1, 2 и 4, или с разрезаемыми линкерами, как продемонстрировано в формате 3.

Как правило, ограниченный Fv-домен содержит инертные домены VH и VL (например, спосные связывать CD3, когда они ассоциированы) и, таким образом, имеет структуру (от N- к C-концу) vhFR1-ivlCDR1-vhFR2-ivlCDR2-vhFR3-ivlCDR3-vhFR4-ОПЛ -vlFR1-ivhCDR1-vlFR2-ivhCDR2-vlFR3-ivhCDR3-vlFR4.

Особое применение в данном изобретении имеют ограниченные неразрезаемые псевдо Fv-домены, имеющие iVH, имеющий SEQ ID NO: 65 или SEQ ID NO: 69, iVL, имеющий SEQ ID NO: 53 или SEQ ID NO: 57, и линкер доменов имеющий SEQ ID NO: 74.

Форматы по данному изобретению.

Как обсуждалось в данном документе, пролекарственные конструкции по данному изобретению могут принимать ряд различных форматов, включая разрезаемые форматы с двумя АМО-связывающими доменами, неразрезаемые форматы с двумя АМО-связывающими доменами (любой из которых может иметь одинаковые АМО-связывающие домены или разные связывающие домены) и неразрезаемые форматы с одним целевым доменом.

Разрезаемые форматы с двойным нацеливанием.

Данное изобретение обеспечивает неизомеризуемые разрезаемые форматы типа "формата 1" на фиг. 1. В данном варианте осуществления ограниченный Fv-домен содержит домены VH и VL, которые связаны с применением ограничивающих разрезаемых линкеров, а ограниченный псевдо Fv-домен использует ограничивающие неразрезаемые линкеры. Для простоты обсуждения оба из них упоминаются в данном документе как "ограничивающие", но, как обсуждалось выше и продемонстрировано на фиг. 37, фиг. 38 и фиг. 39 когда оба линкера ограничивающие, белок имеет лучшую экспрессию.

Все конструкции в формате 1 (а также в других форматах) также имеют разрезаемый линкер (ПЛ), который разрезается опухолевой протеазой человека.

Данное изобретение относится к пролекарственным белкам, содержащим от N- к C-концу (одАСД-АМО1)-линкер доменов-ограниченный Fv-домен-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-ПЛ-ограниченный псевдо Fv домен-линкер доменов-одАСД-ЧСА.

Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном

монстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с одной и той же АМО, которым может быть EGFR, FOLR1, B7H3 или EpCAM, последовательности для которых изображены на фиг. 5, и ОПЛ и РЛ выбираются из линкера, который разрезается MMP9 или меприном, и одАСД ($1/2$) имеет SEQ ID NO: 45.

В формате 1 предпочтительным линкером доменов является SEQ ID NO: 74 (который также служит предпочтительным ограниченным неразрезаемым линкером).

В формате 1 предпочтительными конструкциями являются Pro140 и Pro140b.

Неразрезаемые форматы.

Как продемонстрировано на фиг. 2, данное изобретение обеспечивает неизомеризирующиеся неразрезаемые форматы. В данном варианте осуществления понятно, что "неразрезаемый" применяется только к связи ограниченного Fv-домена, поскольку в конструкции пролекарства имеется активирующий сайт разрезания. В данном варианте осуществления ограниченный Fv-домен содержит домены VH и VL, которые связаны с применением ограничивающих неразрезаемых линкеров, а ограниченный псевдо Fv-домен исползует ограничивающие неразрезаемые линкеры.

Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном Fv-доме, либо в ограниченной псевдо Fv-доме может быть (от N- к С-концу) либо VH-линкер-VL, либо VL-линкер-VH.

Данное изобретение относится к пролекарственным белкам, содержащим от N- к С-концу одАСД (АМО1)-линкер доменов-ограниченный Fv-домен-линкер доменов-одАСД (АМО2)-разрезаемый линкер-ограниченный-псевдо Fv-домен-линкер доменов-одАСД-ЧСА,

Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном Fv-доме, либо в ограниченной псевдо Fv-доме может быть (от N- к С-концу) либо VH-линкер-VL, либо VL-линкер-VH.

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-ЧСА.

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVH-ОНРЛ-iVL -линкер доменов-одАСД-ЧСА.

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVL-ОНРЛ-aVH-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-ЧСА.

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVL-ОНРЛ-aVH-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVH-ОНРЛ-iVL-линкер доменов-одАСД-ЧСА.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с одной и той же АМО, которой могут быть EGFR, EpCAM, FOLR1 или B7H3, последовательности для которых изображены на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с различными АМО.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с EGFR и EpCAM, и одАСД-АМО и имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с EGFR и FOLR1, а одАСД-АМО и имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих до-

мена связываются с EGFR и B7H3, а одАСД-АМО и имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с ЕрсАМ и FOLR1, и одАСД-АМО и имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с ЕрсАМ и B7H3, и одАСД-АМО, и имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с FOLR1 и B7H3, и одАСД-АМО, и имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5.

В некоторых вариантах осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО1)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-линкер доменов-(одАСД-АМО2)-РЛ-iVL-ОНРЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-АСП. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления два нацеливающих домена связываются с одной и той же АМО, которой может быть EGFR, FOLR1, B7H3 или ЕрсАМ, последовательности для которых изображены на фиг. 5, и ОРЛ и РЛ выбираются из линкера, который разрезается MMP9 или меприном, и одАСД (1/2) имеет SEQ ID NO: 45.

В формате 2 предпочтительным линкером доменов является SEQ ID NO: 74 (который также служит предпочтительным ограниченным неразрезаемым линкером).

В формате 2 варианты осуществления, в частности, включают, но не ограничиваются ими, Pro186, Pro225, Pro226, Pro233, Pro311, Pro312, Pro313, Pro495, Pro246, Pro254, Pro255, Pro256, Pro420, Pro421, Pro432, Pro479, Pro480, Pro187, Pro221, Pro222, Pro223, Pro224, Pro393, Pro394, Pro395, Pro396, Pro429, Pro430 и Pro431.

Конструкции, направленные на одну АМО.

Как продемонстрировано на фиг. 4, конструкции "формата 4" также включены в композиции по данному изобретению, которые аналогичны конструкциям формата 2, но без второго АМО АСД. В данном варианте осуществления понятно, что "неразрезаемый" применяется только к связыванию ограниченного Fv-домена, поскольку в конструкции пролекарства имеется активизирующий сайт разрезания. В данном варианте осуществления ограниченный Fv-домен содержит домены VH и VL, которые связаны с применением ограничивающих неразрезаемых линкеров, а ограниченный псевдо Fv-домен использует ограничивающие неразрезаемые линкеры.

Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном Fv-доме, либо в ограниченном псевдо Fv-доме может быть (от N- к С-концу) либо VH-линкер-VL, либо VL-линкер-VH.

Данное изобретение относится к пролекарственным белкам, содержащим от N- к С-концу одАСД (АМО)-линкер доменов-ограниченный Fv-домен-разрезаемый линкер-одАСД-ЧСА-ограниченный псевдо Fv домен. (Обратите внимание, что для всех конструкций для этого формата одАСД-ЧСА обычно не имеет тега His6, хотя он может быть включен).

Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном Fv-доме, либо в ограниченной псевдо Fv-доме может быть (от N- к С-концу) либо VH-линкер-VL, либо VL-линкер-VH.

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-РЛ- (одАСД-ЧСА)-линкер доменов -iVL-ОНРЛ-iVH,

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-РЛ- (одАСД-ЧСА)-линкер доменов-iVH-ОНРЛ-iVL,

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО)-линкер доменов-aVL-ОНРЛ-aVH-РЛ- (одАСД-ЧСА)-линкер доменов-iVH-ОНРЛ-iVL,

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к С-концу: (одАСД-АМО)-линкер доменов-aVL-ОНРЛ-aVH-РЛ-(одАСД-ЧСА)-линкер доменов-iVL-ОНРЛ-

iVH,

Таким образом, в одном варианте осуществления пролекарственный белок содержит от N- к C-концу: (одАСД-АМО)-линкер доменов-aVH-ОНРЛ-aVL-РЛ- (одАСД-ЧСА)-линкер доменов-iVL-ОНРЛ-iVH. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5. В данном варианте осуществления домен нацеливания связывается с АМО, которая может представлять собой EGFR, EpCAM, FOLR1 или V7H3, последовательности для которых изображены на фиг. 5.

В формате 4 предпочтительным доменным линкером является SEQ ID NO: 74 (который также служит предпочтительным ограниченным неразрезаемым линкером).

В формате 4 предпочтительным одАСД-ЧСА является SEQ ID NO: 45.

Двухбелковые композиции.

В некоторых вариантах осуществления композиции по данному изобретению содержат две разные молекулы, иногда называемые "hemi-COBRA™" или "hemi-конструкциями", которые в отсутствие разрезания внутримолекулярно связываются с образованием псевдо Fv. В присутствии протеазы сайты разрезания разрезаются, высвобождая инертные вариабельные домены, а затем пара белка образует активный антигенсвязывающий домен с CD3, как в целом продемонстрировано на фиг. 3.

Что важно в конструкции hemi-конструкций, так это то, что активный вариабельный домен и одАСД-АМО остаются вместе после разрезания, так что две разрезанные части удерживаются вместе рецептором опухолевого антигена на поверхности опухоли и затем могут образовывать активный анти-CD3-связывающий домен.

Существуют две разные общие конструкции формата 3, в которых каждый член пары имеет один одАСД-АМО (фиг. 3А) и один с двумя различными одАСД-АМО, каждый из которых имеет свою АМО (фиг. 3В).

1. Hemi-COBRA™ конструкции с единичными АМО-связывающими доменами (формат 3А).

В некоторых вариантах осуществления первый hemi-COBRA™ имеет от N-к C-концу одАСД (АМО1)-линкер доменов-aVH-РЛ-iVL-линкер доменов-d-АСД ($1/2$), а второй имеет одАСД ($1/2$) - линкер доменов-iVH-РЛ-aVL-линкер доменов-одАСД (АМО2). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL и одАСД ($1/2$) имеют последовательности, продемонстрированные на фиг. 5, и одАСД-АМОа связываются с EGFR человека, EpCAM, FOLR1 и/или V7H3 и имеют изображенную на фиг. 5 последовательность.

2. Hemi-COBRA™ конструкторы с двойными АМО АСД.

В некоторых вариантах осуществления изобретения парные пролекарственные конструкции могут иметь два связывающих домена одАСД-АМО на конструкцию, как продемонстрировано на фиг. 3В. В этих вариантах осуществления первый член пары содержит от N- к C-концу одАСД-АМО1-линкер доменов-одАСД-АМО2-aVH-РЛ-iVL-линкер доменов-одАСД (ЧСА) и второй член содержит от N- к C-концу одАСД-АМО1-линкер доменов-одАСД-АМО2-aVL-РЛ-iVH-линкер доменов-одАСД-ЧСА.

Два одАСД-АМО для каждого члена пары различны, но обычно оба члена (hemi-COBRA™) имеют одинаковые два одАСД-АМО, например, оба имеют EGFR и FOLR1 или EGFR и V7H3 и т. д.

Два одАСД-АМО в некоторых вариантах осуществления выбираются из тех, которые продемонстрированы на фиг. 5.

Способы изготовления композиций по данному изобретению.

Композиции пролекарств по данному изобретению изготавливают, как это обычно будет понятно специалистам в данной области, и это описано в общих чертах ниже.

Данное изобретение обеспечивает композиции нуклеиновых кислот, которые кодируют пролекарственные композиции по данному изобретению. Как будет понятно специалистам в данной области, композиции нуклеиновых кислот будут зависеть от формата полипептида(ов) пролекарства. Таким образом, например, когда формат требует две аминокислотные последовательности, такие как конструкции "формата 3", две последовательности нуклеиновой кислоты могут быть включены в один или несколько векторов экспрессии для экспрессии. Аналогично, для пролекарственных конструкций, которые представляют собой один полипептид (форматы 1, 2 и 4), для производства требуется одна нуклеиновая кислота в одном векторе экспрессии.

Как известно в данной области, нуклеиновые кислоты, кодирующие компоненты по данному изобретению, могут быть включены в векторы экспрессии, как известно в данной области, и в зависимости от клеток-хозяев, используемых для получения пролекарственных композиций по данному изобретению. Как правило, нуклеиновые кислоты функционально связаны с любым количеством регуляторных элементов (промоторы, происхождение репликации, селективируемые маркеры, сайты связывания рибосом, индукторы и т. д.). Векторы экспрессии могут быть внехромосомными или интегрирующими векторами.

Затем нуклеиновые кислоты и/или векторы экспрессии по данному изобретению трансформируют в любое количество различных типов клеток-хозяев, как хорошо известно в данной области, включая клетки млекопитающих, бактерий, дрожжей, насекомых и/или грибов, и клетки млекопитающих (например, клетки СНО, клетки 293), находят применение во многих вариантах осуществления.

Композиции пролекарств по данному изобретению получают путем культивирования клеток-хозяев, содержащих вектор(ы) экспрессии, как это хорошо известно в данной области. После получения выполняются традиционные стадии очистки антител, включая стадию аффинной хроматографии с белком А и/или стадию ионообменной хроматографии.

Составление и введение пролекарственных композиций по данному изобретению.

Составы пролекарственных композиций, используемых в соответствии с данным изобретением, готовят для хранения путем смешивания пролекарств (отдельных белков в случае форматов 1, 2 и 4 и двух белков в случае формата 3), имеющих желаемый уровень чистоты с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами (как обычно указано в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]), в форме лиофилизированных составов или водных растворов.

Композиции пролекарств по данному изобретению вводят субъекту в соответствии с известными способами, такими как внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение какого-либо периода времени.

Пролекарственные композиции по данному изобретению полезны при лечении рака.

Примеры

Пример 1. Получение и очистка проконструкций.

Трансфекции.

Каждый белок (например, отдельные белки для форматов 1, 2 и 4) или пары конструкций (формат 3) были экспрессированы из отдельного вектора экспрессии (производное pcdna3.4). Равные количества плазмидной ДНК, кодирующей пару *hemi-sobga* или одноцепочечных конструкций, смешивали и трансфицировали в клетки Expi293 в соответствии с протоколом трансфекции производителя. Кондиционированную среду собирали через 5 дней после трансфекции центрифугированием (6000 об/мин × 25') и фильтрацией (фильтр 0,2 мкм). Экспрессия белка была подтверждена SDS-PAGE. Конструкции очищали, и конечная буферная композиция представляла собой: 25 мМ цитрата, 75 мМ аргинина, 75 мМ NaCl, 4% сахарозы, pH 7. Конечные препараты хранили при -80°C.

Активация MMP9.

Рекомбинантный (рк) MMP9 человека активировали в соответствии со следующим протоколом. Рекомбинантный человеческий MMP-9 (R & D # 911-MP-010) в концентрации 0,44 мг/мл (4,7 мкМ). Ацетат *p*-аминофенилртути (APMA) (Sigma) готовят в концентрации стока 100 мМ в ДМСО. Буфер для анализа представляет собой 50 мМ Трис, pH 7,5, 10 мМ CaCl₂, 150 мМ NaCl, 0,05% Brij-35.

Развести ркMMP9 буфером для анализа до ~ 100 мкг/мл (25 мкл чMMP9+75 мкл буфера для анализа).

Добавить ацетат *p*-аминофенилртути (APMA) из 100 мМ стокового раствора в ДМСО до конечной концентрации 1 мМ (от 1 мкл до 100 мкл).

Инкубировать при 37°C в течение 24 ч.

Развести MMP9 до 10 нг/мкл (добавьте 900 мкл буфера для анализа к 100 мкл активированного раствора).

Концентрация активированной ркMMP9 составляет ~100 нМ.

Расщепление конструкций для анализов TDCC.

Для разрезания конструкций 100 мкл образца белка в концентрации 1 мг/мл (10,5 мкМ) в буфере для приготовления препарата (25 мМ лимонная кислота, 75 мМ L-аргинин, 75 мМ NaCl, 4% сахароза) снабжали CaCl₂ до 10 мМ. Активированный ркMMP9 добавляли до концентрации 20-35 нМ. Образец инкубировали при комнатной температуре в течение ночи (16-20 ч). Полноту разрезания подтверждали с применением SDS PAGE (10-20% TG, рабочий буфер TG, 200 В, 1 час). Образцы обычно расщеплялись на 98%.

Пример 2. Анализы на Т-клеточно зависимую цитотоксичность (TDCC).

Клетки HT-29, трансформированные люциферазой светлячка, выращивали до приблизительно 80% слияния и отделяли с помощью Versene (0,48 мМ ЭДТА в PBS-Ca-Mg). Клетки центрифугировали и ресуспендировали в среде TDCC (5% инактивированной нагреванием FBS в RPMI 1640 с HEPES, GlutaMax, пируватом натрия, несущественными аминокислотами и β-меркаптоэтанолом). Очищенную общую популяцию Т клеток человека оттаивали, центрифугировали и ресуспендировали в среде TDCC.

Совместную культуру клеток HT-29_Luc и Т-клеток добавляли в 384-луночные планшеты для культивирования клеток. Затем к кокультуре добавляли серийно разведенные COBRA и инкубировали при 37°C в течение 48 ч. Наконец, в планшеты добавляли равный объем реагента для анализа люциферазы SteadyGlo и инкубировали в течение 20 минут. Планшеты считывали на Perkin Elmer Envision со временем экспозиции 0,1 с/лунку. Общая люминесценция была зарегистрирована, и данные были проанализированы на GraphPad Prism 7.

Пример 3. Разработка общего протокола модели эффективности переноса Т-клеток *in vivo*.

Данные протоколы использовались во многих экспериментах представленных на фигурах. Опухолевые клетки имплантировали подкожно (ПК) в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid

И2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, Cat. No. 005557) и давали возможность расти до достижения развитой опухоли со средним объемом около 200 мм³. Параллельно человеческие Т-клетки культивировали в среде для Т-клеток (X-VIVO 15 [Lonza, кат. № 04-418Q], 5% сыворотки человека, 1% пенициллин/стрептомицин, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанол) в G -Rex100М газопроницаемой колбе (Wilson Wolf, кат. № 81100S) с MACSiBeads из набора активации/размножения Т-клеток (Miltenyi, кат. № 130-091-441) в течение примерно 10 дней и с добавлением рекомбинантного белка IL-2 человека. Рост опухоли у мышей и активация/размножение Т-клеток человека были скоординированы таким образом, что в день 0 исследуемых мышей рандомизировали в группы (N=6) на основании размера опухоли; затем каждому вводили внутривенно (в/в) 2,5×10⁶ культивируемых человеческих Т-клеток и вводили первую дозу COBRA или контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 дня по 7 доз (дни 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем следили еще 2-3 недели, пока опухоли не достигли > 2000 мм³ в объеме или исследование не было прекращено. Объем опухолей измеряли каждые 3 дня.

Пример 4. In Vivo Активность с парой EGFR/MMP9 Hemi-COBRA Pro77 и Pro53.

5×10⁶ клеток LoVo или 5×10⁶ клеток HT29 имплантировали подкожно в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid И2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, Cat. No. 005557) и позволили расти, пока опухоли не были установлены. Параллельно человеческие Т-клетки культивировали в среде Т-клеток (X-VIVO 15 [Lonza, кат. № 04-418Q], 5% сыворотки человека, 1% пенициллин/стрептомицин, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанол) в G -Rex100М газопроницаемой колбе (Wilson Wolf, кат. № 81100S) с MACSiBeads из набора активации/размножения Т-клеток (Miltenyi, кат. № 130-091-441) в течение 10 дней и дополненная рекомбинантным белком IL-2 человека. Рост опухоли у мышей и активация/размножение Т-клеток человека были скоординированы таким образом, что в день 0 исследуемых мышей рандомизировали в группы (N=6) на основании размера опухоли; затем каждой вводили внутривенно (в/в) 2,5×10⁶ культивируемых человеческих Т-клеток и вводили первую дозу COBRA или контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 дня по 7 доз (дни 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем следили до тех пор, пока объем опухолей не достигнет > 2000 мм³ или исследование не было прекращено. Группы получали 0,2 мг/кг (мнк) анти-EGFR x CD3-положительного контроля Pro51-биспецифичного антитела (bsAb), 0,5 мг/кг анти-лизоцима куриного яйца (HEL) x CD3 bsAb Pro98, 0,5 мнк каждого из, содержащих MMP9 разрезаемый линкер, пары Pro77 и Pro53 анти-EGFR hemi-COBRA, или 0,5 мкл каждого из, содержащего неразрезаемый линкер (НРЛ), пары Pro74 и Pro72 анти-EGFR hemi-COBRA. Объем опухолей измеряли каждые 3 дня.

Пример 5. In Vivo Активность с EGFR/MMP9 COBRA Pro140.

5×10⁶ клеток LoVo или 5×10⁶ клеток HT29 имплантировали подкожно в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid И2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, Cat. No. 005557) и позволили расти, пока опухоли не были развиты. Параллельно человеческие Т-клетки культивировали в Т-клеточных средах (X-VIVO 15 [Lonza, Кат. № 04-418Q], 5% человеческой сыворотки, 1% пенициллин/стрептомицин, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанол) в G -Rex100М газопроницаемой колбе (Wilson Wolf, кат. № 81100S) с MACSiBeads из набора активации/размножения Т-клеток (Miltenyi, кат. № 130-091-441) в течение 10 дней и добавлением рекомбинантного белка IL-2 человека. Рост опухоли у мышей и активация/размножение Т-клеток человека были скоординированы таким образом, что в день 0 исследуемых мышей рандомизировали в группы (N=6) на основании размера опухоли; затем каждой вводили внутривенно (в/в) 2,5×10⁶ культивируемых человеческих Т-клеток и вводили первую дозу COBRA или контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 дня по 7 доз (дни 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем наблюдали до тех пор, пока объем опухолей не достигнет >2000 мм³ или пока исследование не было прекращено. Группы получали 0,2 мнк биспецифичного антитела (bsAb) Pro51 против EGFR x CD3, 0,5 мнк анти-лизоцима куриного яйца (HEL) x CD3 bsAb Pro98 или 0,5 мнк, содержащего разрезаемый линкер, MMP9, EGFR COBRA Pro140. Объем опухолей измеряли каждые 3 дня.

Пример 6. In Vivo Активность с EGFR/MMP9 COBRA Pro186.

5×10⁶ клеток HT29 имплантировали подкожно в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid И2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, Cat. No. 005557) и позволяли расти до образования опухолей. Параллельно человеческие Т-клетки культивируют в Т-клеточной среде (X-VIVO 15 [Lonza, Кат. № 04-418Q], 5% человеческой сыворотки, 1% пенициллин/стрептомицин, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанол) в G -Rex100М газопроницаемой колбе (Wilson Wolf, кат. № 81100S) с MACSiBeads из набора активации/размножения Т-клеток (Miltenyi, кат. № 130-091-441) в течение 10 дней и добавляли рекомбинантный белок IL-2 человека. Рост опухоли у мышей и активация/размножение Т-клеток человека были скоординированы таким образом, что в день 0 исследуемых мышей рандомизировали в группы (N=6) на основании размера опухоли; затем каждому вводили внутривенно (в/в) 2,5×10⁶ культивируемых человеческих Т-клеток и вводили первую дозу COBRA или контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 дня по 7 доз (дни 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем следили до тех пор, пока объем опухолей не достигнет >2000 мм³ или исследование не было прекращено. Группы получали 0,1 мг/кг (мнк) биспецифичного антитела (bsAb) положительного контроля анти-EGFR x CD3 Pro51, 0,3 мнк, содержащего неразрезаемый линкер (НРЛ), контрольного анти-EGFR COBRA Pro214, 0,1 или 0,3 мнк, содержащего разрезаемый MMP9 линкер, анти-EGFR COBRA Pro140, или 0,1 или 0,3 мнк, содержащего разрезаемый MMP9

линкер, анти-EGFR COBRA Pro186. Объем опухолей измеряли каждые 3 дня.

Пример. Успешная гуманизация последовательностей против EGFR.

Результаты продемонстрированы ниже.

Молекула	КД (M)	Kon (1/Mc)	Kdis (1/c)
Pro22 (родительский EGFR)	2,58E-09M/2,6 нМ	2,05E+05	5,27E-04
Pro90 (hEGFR1)	2,00E-09M/2,0 нМ	2,21E+05	4,40E-04
Pro48 (EGFR2)	2,89E-09M/2,9 нМ	6,09E+05	1,76E-03
Pro137 (hEGFR2)	4,36E-09M/4,4 нМ	5,85E+05	2,55E-03
Pro51 (hEGFR2)	3,27E-09M/3,2 нМ	6,45E+05	2,11E-03
Pro201 (hEGFR2 с 2 сайтами связывания)	2,25E-12M/2,3 пМ	1,55E+06	3,48E-06

Данные результаты демонстрируют, что гуманизация доменов, связывающих EGFR, была успешной и что существует сильная авидность к EGFR-мишени, когда два сайта связывания находятся на молекуле.

Пример. Успешная гуманизация ЕрСАМ одАСД.

Результаты продемонстрированы ниже.

Клон	Аффинность связывания молекулы человека (нМ)	Аффинность связывания молекулы яванского макака (нМ)	перекрестная реактивность яванский макак/человек
VIB-13	2,3	11,6	5
hVIB-13	2,8	12,7	4,5
VIB-23	4,2	46,7	11,1
hVIB-23	4,1	58,8	12,6

Данные результаты демонстрируют, что гуманизация доменов связывания ЕрСАМ была успешной.

Перечень последовательностей

<110> MAVERICK THERAPEUTICS, INC.

<120> ОГРАНИЧЕННЫЕ УСЛОВНО АКТИВИРУЕМЫЕ СВЯЗУЮЩИЕ БЕЛКИ

<130> 118459-5005

<150> 62/555, 943

<151> 2017-09-08

<150> 62/586, 627

<151> 2017-11-15

<150> 62/587, 318

<151> 2017-11-16

<160> 272

<170> PatentIn версия 3.5

<210> 1

<211> 127

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR1

045012

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Asn Trp Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Tyr Gln Ile Asn Ser Gly Asn Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr
100 105 110

Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 2

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR1

<400> 2

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1. 5 10

<210> 3

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR1

<400> 3

Ile Asn Trp Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1. 5 10 15

045012

<210> 4
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический sdCDR3 - Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR1

<400> 4

Gly Tyr Gln Ile Asn Ser Gly Asn Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr Glu Tyr
1. 5 10 15

Asp Tyr

<210> 5
<211> 124
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR2

<400> 5

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 6
<211> 10

045012

<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR2
<400> 6

Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met Gly
1. 5 10

<210> 7
<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR2
<400> 7

Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1. 5 10 15

Gly

<210> 8
<211> 15
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-EGFR2
<400> 8

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr
1. 5 10 15

<210> 9
<211> 127
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR1

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

045012

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Asn Trp Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Tyr Gln Ile Asn Ser Gly Asn Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr
100 105 110

Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 10

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR1

<400> 10

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1. 5 10

<210> 11

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR1

<400> 11

Ile Asn Trp Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1. 5 10 15

<210> 12

<211> 18

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR1

<400> 12

Gly Tyr Gln Ile Asn Ser Gly Asn Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr Glu Tyr

045012

1. 5 10 15

Asp Tyr

<210> 13

<211> 124

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR2

<400> 13

Gln Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 14

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR2

<400> 14

Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met Gly
1. 5 10

<210> 15
 <211> 17
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR2

<400> 15

Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1. 5 10 15

Gly

<210> 16
 <211> 15
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - ч-альфа-EGFR2

<400> 16

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr
 1. 5 10 15

<210> 17
 <211> 114
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1
 h77-2

<400> 17

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Asn Ser
 20 25 30

Val Met Ala Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Ile Ile Asn Ser Ile Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

045012

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn
85 90 95

Arg Asn Phe Asp Arg Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 18

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h77-2

<400> 18

Gly Phe Thr Val Ser Asn Ser Val Met Ala
1. 5 10

<210> 19

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h77-2

<400> 19

Ile Ile Asn Ser Ile Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1. 5 10 15

<210> 20

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h77-2

<400> 20

Asn Phe Asp Arg Ile Tyr
1. 5

<210> 21

<211> 113

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-

045012

FOLR1

h59.3

<400> 21

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Pro Gly Asn Thr Phe Ser Ile Ser
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Thr His Ser Asp Tyr Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

His Tyr Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 22

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h59.3

<400> 22

Gly Asn Thr Phe Ser Ile Ser Ala Met Gly
1. 5 10

<210> 23

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h59.3

<400> 23

Val Thr His Ser Asp Tyr Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1. 5 10 15

045012

<210> 24
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h59.3

<400> 24

Tyr Gly Ile Asp Tyr
 1. 5

<210> 25
 <211> 117
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1
 h22-4

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Thr Thr Phe Ser Arg Asp
 20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
 35 40 45

Ala Ile Ile Ser Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
 85 90 95

Ala Asn Thr Ala Thr Trp Gly Arg Val Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 26
 <211> 10
 <212> Белок

045012

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h22-4

<400> 26

Gly Thr Thr Phe Ser Arg Asp Val Met Gly
1. 5 10

<210> 27

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h22-4

<400> 27

Ile Ile Ser Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1. 5 10 15

<210> 28

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-FOLR1 h22-4

<400> 28

Asn Thr Ala Thr Trp Gly Arg Val Phe
1. 5

<210> 29

<211> 124

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-
B7H3
hF7

<400> 29

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Pro Ser Arg Arg Thr Phe His Thr Tyr
20 25 30

His Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

045012

Ala Val Ile Asn Trp Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Gly Ala Thr Thr Gln Arg Ala Thr Glu Ala Ser Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-B7H3 hF7

<400> 30

Arg Arg Thr Phe His Thr Tyr His Met Gly
1. 5 10

<210> 31

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-B7H3 hF7

<400> 31

Val Ile Asn Trp Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1. 5 10 15

Gly

<210> 32

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-B7H3 hF7

<400> 32

Gly Gly Ala Thr Thr Gln Arg Ala Thr Glu Ala Ser Tyr Asp Tyr

045012

1. 5 10 15

<210> 33
 <211> 122
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-
 В7Н3
 hF12

<400> 33

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Pro Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ser Phe Val
 35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Ser Gly Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ala Gly Gly Val Leu Ala His His Asn Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 34
 <211> 10
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-В7Н3 hF12

<400> 34

Pro Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Ser Met Ala
 1. 5 10

<210> 35
 <211> 17

045012

<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-B7H3 hF12

<400> 35

Ala Ile Asn Trp Ser Gly Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1. 5 10 15

Gly

<210> 36
<211> 13
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-B7H3 hF12

<400> 36

Gly Gly Val Leu Ala His His Asn Tyr Glu Tyr Asp Tyr
1. 5 10

<210> 37
<211> 122
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-
EрCAM
h13

<400> 37

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Thr Gly Ser Ile Phe Ser
20 25 30

Ile Asn Leu Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

Leu Val Ala Arg Ile Thr Ser Gly Asp Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser
50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

045012

85

90

95

Cys Asn Leu Leu Leu Arg Ser Ser Pro Gly Ala Thr Thr Pro Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 38

<211> 12

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-ЕрСAM h13

<400> 38

Gly Thr Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn Leu Met Gly
1. 5 10

<210> 39

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-ЕрСAM h13

<400> 39

Arg Ile Thr Ser Gly Asp Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1. 5 10 15

<210> 40

<211> 12

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-ЕрСAM h13

<400> 40

Leu Leu Arg Ser Ser Pro Gly Ala Thr Thr Pro Tyr
1. 5 10

<210> 41

<211> 122

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен -Нацеливающие sdAb - альфа-ЕрСAM h23

045012

<400> 41

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Thr Gly Ser Ile Phe Ser
20 25 30

Ile Asn Leu Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

Leu Val Ala Arg Ile Thr Ser Gly Asp Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser
50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Asn Leu Leu Leu Arg Ser Ser Pro Gly Ala Thr Thr Pro Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR1 -Нацеливающие sdAb - альфа-ЕрСAM h23

<400> 42

Gly Ser Phe Ser Ala Leu Trp Ala Met Arg
1. 5 10

<210> 43

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 -Нацеливающие sdAb - альфа-ЕрСAM h23

<400> 43

Ser Ser Arg Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1. 5 10 15

<210> 44

045012

<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический sdCDR3 -Нацеливающие sdAb - альфа-ЕpCAM h23

<400> 44

Ile Asp Gly His Leu Ala Tyr
1. 5

<210> 45
<211> 115
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-ЧСА продления периода полураспада домен

<400> 45

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 46
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>

045012

<223> Синтетический sdCDR1 - альфа-ЧСА продления периода полураспада домен

<400> 46

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser
1. 5 10

<210> 47

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR2 - альфа-ЧСА продления периода полураспада домен

<400> 47

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1. 5 10 15

Gly

<210> 48

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический sdCDR3 - альфа-ЧСА продления периода полураспада домен

<400> 48

Gly Gly Ser Leu Ser Val
1. 5

<210> 49

<211> 109

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-CD3 scFv домен -
альфа-CD3V(L)

<400> 49

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
20 25 30

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

045012

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 50

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический aVLCDR1 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(L)

<400> 50

Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1. 5 10

<210> 51

<211> 7

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический aVLsdCDR2 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(L)

<400> 51

Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro
1. 5

<210> 52

<211> 9

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический aVLsdCDR3 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(L)

<400> 52

Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1. 5

<210> 53

<211> 110

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

045012

<220>

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-CD3 scFv домен - альфа-CD3V(Li)

<400> 53

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
20 25 30

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg
50 55 60

Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly
65 70 75 80

Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser
85 90 95

Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 54

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический iVLCDR1 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Li)

<400> 54

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1. 5 10

<210> 55

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический iVLsdCDR2 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Li)

<400> 55

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1. 5

<210> 56

045012

<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический iVLsdCDR3 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Li)

<400> 56

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1. 5

<210> 57
<211> 109
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-CD3 scFv домен -
альфа-CD3V(Li2)

<400> 57

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
20 25 30

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Asp Asp Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 58
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический iVLCDR1 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Li2)

<400> 58

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn

1. 5 10

<210> 59
 <211> 7
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический iVLCDR2 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Li2)
 <400> 59

Gly Thr Lys Asp Asp Ala Pro
 1. 5

<210> 60
 <211> 9
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический iVLCDR3 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Li2)
 <400> 60

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
 1. 5

<210> 61
 <211> 125
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-CD3 scFv домен -
 альфа-CD3V(H)
 <400> 61

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 20 25 30

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
 50 55 60

Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

045012

85

90

95

Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 62

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический aVHCDR1 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(H)

<400> 62

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn
1. 5 10

<210> 63

<211> 19

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический aVHsdCDR2 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(H)

<400> 63

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Gln
1. 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 64

<211> 14

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический aVHsdCDR3 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(H)

<400> 64

His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1. 5 10

<210> 65

<211> 126

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

045012

<223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-CD3 scFv домен - альфа-CD3V(Hi)

<400> 65

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala
50 55 60

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
65 70 75 80

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
100 105 110

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 66

<211> 10

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический iVHsdCDR1 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Hi)

<400> 66

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn
1. 5 10

<210> 67

<211> 20

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический iVHsdCDR2 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Hi)

<400> 67

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp
1. 5 10 15

045012

Ser Val Lys Asp
20

<210> 68
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический iVHsdCDR3 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Hi)

<400> 68

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1. 5 10

<210> 69
<211> 125
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-CD3 scFv домен -
альфа-CD3V(Hi2)

<400> 69

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys His
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

045012

<210> 70
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический iVHsdCDR1 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Hi2)

<400> 70

Gly Phe Thr Phe Asn Lys His Ala Met Asn
1. 5 10

<210> 71
<211> 19
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический iVHsdCDR2 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Hi2)

<400> 71

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Ala Tyr Ala Asp Ser
1. 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 72
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический iVHsdCDR3 - альфа CD3 scFV домен - альфа-CD3 V(Hi2)

<400> 72

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1. 5 10

<210> 73
<211> 15
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический линкер - альфа-CD3 scFV - Нормальный, неразрезаемый

<400> 73

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 74
<211> 8
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический линкер - альфа-CD3 scFV - Ограниченный

<400> 74

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1. 5

<210> 75

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - MMP 2/9

<400> 75

Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu

1. 5

<210> 76

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - MMP 2/9

<400> 76

Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser

1. 5

10

15

<210> 77

<211> 17

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - MMP 2/9

<400> 77

Ser Gly Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Gly

1. 5

10

15

Ser

<210> 78

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

045012

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Меприн А/В

<400> 78

Gly Gly Gly Gly Lys Lys Leu Ala Asp Glu Pro Glu Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 79

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Меприн А/В

<400> 79

Lys Lys Leu Ala Asp Glu Pro Glu
1. 5

<210> 80

<211> 13

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Меприн А/В (Вариант, высоко эффективный)

<400> 80

Gly Gly Gly Lys Phe Leu Ala Asp Glu Pro Glu Gly Gly
1. 5 10

<210> 81

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Катепсин S, K, L

<400> 81

Ser Gly Gly Gly Ala Arg Leu Gln Ser Ala Ala Pro Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 82

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Катепсин S, K, L

<400> 82

Ala Arg Leu Gln Ser Ala Ala Pro
1. 5

045012

<210> 83
<211> 18
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - Меприн/Гранзим В

<400> 83

Ser Gly Gly Gly Gly Val Tyr Ala Asp Ser Leu Glu Asp Gly Gly Gly
1. 5 10 15

Gly Ser

<210> 84
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - Меприн/Гранзим В

<400> 84

Gly Val Tyr Ala Asp Ser Leu Glu Asp Gly
1. 5 10

<210> 85
<211> 16
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - Матриптаза/УАП (MS)

<400> 85

Gly Gly Gly Ser Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 86
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - Матриптаза/УАП (MS)

<400> 86

Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly
1. 5 10

<210> 87

045012

<211> 17
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - Матриптаза (MV)

<400> 87

Ser Gly Gly Gly Ser Phe Thr Arg Gln Ala Arg Val Val Gly Gly Gly
1. 5 10 15

Ser

<210> 88
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - Матриптаза (MV)

<400> 88

Ser Phe Thr Arg Gln Ala Arg Val Val
1. 5

<210> 89
<211> 14
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - Катепсин S/MMP9/Меприн А

<400> 89

Ala Arg Leu Gln Ser Ala Ala Pro Ala Gly Leu Lys Gly Ala
1. 5 10

<210> 90
<211> 13
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - MMP9 (Вариант, высоко эффектив-
ный)

<400> 90

Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met His Gly Leu Pro Gly
1. 5 10

<210> 91
<211> 13
<212> Белок

045012

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - MMP9 (Вариант, низко эффективный)

<400> 91

Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Glu Gly Leu Pro Gly
1. 5 10

<210> 92

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Тромбин 1

<400> 92

Gly Gly Gly Gly Leu Val Pro Arg Gly Ser Leu Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 93

<211> 15

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Тромбин 2

<400> 93

Ser Ser Gly Gly Gly Met Pro Arg Ser Phe Arg Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 94

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - Энтерокиназа/Flag

<400> 94

Gly Gly Gly Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 95

<211> 16

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический разрезаемый линкер - KLK7-6

<400> 95

045012

Ser Gly Gly Gly Gln Asn Pro Tyr Ser Ala Gly Arg Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 96
<211> 16
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - KLK7-13

<400> 96

Ser Gly Gly Gly Gln Asn Pro Tyr Ser Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1. 5 10 15

<210> 97
<211> 16
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - KLK7-11

<400> 97

Ser Gly Gly Gly Arg Asn Val Tyr Ser Ala Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1. 5 10 15

<210> 98
<211> 16
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - KLK7-10

<400> 98

Ser Gly Gly Gly Gln Asn Thr Trp Ser Ala Gly Lys Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 99
<211> 16
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический разрезаемый линкер - УАП

<400> 99

Gly Gly Gly Ser His Thr Gly Arg Ser Ala Tyr Phe Gly Gly Gly Ser
1. 5 10 15

<210> 100
<211> 8
<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP7

<400> 100

Lys Arg Ala Leu Gly Leu Pro Gly

1. 5

<210> 101

<211> 24

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP7

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(8)

<223> X can be Asp или Glu

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(24)

<223> X can be Asp или Arg

<400> 101

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser

1. 5

10

15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20

<210> 102

<211> 8

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP9

<400> 102

Pro Arg Ser Thr Leu Ile Ser Thr

1. 5

<210> 103

<211> 5

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP9

<400> 103

Leu Glu Ala Thr Ala
1. 5

<210> 104
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP11

<400> 104

Gly Gly Ala Ala Asn Leu Val Arg Gly Gly
1. 5 10

<210> 105
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP14

<400> 105

Ser Gly Arg Ile Gly Phe Leu Arg Thr Ala
1. 5 10

<210> 106
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP

<400> 106

Pro Leu Gly Leu Ala Gly
1. 5

<210> 107
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Хаа может быть любой встречающейся в природе аминокислотой

<400> 107

Pro Leu Gly Leu Ala Xaa
1. 5

<210> 108
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> X can be Met или Glu

<400> 108

Pro Leu Gly Cys Xaa Ala Gly
1. 5

<210> 109
<211> 8
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP

<400> 109

Glu Ser Pro Ala Tyr Tyr Thr Ala
1. 5

<210> 110
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP

<400> 110

Arg Leu Gln Leu Lys Leu
1. 5

<210> 111
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP

<400> 111

Arg Leu Gln Leu Lys Ala Cys

1. 5

<210> 112
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - MMP2, MMP9, MMP14

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(3)
<223> X can be Cys или Ile или Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> X can be His или Orn или Phe

<400> 112

Glu Pro Xaa Gly Xaa Tyr Leu
1. 5

<210> 113
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Урокиназный активатор плазминогена (УАП)

<400> 113

Ser Gly Arg Ser Ala
1. 5

<210> 114
<211> 4
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Урокиназный активатор плазминогена (УАП)

<400> 114

Asp Ala Phe Lys
1

<210> 115
<211> 5
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Урокиназный активатор
плазминогена (УАП)

<400> 115

Gly Gly Gly Arg Arg
1. 5

<210> 116
<211> 4
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Лизосомальный фермент

<400> 116

Gly Phe Leu Gly
1

<210> 117
<211> 4
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Лизосомальный фермент

<400> 117

Ala Leu Ala Leu
1

<210> 118
<211> 2
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Лизосомальный фермент

<400> 118

Phe Lys
1

<210> 119
<211> 3
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Катепсин В

<400> 119

Asn Leu Leu

1

<210> 120
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Катепсин D

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> X can be Glu или Thr

<400> 120

Pro Ile Cys Xaa Phe Phe
1. 5

<210> 121
<211> 8
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Катепсин K

<400> 121

Gly Gly Pro Arg Gly Leu Pro Gly
1. 5

<210> 122
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Простатспецифический анти-
ген

<400> 122

His Ser Ser Lys Leu Gln
1. 5

<210> 123
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Простатспецифический анти-
ген

<400> 123

His Ser Ser Lys Leu Gln Leu
1. 5

<210> 124
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Простатспецифический анти-
ген

<400> 124

His Ser Ser Lys Leu Gln Glu Asp Ala
1. 5

<210> 125
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Herpes simplex virus
protease

<400> 125

Leu Val Leu Ala Ser Ser Ser Phe Gly Tyr
1. 5 10

<210> 126
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - протеаза ВИЧ

<400> 126

Gly Val Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gly
1. 5 10

<210> 127
<211> 10
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - протеаза ЦМВ

<400> 127

Gly Val Val Gln Ala Ser Cys Arg Leu Ala
1. 5 10

<210> 128

<211> 4
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Тромбин

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> X can be Pro или Ile или Pro

<400> 128

Phe Xaa Arg Ser
 1

<210> 129
 <211> 6
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Тромбин

<400> 129

Asp Pro Arg Ser Phe Leu
 1. 5

<210> 130
 <211> 6
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Тромбин

<400> 130

Pro Pro Arg Ser Phe Leu
 1. 5

<210> 131
 <211> 4
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Каспаза-3

<400> 131

Asp Glu Val Asp
 1

<210> 132
 <211> 5

<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Каспаза-3

<400> 132

Asp Glu Val Asp Pro
1. 5

<210> 133
<211> 8
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Каспаза-3

<400> 133

Lys Gly Ser Gly Asp Val Glu Gly
1. 5

<210> 134
<211> 6
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Интерлейкин-1-бета конвер-
тирующий
фермент

<400> 134

Gly Trp Glu His Asp Gly
1. 5

<210> 135
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Энтерокиназа

<400> 135

Glu Asp Asp Asp Asp Lys Ala
1. 5

<210> 136
<211> 9
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Фар

<400> 136

Lys Gln Glu Gln Asn Pro Gly Ser Thr

1. 5

<210> 137

<211> 6

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Калликреин 2

<400> 137

Gly Lys Ala Phe Arg Arg

1. 5

<210> 138

<211> 4

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Плазмин

<400> 138

Asp Ala Phe Lys

1

<210> 139

<211> 4

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Плазмин

<400> 139

Asp Val Leu Lys

1

<210> 140

<211> 4

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Плазмин

<400> 140

Asp Ala Phe Lys

1

045012

<210> 141
<211> 7
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический сайт разрезания протеазой - Top

<400> 141

Ala Leu Leu Leu Ala Leu Leu
1. 5

<210> 142
<211> 121
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетический антигенсвязывающий домен - альфа-ЧСА продления периода
полураспада
домен

<400> 142

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser His His His His His His
115 120

<210> 143
<211> 889
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

045012

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro140 Формат 1

<400> 143

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

045012

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
370 375 380

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp

045012

485 490 495
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro
 500 505 510
 Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 515 520 525
 Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
 530 535 540
 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 545 550 555 560
 Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp
 565 570 575
 Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
 580 585 590
 Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala
 595 600 605
 Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly
 610 615 620
 Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu
 625 630 635 640
 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
 645 650 655
 Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala
 660 665 670
 Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 675 680 685
 Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp
 690 695 700
 Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
 705 710 715 720
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 725 730 735

045012

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
740 745 750

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
755 760 765

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
770 775 780

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
785 790 795 800

Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
805 810 815

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr
820 825 830

Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
835 840 845

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
850 855 860

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser
865 870 875 880

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
885

<210> 144

<211> 890

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro140b Формат 1

<400> 144

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val

045012

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
 450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Lys Lys
 500 505 510

Leu Ala Asp Glu Pro Glu Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln
 515 520 525

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
 530 535 540

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
 545 550 555 560

045012

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys
 565 570 575

Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
 580 585 590

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu
 595 600 605

Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly
 610 615 620

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 625 630 635 640

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 645 650 655

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 660 665 670

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 675 680 685

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala
 690 695 700

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
 705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
 725 730 735

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
 740 745 750

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 755 760 765

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 770 775 780

Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 785 790 795 800

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
 805 810 815

045012

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
820 825 830

Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
835 840 845

Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
850 855 860

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser
865 870 875 880

Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
885 890

<210> 145

<211> 889

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro186 Формат 2

<400> 145

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

045012

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
370 375 380

045012

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
 450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro
 500 505 510

Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 515 520 525

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
 530 535 540

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 545 550 555 560

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp
 565 570 575

Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
 580 585 590

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala
 595 600 605

Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly
 610 615 620

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu

045012

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
885

<210> 146

<211> 890

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro187 Формат 2

<400> 146

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp

045012

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Lys Lys
500 505 510

Leu Ala Asp Glu Pro Glu Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln
515 520 525

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
530 535 540

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
545 550 555 560

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys
565 570 575

Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
580 585 590

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu
595 600 605

Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly
610 615 620

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
625 630 635 640

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
645 650 655

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
660 665 670

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
675 680 685

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala
690 695 700

045012

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
725 730 735

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
740 745 750

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
755 760 765

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
770 775 780

Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
785 790 795 800

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
805 810 815

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
820 825 830

Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
835 840 845

Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
850 855 860

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser
865 870 875 880

Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
885 890

<210> 147

<211> 895

<212> Блок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro225 (FL aB7H3 hF7 MMP9 линкер) Формат 2

<400> 147

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

045012

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Pro Ser Arg Arg Thr Phe His Thr Tyr
20 25 30

His Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Asn Trp Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Gly Ala Thr Thr Gln Arg Ala Thr Glu Ala Ser Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

045012

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
 275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400

Arg Leu Ser Cys Ala Pro Ser Arg Arg Thr Phe His Thr Tyr His Met
 405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Val
 420 425 430

Ile Asn Trp Ser Gly Gly Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 450 455 460

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480

Gly Gly Ala Thr Thr Gln Arg Ala Thr Glu Ala Ser Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro
 500 505 510

Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu

045012

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 770 775 780

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 785 790 795 800

Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 805 810 815

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr
 820 825 830

Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 835 840 845

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 850 855 860

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser
 865 870 875 880

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
 885 890 895

<210> 148

<211> 891

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro226 (FL aB7H3 hF12 MMP9 линкер) Формат 2

<400> 148

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Pro Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ser Phe Val
 35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Ser Gly Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

045012

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Gly Val Leu Ala His His Asn Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
130 135 140

Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn
145 150 155 160

Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
180 185 190

Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
195 200 205

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser
225 230 235 240

Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser
260 265 270

Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser
275 280 285

Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys
290 295 300

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val
305 310 315 320

Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala
325 330 335

045012

Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr
340 345 350

Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
355 360 365

Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
370 375 380

Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
385 390 395 400

Ser Cys Glu Ala Ser Pro Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Ser Met Ala Trp
405 410 415

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ser Phe Val Ala Ala Ile Asn
420 425 430

Trp Ser Gly Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
435 440 445

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
450 455 460

Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Gly
465 470 475 480

Val Leu Ala His His Asn Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
485 490 495

Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys
500 505 510

Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
515 520 525

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
530 535 540

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
545 550 555 560

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
565 570 575

Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala
580 585 590

045012

Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys
 595 600 605

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 610 615 620

Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
 625 630 635 640

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser
 645 650 655

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val
 660 665 670

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser
 675 680 685

Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp Ser Val Lys Asp
 690 695 700

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 705 710 715 720

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
 725 730 735

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
 740 745 750

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 755 760 765

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 770 775 780

Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
 785 790 795 800

Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 805 810 815

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu
 820 825 830

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr

045012

835

840

845

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
850 855 860

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu
865 870 875 880

Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
885 890

<210> 149

<211> 895

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro233 (гуманизированный Pro186) Формат
2

<400> 149

Gln Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr

045012

Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
450 455 460

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala
465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
485 490 495

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro
500 505 510

Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
515 520 525

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
530 535 540

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
545 550 555 560

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp
565 570 575

Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
580 585 590

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala
595 600 605

Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly
610 615 620

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu
625 630 635 640

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
645 650 655

045012

Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala
660 665 670

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
675 680 685

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp
690 695 700

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
705 710 715 720

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
725 730 735

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
740 745 750

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
755 760 765

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
770 775 780

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
785 790 795 800

Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
805 810 815

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr
820 825 830

Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
835 840 845

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
850 855 860

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser
865 870 875 880

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
885 890 895

<210> 150

<211> 875

045012

<212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетическая конструкция - Pro311 (FL aFOLR1 h77.2 MMP9 линкер)
 Формат
 2

 <400> 150

 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Asn Ser
 20 25 30

 Val Met Ala Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

 Ala Ile Ile Asn Ser Ile Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn
 85 90 95

 Arg Asn Phe Asp Arg Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110

 Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 115 120 125

 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys
 130 135 140

 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg
 145 150 155 160

 Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys
 165 170 175

 Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe
 180 185 190

 Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn
 195 200 205

 Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala

045012

Tyr Val Cys Asn Arg Asn Phe Asp Arg Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 465 470 475 480
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys
 485 490 495
 Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
 500 505 510
 Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
 515 520 525
 Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
 530 535 540
 Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 545 550 555 560 565
 Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala
 565 570 575
 Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys
 580 585 590
 Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 595 600 605
 Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
 610 615 620
 Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser
 625 630 635 640
 Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val
 645 650 655
 Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser
 660 665 670
 Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp Ser Val Lys Asp
 675 680 685
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
 690 695 700
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
 705 710 715 720

045012

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
 725 730 735

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 740 745 750

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 755 760 765

Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
 770 775 780

Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 785 790 795 800

Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu
 805 810 815

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr
 820 825 830

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 835 840 845

Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu
 850 855 860

Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
 865 870 875

<210> 151

<211> 873

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro312 (FL aFOLR1 h59.3 MMP9 линкер)

<400> 151

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Pro Gly Asn Thr Phe Ser Ile Ser
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Trp Val
 35 40 45

045012

Ala Val Thr His Ser Asp Tyr Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys
85 90 95

His Tyr Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
130 135 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln
145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn
210 215 220

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr
245 250 255

Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val
260 265 270

Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr
275 280 285

Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile
290 295 300

045012

Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 305 310 315 320

Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro
 325 330 335

Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp
 340 345 350

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly
 355 360 365

Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 370 375 380

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Pro Gly Asn Thr Phe
 385 390 395 400

Ser Ile Ser Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg
 405 410 415

Glu Trp Val Ala Val Thr His Ser Asp Tyr Ser Thr Asn Tyr Ala Asp
 420 425 430

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 435 440 445

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 450 455 460

Tyr Cys Lys His Tyr Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 465 470 475 480

Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu
 485 490 495

Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser
 500 505 510

Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val
 515 520 525

Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
 530 535 540

Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr
 545 550 555 560

045012

Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr
565 570 575

Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu
580 585 590

Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val
595 600 605

Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
610 615 620

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
625 630 635 640

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
645 650 655

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
660 665 670

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe
675 680 685

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn
690 695 700

Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly
705 710 715 720

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
725 730 735

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
755 760 765

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe
770 775 780

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
785 790 795 800

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val

045012

805 810 815

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
820 825 830

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
835 840 845

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
850 855 860

Val Ser Ser His His His His His His
865 870

<210> 152
<211> 881
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция - Pro313 (FL aFOLR1 h22.4 MMP9 линкер)
Формат
2

<400> 152

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Thr Thr Phe Ser Arg Asp
20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Ile Ile Ser Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Ala Asn Thr Ala Thr Trp Gly Arg Val Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
115 120 125

045012

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn
145 150 155 160

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
165 170 175

Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys
180 185 190

Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
195 200 205

Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
210 215 220

Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro
260 265 270

Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr
275 280 285

Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
290 295 300

Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala
305 310 315 320

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser
325 330 335

Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr
340 345 350

Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
355 360 365

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
370 375 380

045012

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser
 385 390 395 400

Gly Thr Thr Phe Ser Arg Asp Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro
 405 410 415

Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ile Ile Ser Arg Gly Gly Ser Thr
 420 425 430

Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 435 440 445

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 450 455 460

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Asn Thr Ala Thr Trp Gly Arg Val
 465 470 475 480

Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro
 485 490 495

Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr
 500 505 510

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
 515 520 525

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp
 530 535 540

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr
 545 550 555 560

Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
 565 570 575

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
 580 585 590

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
 595 600 605

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 610 615 620

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 625 630 635 640

045012

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
 645 650 655

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 660 665 670

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
 675 680 685

Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
 690 695 700

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
 705 710 715 720

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser
 725 730 735

Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
 740 745 750

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 755 760 765

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
 770 775 780

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
 785 790 795 800

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg
 805 810 815

Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 820 825 830

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
 835 840 845

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val
 850 855 860

Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His
 865 870 875 880

His

045012

<210> 153
 <211> 898
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция - Pro246 (FL haEGFR1/haEGFR2 гетерологич-
 ный
 COBRA с MMP9 линкер)

<400> 153

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Val Ala Ile Asn Trp Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ala Gly Tyr Gln Ile Asn Ser Gly Asn Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr
 100 105 110

Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
 115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 130 135 140

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 145 150 155 160

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
 165 170 175

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn
 180 185 190

045012

Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
 195 200 205
 Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys
 210 215 220
 Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly
 225 230 235 240
 Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 245 250 255
 Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
 260 265 270
 Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
 275 280 285
 Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
 290 295 300
 Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
 305 310 315 320
 Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
 325 330 335
 Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
 340 345 350
 Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
 355 360 365
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 370 375 380
 Ser Gln Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly
 385 390 395 400
 Gly Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser
 405 410 415
 Tyr Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe
 420 425 430
 Val Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser
 435 440 445

045012

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu
450 455 460

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr
465 470 475 480

Cys Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr
485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly
500 505 510

Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val
515 520 525

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
530 535 540

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
545 550 555 560

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp
565 570 575

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
580 585 590

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
595 600 605

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
610 615 620

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly
625 630 635 640

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
645 650 655

Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn
660 665 670

Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
675 680 685

Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp
690 695 700

045012

Lys Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
705 710 715 720

Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
725 730 735

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile
740 745 750

Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
755 760 765

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
770 775 780

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
785 790 795 800

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
805 810 815

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly
820 825 830

Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
835 840 845

Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
850 855 860

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser
865 870 875 880

Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His
885 890 895

His His

<210> 154

<211> 893

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro256 (FL haEpCAM VIB13/haEGFR1 гетерологичный COBRA MMP9 линкер)

045012

<400> 154

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Thr Gly Ser Ile Phe Ser
20 25 30

Ile Asn Leu Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
35 40 45

Leu Val Ala Arg Ile Thr Ser Gly Asp Ser Thr Val Tyr Ala Asp Ser
50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu
65 70 75 80

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Asn Leu Leu Leu Arg Ser Ser Pro Gly Ala Thr Thr Pro Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
130 135 140

Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn
145 150 155 160

Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175

Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
180 185 190

Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
195 200 205

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser
225 230 235 240

Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly

045012

245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser
 260 265 270
 Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser
 275 280 285
 Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys
 290 295 300
 Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val
 305 310 315 320
 Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala
 325 330 335
 Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr
 340 345 350
 Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
 355 360 365
 Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu
 370 375 380
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly Ser Leu Thr Leu
 385 390 395 400
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met Gly Trp
 405 410 415
 Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly Ile Ser
 420 425 430
 Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 435 440 445
 Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 450 455 460
 Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ala
 465 470 475 480
 Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
 485 490 495

045012

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly
 500 505 510

Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser
 515 520 525

Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser
 530 535 540

Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys
 545 550 555 560

Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
 565 570 575

Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
 580 585 590

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
 595 600 605

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
 610 615 620

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
 625 630 635 640

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
 645 650 655

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn
 660 665 670

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
 675 680 685

Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp Ser Val
 690 695 700

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 705 710 715 720

Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 725 730 735

Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
 740 745 750

045012

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 755 760 765

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 770 775 780

Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 785 790 795 800

Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 805 810 815

Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr
 820 825 830

Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 835 840 845

Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
 850 855 860

Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly
 865 870 875 880

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
 885 890

<210> 155

<211> 885

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro420 (FL aFOLR1 h77.2/haEGFR1
 гетерологичный COBRA MMP9 линкер)

<400> 155

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Asn Ser
 20 25 30

Val Met Ala Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ala Ile Ile Asn Ser Ile Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60

045012

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn
 85 90 95

Arg Asn Phe Asp Arg Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 100 105 110

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys
 130 135 140

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg
 145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys
 165 170 175

Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe
 180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn
 195 200 205

Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala
 210 215 220

Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln
 245 250 255

Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr
 260 265 270

Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn
 275 280 285

Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu
 290 295 300

Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser
 305 310 315 320

045012

Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln
 325 330 335

Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg
 340 345 350

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser
 355 360 365

Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val
 370 375 380

Arg Pro Gly Gly Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
 385 390 395 400

Ser Arg Ser Tyr Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
 405 410 415

Arg Glu Phe Val Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr
 420 425 430

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 435 440 445

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 450 455 460

Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu
 465 470 475 480

Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 485 490 495

Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln
 500 505 510

Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr
 515 520 525

Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn
 530 535 540

Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu
 545 550 555 560

Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe

045012

565 570 575
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
 580 585 590
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
 595 600 605
 Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
 610 615 620
 Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 625 630 635 640
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
 645 650 655
 Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 660 665 670
 Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp
 675 680 685
 Asp Asp Asp Lys Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 690 695 700
 Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr
 705 710 715 720
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 725 730 735
 Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 740 745 750
 Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 755 760 765
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu
 770 775 780
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp
 785 790 795 800
 Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser
 805 810 815

045012

Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe
820 825 830

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
835 840 845

Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly
850 855 860

Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His
865 870 875 880

His His His His His
885

<210> 156

<211> 885

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro421 (FL haEGFR1/aFOLR1 h77.2
гетерологичный COBRA MMP9 линкер)

<400> 156

Gln Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Arg Pro Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

045012

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
370 375 380

045012

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
385 390 395 400

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Asn Ser Val Met
405 410 415

Ala Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val Ala Ile
420 425 430

Ile Asn Ser Ile Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
435 440 445

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
450 455 460

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Arg Asn
465 470 475 480

Phe Asp Arg Ile Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
485 490 495

Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys Gly Leu Pro Gly Ser Gln
500 505 510

Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr
515 520 525

Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn
530 535 540

Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu
545 550 555 560

Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe
565 570 575

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
580 585 590

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
595 600 605

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
610 615 620

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640

045012

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
 645 650 655

Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 660 665 670

Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp
 675 680 685

Asp Asp Asp Lys Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 690 695 700

Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr
 705 710 715 720

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
 725 730 735

Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 740 745 750

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 755 760 765

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu
 770 775 780

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp
 785 790 795 800

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser
 805 810 815

Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe
 820 825 830

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
 835 840 845

Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly
 850 855 860

Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His
 865 870 875 880

His His His His His

885

<210> 157
 <211> 896
 <212> Белок
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетическая конструкция - Pro393 (Pro186 S9 линкер)

 <400> 157

 Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
 1. 5 10 15

 Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
 20 25 30

 Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

 Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80

 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

 Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
 100 105 110

 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

 Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 130 135 140

 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 145 150 155 160

 Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 165 170 175

 Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
 180 185 190

 Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 195 200 205

045012

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
 210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
 225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
 275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln

045012

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
725 730 735

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
740 745 750

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
755 760 765

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
770 775 780

Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
785 790 795 800

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
805 810 815

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
820 825 830

Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
835 840 845

Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
850 855 860

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser
865 870 875 880

Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
885 890 895

<210> 158

<211> 896

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro394 (Pro186 ST14(MV) линкер)

<400> 158

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr

045012

20 25 30
 Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
 100 105 110
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 130 135 140
 Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 145 150 155 160
 Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 165 170 175
 Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
 180 185 190
 Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 195 200 205
 Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
 225 230 235 240
 Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 245 250 255
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 260 265 270

045012

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
 275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
 450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Phe Thr
 500 505 510

Arg Gln Ala Arg Val Val Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln
 515 520 525

045012

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
 530 535 540

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
 545 550 555 560

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys
 565 570 575

Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
 580 585 590

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu
 595 600 605

Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly
 610 615 620

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 625 630 635 640

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 645 650 655

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 660 665 670

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 675 680 685

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys Ala
 690 695 700

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
 705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
 725 730 735

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
 740 745 750

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 755 760 765

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 770 775 780

045012

Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
785 790 795 800

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
805 810 815

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
820 825 830

Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
835 840 845

Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
850 855 860

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser
865 870 875 880

Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
885 890 895

<210> 159

<211> 896

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro395 (Pro186 CathS линкер)

<400> 159

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

045012

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
340 345 350

045012

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365
 Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380
 Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400
 Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415
 Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430
 Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
 450 455 460
 Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480
 Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ala Arg
 500 505 510
 Leu Gln Ser Ala Ala Pro Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln
 515 520 525
 Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
 530 535 540
 Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
 545 550 555 560
 Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys
 565 570 575
 Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
 580 585 590
 Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu

045012

595 600 605

Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly
610 615 620

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
625 630 635 640

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
645 650 655

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
660 665 670

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
675 680 685

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys Ala
690 695 700

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
725 730 735

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
740 745 750

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
755 760 765

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
770 775 780

Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
785 790 795 800

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
805 810 815

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
820 825 830

Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
835 840 845

045012

Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
850 855 860

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser
865 870 875 880

Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
885 890 895

<210> 160

<211> 897

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro396 (Pro186 MMP9v линкер)

<400> 160

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

045012

165 170 175
 Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
 180 185 190
 Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 195 200 205
 Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
 225 230 235 240
 Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 245 250 255
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 260 265 270
 Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
 275 280 285
 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 290 295 300
 Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320
 Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335
 Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350
 Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365
 Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380
 Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400
 Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415

045012

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
 450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Gly Gly Pro Gly
 500 505 510

Pro Ala Gly Met His Gly Leu Pro Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr
 515 520 525

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
 530 535 540

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp
 545 550 555 560

Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr
 565 570 575

Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
 580 585 590

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
 595 600 605

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
 610 615 620

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 625 630 635 640

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 645 650 655

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
 660 665 670

045012

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 675 680 685

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Lys
 690 695 700

Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
 705 710 715 720

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
 725 730 735

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser
 740 745 750

Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
 755 760 765

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
 770 775 780

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
 785 790 795 800

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala
 805 810 815

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg
 820 825 830

Asp Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 835 840 845

Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
 850 855 860

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val
 865 870 875 880

Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His
 885 890 895

His

<210> 161

<211> 896

045012

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro429 (Pro186 Меприн/ГранзимВ линкер)

<400> 161

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
 180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
 210 215 220

045012

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
 225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
 275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
 450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480

045012

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Gly Val Tyr
 500 505 510

Ala Asp Ser Leu Glu Asp Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln
 515 520 525

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
 530 535 540

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
 545 550 555 560

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys
 565 570 575

Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
 580 585 590

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu
 595 600 605

Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly
 610 615 620

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 625 630 635 640

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 645 650 655

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 660 665 670

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 675 680 685

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala
 690 695 700

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
 705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val

045012

725 730 735
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
740 745 750
Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
755 760 765
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
770 775 780
Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
785 790 795 800
Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
805 810 815
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
820 825 830
Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
835 840 845
Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
850 855 860
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser
865 870 875 880
Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His
885 890 895
<210> 162
<211> 895
<212> Белок
<213> Искусственная последовательность
<220>
<223> Синтетическая конструкция - Pro430 (Pro186 MMP9-2 линкер)
<400> 162
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30
Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

045012

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln

045012

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
545 550 555 560

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp
565 570 575

Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly
580 585 590

Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala
595 600 605

Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly
610 615 620

Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu
625 630 635 640

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
645 650 655

Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala
660 665 670

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
675 680 685

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp
690 695 700

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
705 710 715 720

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
725 730 735

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
740 745 750

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
755 760 765

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
770 775 780

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
785 790 795 800

045012

Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
805 810 815

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr
820 825 830

Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
835 840 845

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
850 855 860

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser
865 870 875 880

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
885 890 895

<210> 163

<211> 896

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro431 (Pro186 ST14(MS) линкер)

<400> 163

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

045012

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
 180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
 210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
 225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
 275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365

045012

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
 370 375 380

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
 385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
 405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
 420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
 450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
 465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
 485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Leu Ser
 500 505 510

Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln
 515 520 525

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
 530 535 540

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
 545 550 555 560

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys
 565 570 575

Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
 580 585 590

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu
 595 600 605

Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly
 610 615 620

045012

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
625 630 635 640

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
645 650 655

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
660 665 670

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
675 680 685

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala
690 695 700

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
725 730 735

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
740 745 750

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
755 760 765

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
770 775 780

Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
785 790 795 800

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
805 810 815

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
820 825 830

Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
835 840 845

Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
850 855 860

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser

045012

180 185 190
 Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 195 200 205
 Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
 225 230 235 240
 Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 245 250 255
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
 260 265 270
 Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
 275 280 285
 Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
 290 295 300
 Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
 305 310 315 320
 Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
 325 330 335
 Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
 340 345 350
 Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
 355 360 365
 Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Pro Gly Pro Ala Gly Met Lys
 370 375 380
 Gly Leu Pro Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 385 390 395 400
 Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
 405 410 415
 Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 420 425 430

045012

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu
 435 440 445

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 450 455 460

Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
 465 470 475 480

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln
 485 490 495

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 500 505 510

Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
 515 520 525

Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser
 530 535 540

Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
 545 550 555 560

Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala
 565 570 575

Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser
 580 585 590

Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr
 595 600 605

Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 610 615 620

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 625 630 635 640

Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 645 650 655

Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
 660 665 670

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr
 675 680 685

045012

Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile
690 695 700

Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu
705 710 715 720

Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe
725 730 735

Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
740 745 750

Val Thr Val Ser Ser His His His His His His
755 760

<210> 165

<211> 896

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro221 - Вариант с разрезаемым линкером

<400> 165

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
115 120 125

045012

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
195 200 205

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
370 375 380

045012

Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
385 390 395 400

Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr Gly Met
405 410 415

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ser Gly
420 425 430

Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp Leu Gln
450 455 460

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala
465 470 475 480

Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp Tyr Trp
485 490 495

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Gly Gln Asn
500 505 510

Pro Tyr Ser Ala Gly Arg Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln
515 520 525

Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys
530 535 540

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val
545 550 555 560

Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Asp Tyr Lys
565 570 575

Asp Asp Asp Asp Lys Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
580 585 590

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu
595 600 605

Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly
610 615 620

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
625 630 635 640

045012

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 645 650 655

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
 660 665 670

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 675 680 685

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala
 690 695 700

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
 705 710 715 720

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
 725 730 735

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
 740 745 750

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 755 760 765

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
 770 775 780

Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 785 790 795 800

Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro
 805 810 815

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp
 820 825 830

Thr Leu Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
 835 840 845

Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
 850 855 860

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser
 865 870 875 880

Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser His His His His His His

045012

885

890

895

<210> 166

<211> 896

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция - Pro222 - Вариант с разрезаемым линкером

<400> 166

Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly
 1. 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Thr Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Arg Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

Ser Gly Ile Ser Trp Arg Gly Asp Ser Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
 100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 130 135 140

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
 145 150 155 160

Phe Asn Lys Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 165 170 175

Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
 180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Gln Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
 195 200 205

045012

Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Ala Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu
260 265 270

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala
275 280 285

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln
290 295 300

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe
305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
325 330 335

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
340 345 350

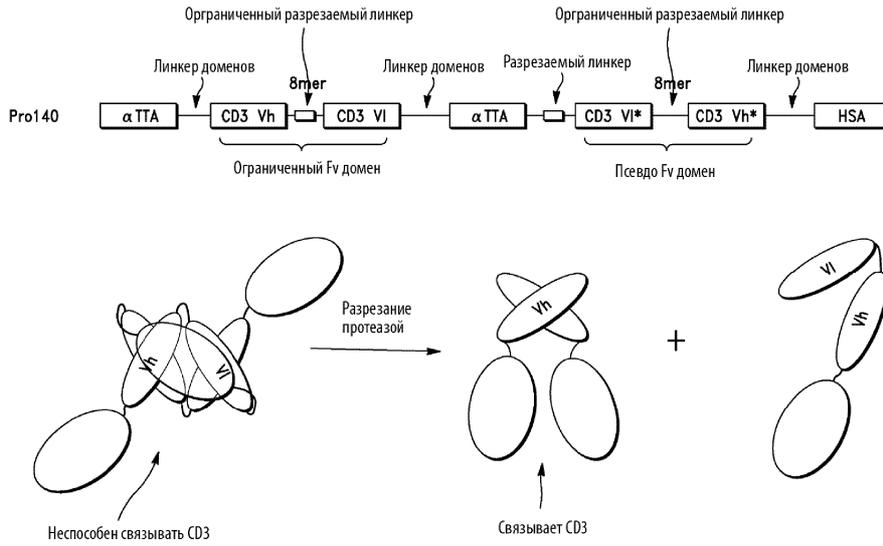
Tyr Tyr Cys Thr Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly
355 360 365

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Val
370 375 380

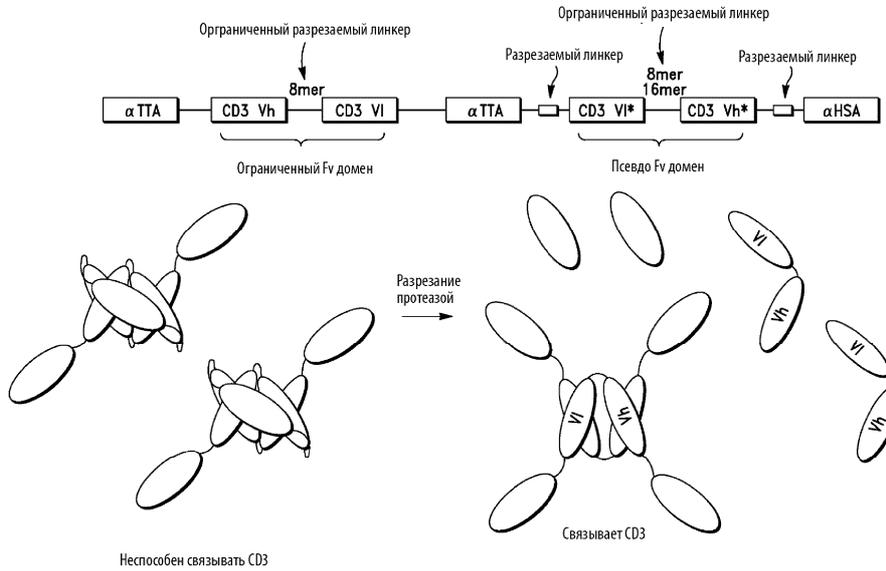
Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu
385 390

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

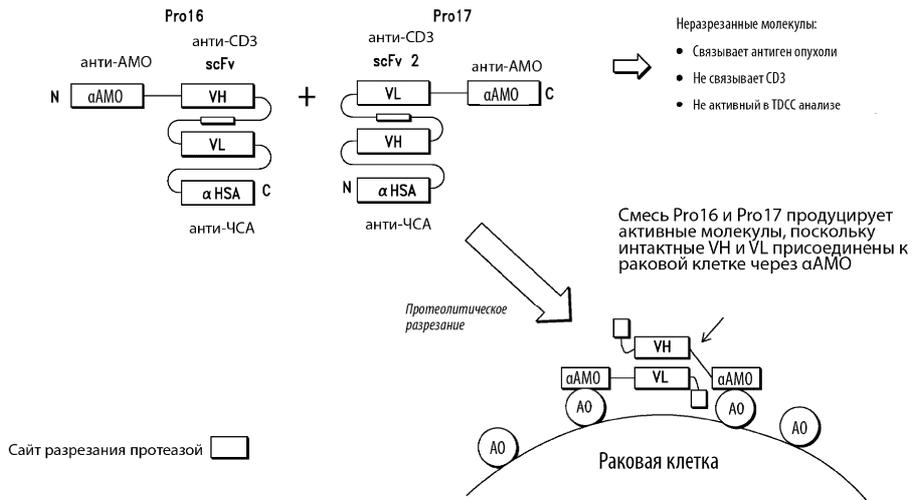
1. Белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 145.
2. Нуклеиновая кислота, кодирующая белок по п.1.
3. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.2.
4. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.3.
5. Способ получения белка, включающий культивирование клетки-хозяина по п.4 в условиях, при которых указанный белок экспрессируется, и выделение указанного белка.
6. Применение белка по п.1, отличающееся тем, что оно направлено на получение лекарственного средства для лечения рака.



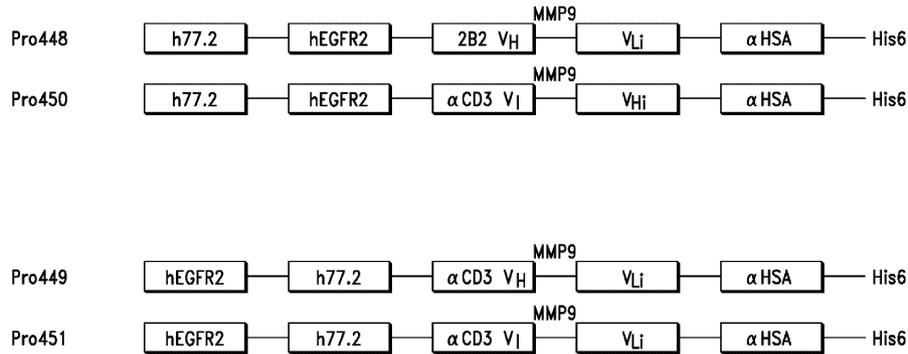
Фиг. 1



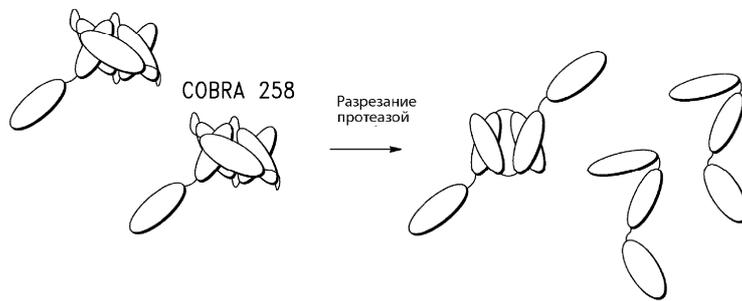
Фиг. 2



Фиг. 3А



Фиг. 3B



Фиг. 4

Нацеливающие одАг**alpha EGFR1**

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRTFSSYAMG**WFRQAPGKEREFVVA**INWSSGSTYYADS**
VKGRRFTISRDNKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAA**GYQINSGNYNFKDYEYDY**WGQGQTQVTVS
 S (SEQ ID NO:1)

sdCDR1 **GRTFSSYAMG** (SEQ ID NO:2)

sdCDR2 **INWSSGSTYYADSVKG** (SEQ ID NO:3)

sdCDR3 **GYQINSGNYNFKDYEYDY** (SEQ ID NO:4)

alpha EGFR2

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVSV**GISWRGDSTGYAD**
SVKGRRFTISRDNKNTVDLQMNSLKPEDTAVYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGQTQVTVSS
 (SEQ ID NO:5)

sdCDR1 **GRTSRSYGMG** (SEQ ID NO:6)

sdCDR2 **GISWRGDSTGYADSVKG** (SEQ ID NO:7)

sdCDR3 **AAGSAWYGTLYEYDY** (SEQ ID NO:8)

halpha EGFR1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GRTFSSYAMG**WFRQAPGKEREFVVA**INWSSGSTYYADS**
VKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAA**GYQINSGNYNFKDYEYDY**WGQGLTQVTVSS
 (SEQ ID NO:9)

sdCDR1 **GRTFSSYAMG** (SEQ ID NO:10)

sdCDR2 **INWSSGSTYYADSVKG** (SEQ ID NO:11)

sdCDR3 **GYQINSGNYNFKDYEYDY** (SEQ ID NO:12)

halpha EGFR2

QVKLVESGGGVWRPGGSLTSCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVSV**GISWRGDSTGYAD**
SVKGRRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGLTQVTVSS
 (SEQ ID NO:13)

sdCDR1 **GRTSRSYGMG** (SEQ ID NO:14)

sdCDR2 **GISWRGDSTGYADSVKG** (SEQ ID NO:15)

sdCDR3 **AAGSAWYGTLYEYDY** (SEQ ID NO:16)

Фиг. 5A

Нацеливающие одАг - продолжениеαFOLR1 h77-2

QVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCAA**SGFTVSNVMA**WYRQTPGNEREFVA**IINSIGITNYADSVK**
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCN**RNFDRY**WGQGLTLTVSS (SEQ ID NO:17)

sdCDR1 **GFTVSNVMA** (SEQ ID NO:18)

sdCDR2 **IINSIGITNYADSVKG** (SEQ ID NO:19)

sdCDR3 **NFDRY** (SEQ ID NO:20)

αFOLR1 h59.3

QVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCAAP**GNTFISAMG**WYRQAPGKQREWWA**VTHSDYSTNYADS**
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCK**HYGIDY**WGQGLTLTVSS (SEQ ID NO:21)

sdCDR1 **GNTFISAMG** (SEQ ID NO:22)

sdCDR2 **VTHSDYSTNYADSVKG** (SEQ ID NO:23)

sdCDR3 **YGIDY** (SEQ ID NO:24)

αFOLR1 h22-4

QVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCEAS**GTTFSRDVMG**WYRQAPGKQRELVA**IISRGGSTNYADSV**
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCN**ANTATWGRVF**WGQGLTLTVSS (SEQ ID
 NO:25)

sdCDR1 **GTTFSRDVMG** (SEQ ID NO:26)

sdCDR2 **IISRGGSTNYADSVKG** (SEQ ID NO:27)

sdCDR3 **NTATWGRVF** (SEQ ID NO:28)

αB7H3 hF7

QVQLQESGGGLVQPGGSLRRLSCAPS**RRTFHTYHMG**WFRQAPGKEREFVA**VINWGGSTVYAD**
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAA**GGATTQRATEASYDY**WGQGLTLTVSS
 (SEQ ID NO:29)

sdCDR1 **RRTFHTYHMG** (SEQ ID NO:30)

sdCDR2 **VINWGGSTVYADSVKG** (SEQ ID NO:31)

sdCDR3 **GGATTQRATEASYDY** (SEQ ID NO:32)

Фиг. 5B

Нацеливающие одАг - продолжениеαB7H3 hF12

QVQLQESGGGLVQPGGSLRRLSCEAS**PRTFSTYSMA**WFRQAPGKERSFVA**AINWGGNTSYAD**
SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAA**GGVLAHHNYEYDY**WGQGLTLTVSS (SEQ
 ID NO:33)

sdCDR1 **PRTFSTYSMA** (SEQ ID NO:34)

sdCDR2 **AINWGGNTSYADSVKG** (SEQ ID NO:35)

sdCDR3 **GGVLAHHNYEYDY** (SEQ ID NO:36)

αEpCAM h13

QVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCAAS**GTGSIFSINLMG**WYRQAPGKQRELVA**RITSGDSTVYADS**
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCN**LLRSSPGATTPY**WGQGLTLTVSS (SEQ ID
 NO:37)

sdCDR1 **GTGSIFSINLMG** (SEQ ID NO:38)

sdCDR2 **RITSGDSTVYADSVKG** (SEQ ID NO:39)

sdCDR3 **LLRSSPGATTPY** (SEQ ID NO:40)

αEpCAM h23

QVQLVESGGGLVQPGGSLTLSCVIS**GSFSALWAMR**WYRQAPGQRELVA**SSRGGTTSYADSV**
KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCNA**IDGHLAY**WGQGLTLTVSS (SEQ ID NO:41)

sdCDR1 **GSFSALWAMR** (SEQ ID NO:42)

sdCDR2 **SSRGGTTSYADSVKG** (SEQ ID NO:43)

sdCDR3 **IDGHLAY** (SEQ ID NO:44)

α4CA домен увеличения времени полураспада

EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA**SGFTFSKFGMS**WYRQAPGKGLWV**SSISGSGRDTLYAES**
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT**GGSLSV**SSQGLTLTVSS (SEQ ID NO:45)

sdCDR1 **GFTFSKFGMS** (SEQ ID NO:46)

sdCDR2 **SISGSGRDTLYAESVKG** (SEQ ID NO:47)

sdCDR3 **GGSLSV** (SEQ ID NO:48)

EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA**SGFTFSKFGMS**WYRQAPGKGLWV**SSISGSGRDTLYAES**
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT**GGSLSV**SSQGLTLTVSS/HHHHHH (SEQ ID
 NO:142)

Фиг. 5C

αCD3 scFv доменыαCD3 V_L

QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCA**ASSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARF
SGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:49)

aVLCDR1 **ASSTGAVTSGNYPN** (SEQ ID NO:50)

aVLsdCDR2 **GTKFLVP** (SEQ ID NO:51)

aVLsdCDR3 **TLWYSNRWV** (SEQ ID NO:52)

αCD3 V_{L1}

QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCA**GSSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPA
RFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:53)

iVLCDR1 **GSSTGAVTSGNYPN** (SEQ ID NO:54)

iVLsdCDR2 **DYKDDDDK** (SEQ ID NO:55)

iVLsdCDR3 **VLWYSNRWV** (SEQ ID NO:56)

αCD3 V_{L2}

QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCA**GSSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIG**GTKDDAP**GTPAR
RFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL (SEQ ID NO:57)

iVLCDR1 **GSSTGAVTSGNYPN** (SEQ ID NO:58)

iVLsdCDR2 **GTKDDAP** (SEQ ID NO:59)

iVLsdCDR3 **VLWYSNRWV** (SEQ ID NO:60)

αCD3 V_H

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKLEWVA**RIRSKYNNYATYYA**
DQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO:61)

aVHCDR1 **GFTFNKYAIN** (SEQ ID NO:62)

aVHsdCDR2 **RIRSKYNNYATYYADQVKD** (SEQ ID NO:63)

aVHsdCDR3 **HANFGNSYISYWAY** (SEQ ID NO:64)

Фиг. 5D

αCD3 scFv домены-продолжениеαCD3 V_{H1}

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAPGKLEWVA**RIRSKYDYKDDDD**
KADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO:65)

iVHsdCDR1 **GFTFNKYAMN** (SEQ ID NO:66)

iVHsdCDR2 **RIRSKYDYKDDDDKADSVKD** (SEQ ID NO:67)

iVHsdCDR3 **HGNFGNSYISYWAY** (SEQ ID NO:68)

αCD3 V_{H2}

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKHAMN**WVRQAPGKLEWVA**RIRSKYNNYATAY**
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS
(SEQ ID NO:69)

iVHsdCDR1 **GFTFNKHAMN** (SEQ ID NO:70)

iVHsdCDR2 **RIRSKYNNYATAYADSVKD** (SEQ ID NO:71)

iVHsdCDR3 **HGNFGNSYISYWAY** (SEQ ID NO:72)

αCD3 scFv линкерыНормальный/Неразрезаемый

GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:73)

Ограничивающий

GGGSGGGGS (SEQ ID NO:74)

Фиг. 5E

Разрезаемые линкеры (Сайт узнавания жирным шрифтом, сайт разрезания -/)

MMP 2/9

GPAG/MKGL (SEQ ID NO:75)

SGGPGPAG/MKGLPGS (SEQ ID NO:76)

SGGGPGPAG/MKGLPGGS (SEQ ID NO:77)

Меприн А/В

GGGKLA/DEPEGGGS (SEQ ID NO:78)

KKLA/DEPE (SEQ ID NO:79)

Меприн А/В (высокоэффективный вариант)

GGGFLA/DEPEGG (SEQ ID NO:80)

Катепсин S, K, L

SGGARLQ/SAAPGGGS (SEQ ID NO:81)

ARLQ/SAAP (SEQ ID NO:82)

Меприн/Гранзим В

SGGGVYADSLEDGGGS (SEQ ID NO:83)

GVYADSLEDG (SEQ ID NO:84)

Матриптаза/αPA (MC)

GGGSLSGR/SDNHGGGS (SEQ ID NO:85)

GLSGR/SDNHG (SEQ ID NO:86)

Матриптаза (MB)

SGGGSFTR/QARVVGGS (SEQ ID NO:87)

SFTR/QARVV (SEQ ID NO:88)

Катепсины/MMP9/Меприн А

ARLQ/SAAPAG/LKGA (SEQ ID NO:89)

MMP9 (высокоэффективный вариант)

GGPGPAG/MHGLPG (SEQ ID NO:90)

MMP9 (низкоэффективный вариант)

GGPGPAG/MEGLPG (SEQ ID NO:91)

Фиг. 5F

Разрезаемые линкеры (Сайт узнавания жирным шрифтом, сайт разрезания -/)-продолжение

Тромбин 1 .

GGGGLVPR/GSLGGGS (SEQ ID NO:92)

Тромбин 2 .

SSGGMPR/SFRGGGS (SEQ ID NO:93)

Энтерокиназа/Flag

GGGGDYKDDDDK/GGGS (SEQ ID NO:94)

KLK7-6

SGGGQNPY/SAGRGGGS (SEQ ID NO:95)

KLK7-13

SGGGQNPY/SAGGGSGG (SEQ ID NO:96)

KLK7-11

SGGGRNVY/SAGGGSGG (SEQ ID NO:97)

KLK7-10

SGGGQNTW/SAGKGGGS (SEQ ID NO:98)

αPA

GGGSHTR/SAYFGGGS (SEQ ID NO:99)

MMP9-2

SGGPGPAG/LKGAPGS (SEQ ID NO:184)

Фиг. 5G

045012

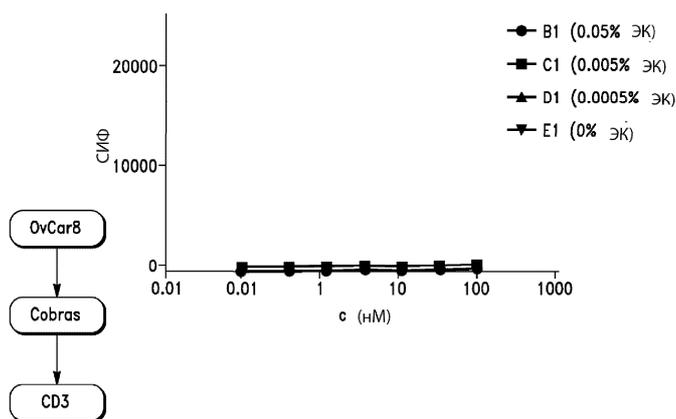
Протеаза	Последовательность домена разрезания	Seq id no:
ММР7	KRALGLPG	100
ММР7	(DE) ₈ RPLALWRS(DR) ₈	101
ММР9	PR(S/T)(L/I)(S/T)	102
ММР9	LEATA	103
ММР11	GGAANLVRGG	104
ММР14	SGRIGFLRTA	105
ММР	PLGLAG	106
ММР	PLGLAX	107
ММР	PLGC(ME)AG	108
ММР	ESPAYYTA	109
ММР	RLQLKL	110
ММР	RLQLKAC	111
ММР2, ММР9, ММР14	EP(CIT)G(HOF)YL	112
Урокиназный активатор плазминогена (уап)	SGRSA	113
Урокиназный активатор плазминогена (уап)	DAFK	114
Урокиназный активатор плазминогена (уап)	GGRR	115
Лизосомальный фермент	GFLG	116
Лизосомальный фермент	ALAL	117
Лизосомальный фермент	FK	118
Катепсин В	NLL	119
Катепсин D	PIC(ET)FF	120
Катепсин К	GGPRGLPG	121
Простатспецифический антиген	HSSKLQ	122
Простатспецифический антиген	HSSKLQL	123
Простатспецифический антиген	HSSKLQEDA	124
Протеаза вируса простого герпеса	LVLASSFGY	125
Протеаза ВИЧ	GVSQNYPIVG	126
Протеаза ЦМВ	GVVQASCRLA	127

Фиг. 6А

Протеаза	Последовательность домена разрезания	Seq id no:
Тромбин	F(PIP)RS	128
Тромбин	DPRSFL	129
Тромбин	PPRSFL	130
Каспаза-3	DEVDP	131
Каспаза-3	DEVDP	132
Каспаза-3	KGSGDVEG	133
Интенрейкин 1β конвертирующий фермент	GWEHDG	134
Энтерокиназа	EDDDDKA	135
Фар	KQEQNPGST	136
Калликреин 2	GKAFRR	137
Плазмин	DAFK	138
Плазмин	DVLK	139
Плазмин	DAFK	140
Тор	ALLLALL	141

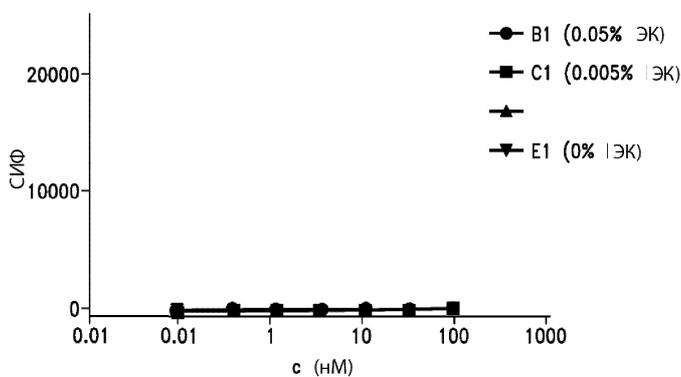
Фиг. 6В

Связывание разрезанного ЭК Pro6 с OVCAR-8
Обнаруженное с помощью A488-суCD3::Flag::hFC



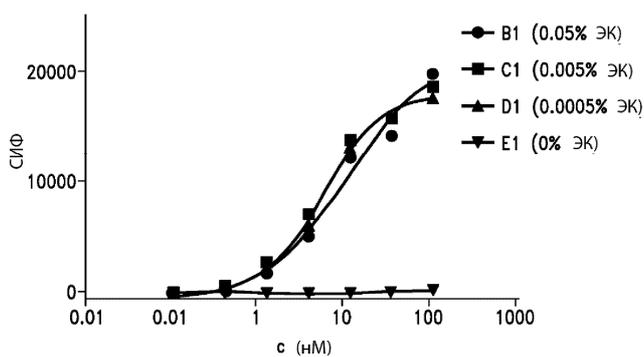
Фиг. 7А

Связывание разрезанного ЭК Pro7 с OVCAR-8
Обнаруженное с помощью A488-суCD3::Flag::hFC

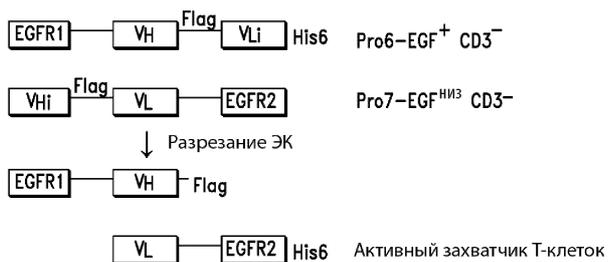


Фиг. 7В

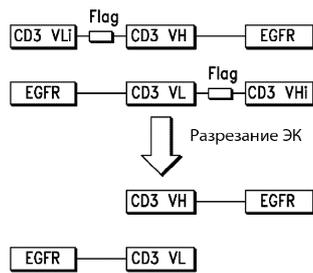
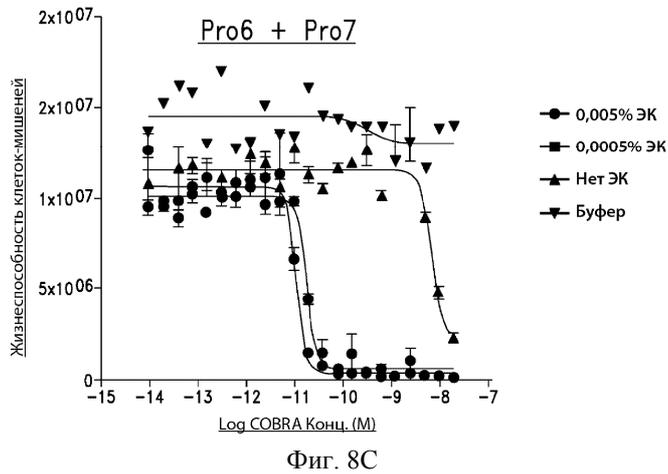
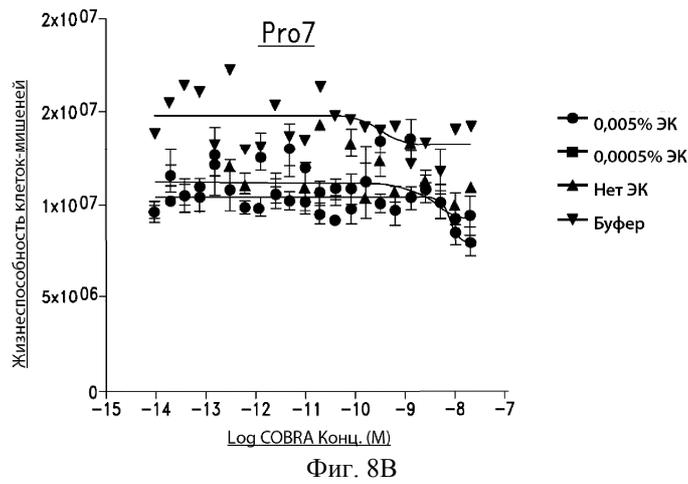
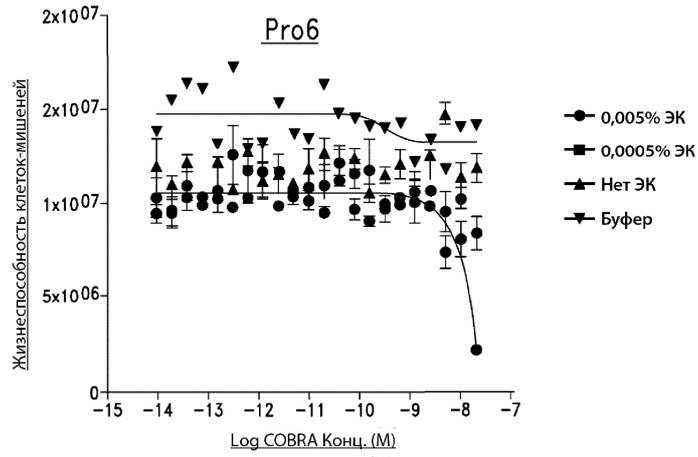
Связывание разрезанного ЭК Pro6+7 с OVCAR-8
Обнаруженное с помощью A488-суCD3::Flag::huFC



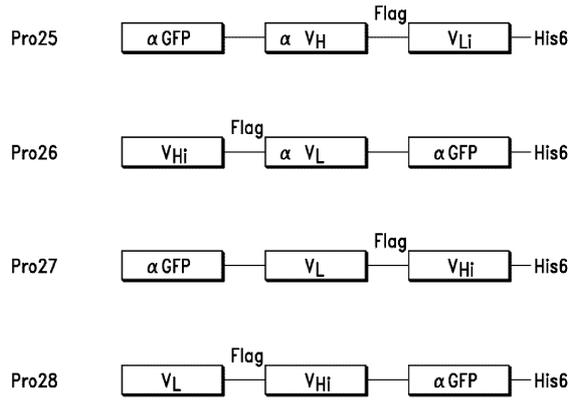
Фиг. 7С



Фиг. 7D

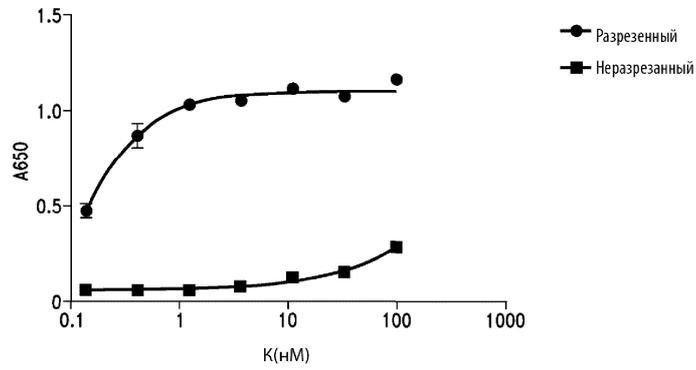


045012



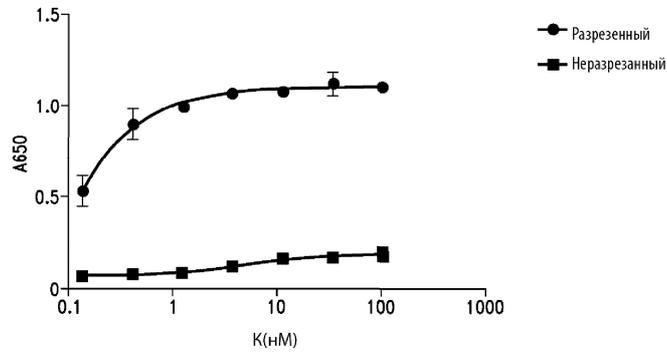
Фиг. 9

6+7_связывание с rhEGFR
Обнаруженное с помощью b-CD3E::flag::hFC, Sav-PIX



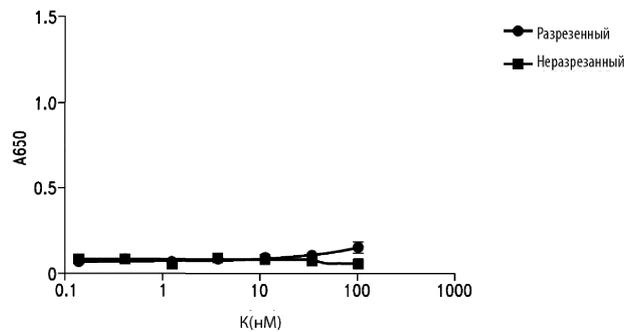
Фиг. 10А

6+9_связывание с rhEGFR
Обнаруженное с помощью b-CD3E::flag::hFC, Sav-PIX



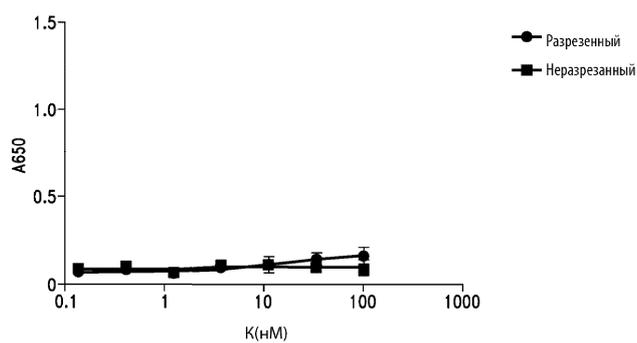
Фиг. 10В

6+26_связывание с rhEGFR
Обнаруженное с помощью b-CD3E::flag::hFC, Sav-PIX



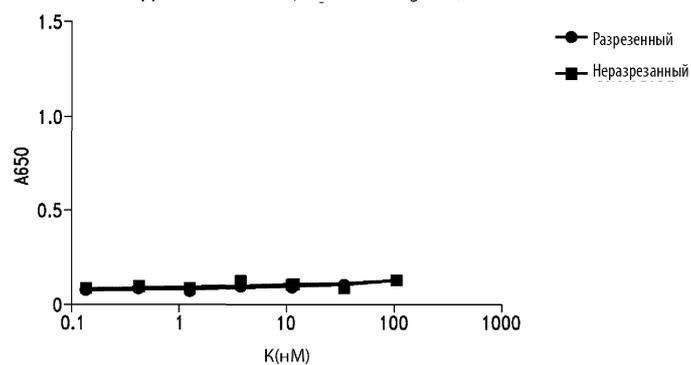
Фиг. 10С

6+27_связывание с rhEGFR
Обнаруженное с помощью b-CD3E::flag::hFC, Sav-ПХ



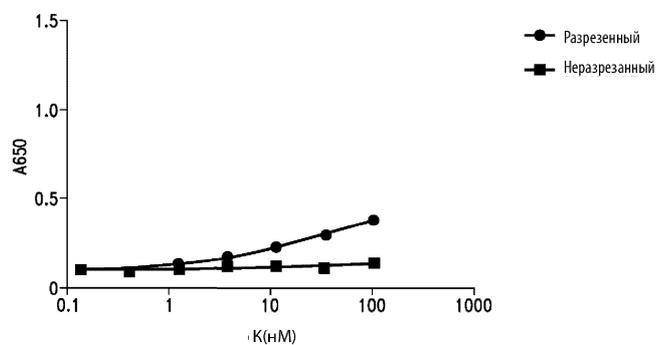
Фиг. 10D

Обнаруженное с помощью b-CD3E::flag::hFC, Sav-ПХ

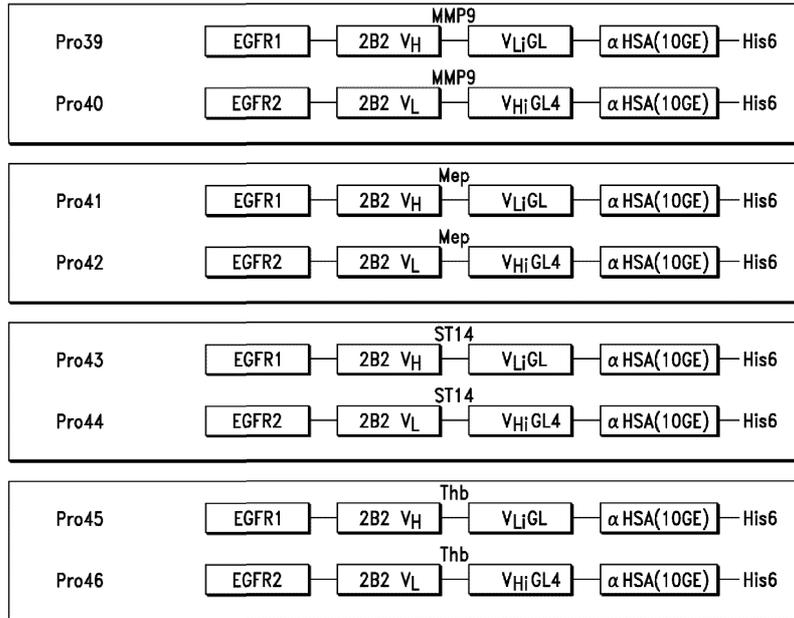


Фиг. 10E

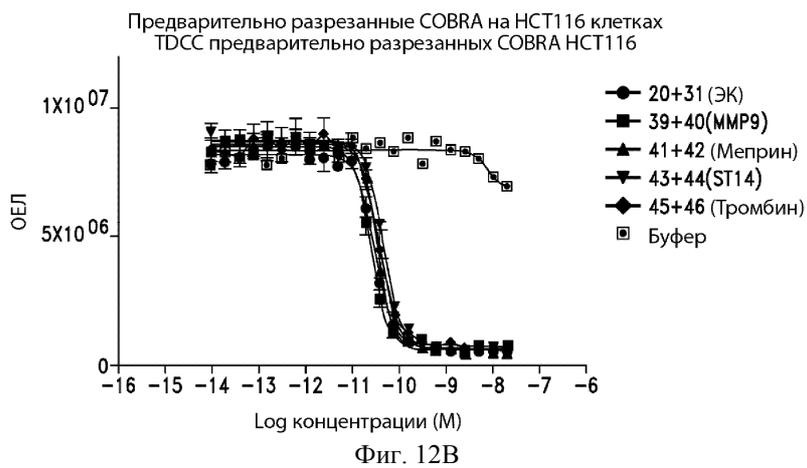
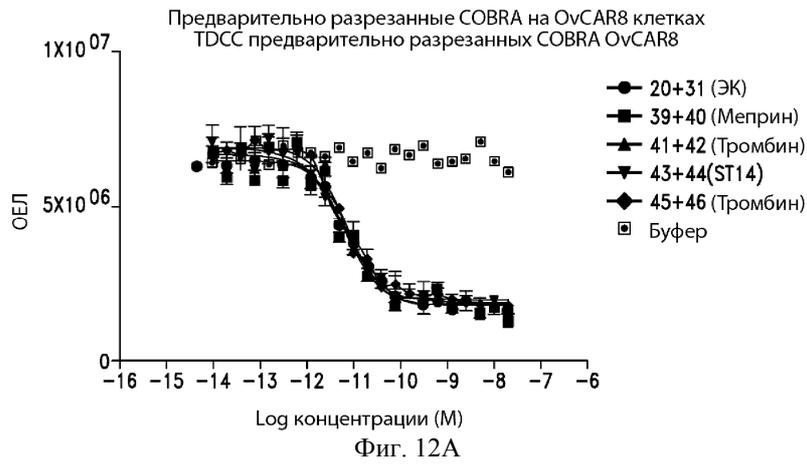
7+25_связывание с rhEGFR
Обнаруженное с помощью b-CD3E::flag::hFC, Sav-ПХ

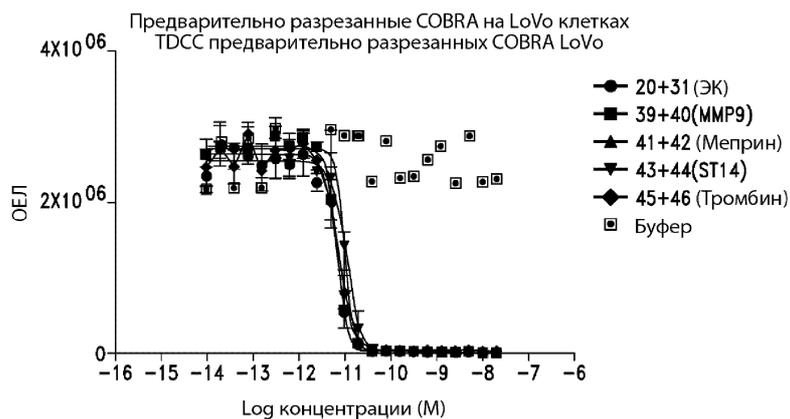


Фиг. 10F

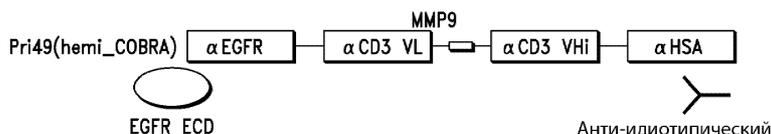


Фиг. 11



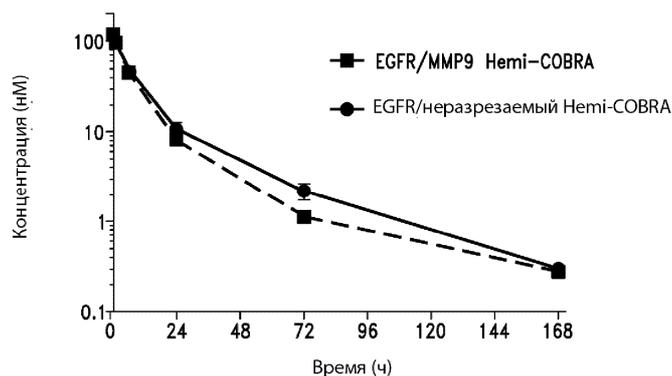


Фиг. 12С

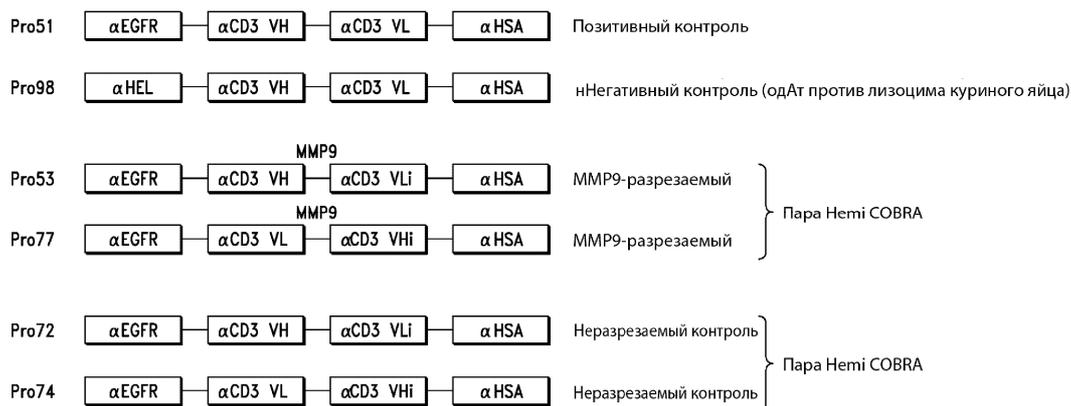


Дозированные 0,5 мг/кг
Единичная доза в/в
Мыши NSG

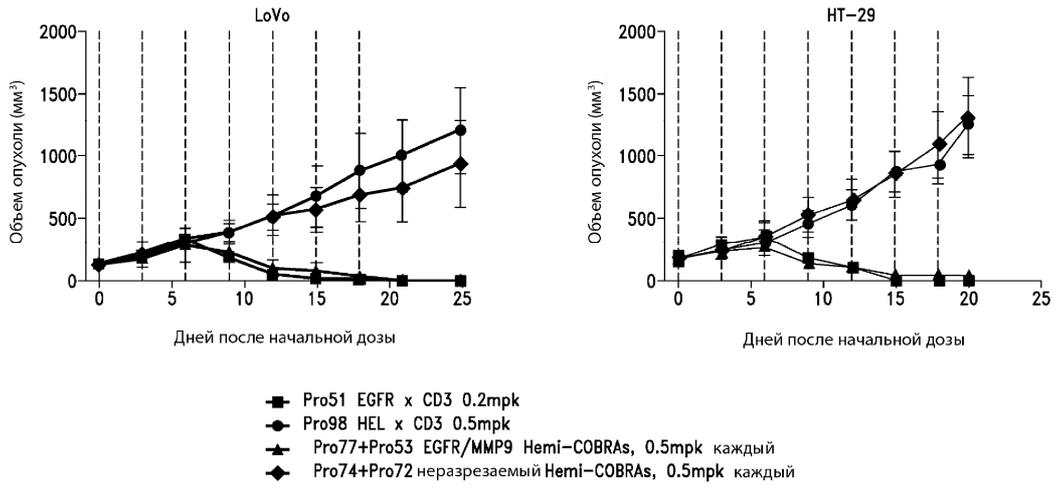
Фиг. 13А



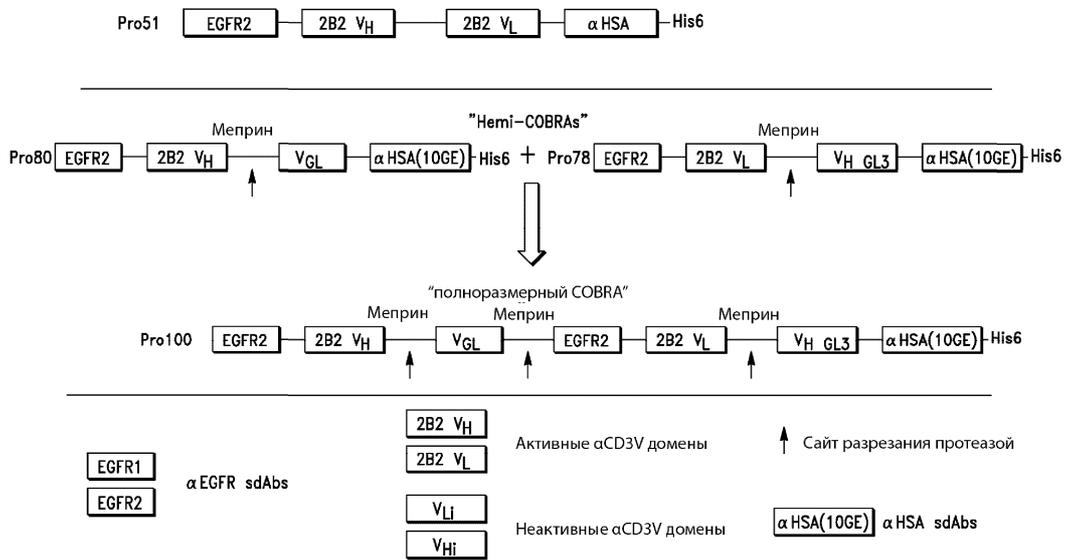
Фиг. 13В



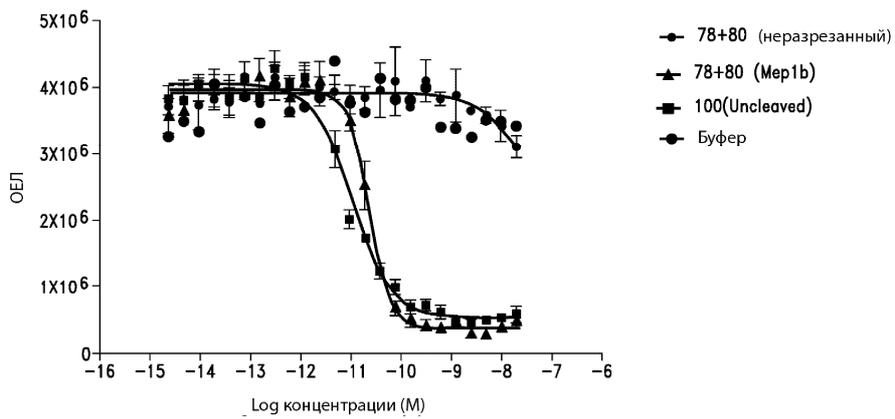
Фиг. 14



Фиг. 15

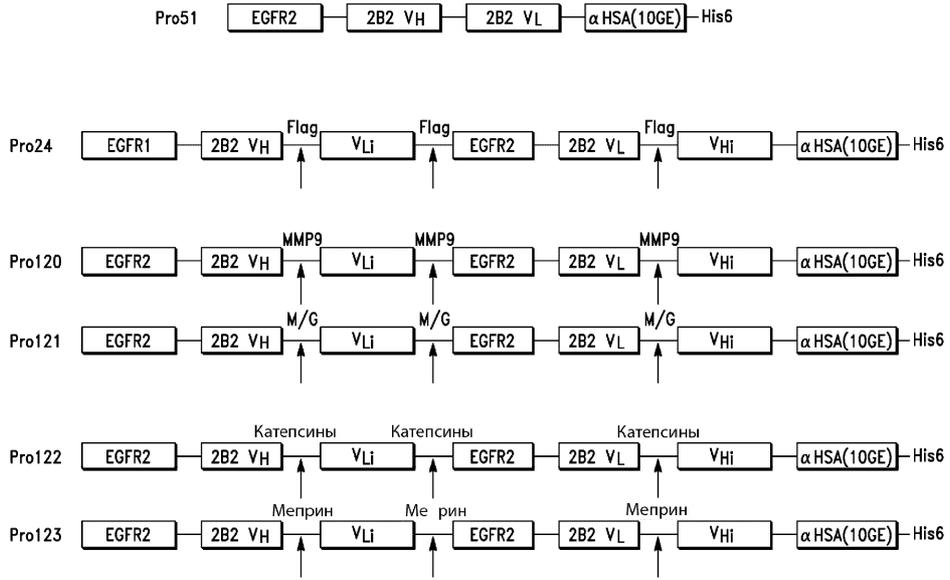


Фиг. 16

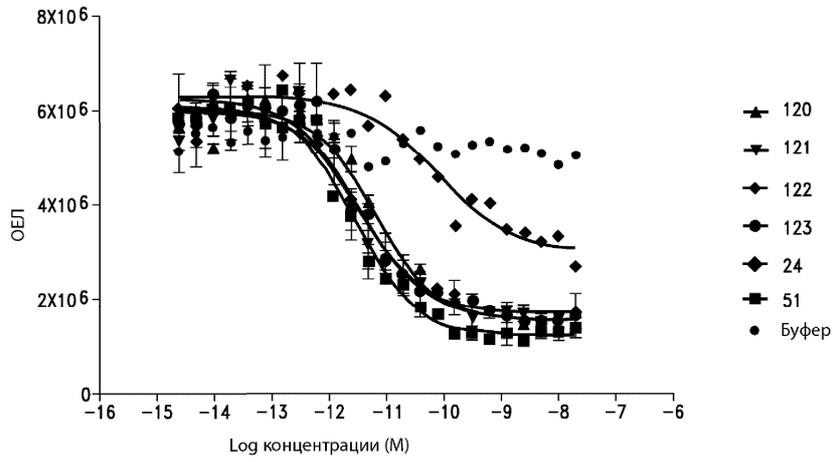


Фиг. 17

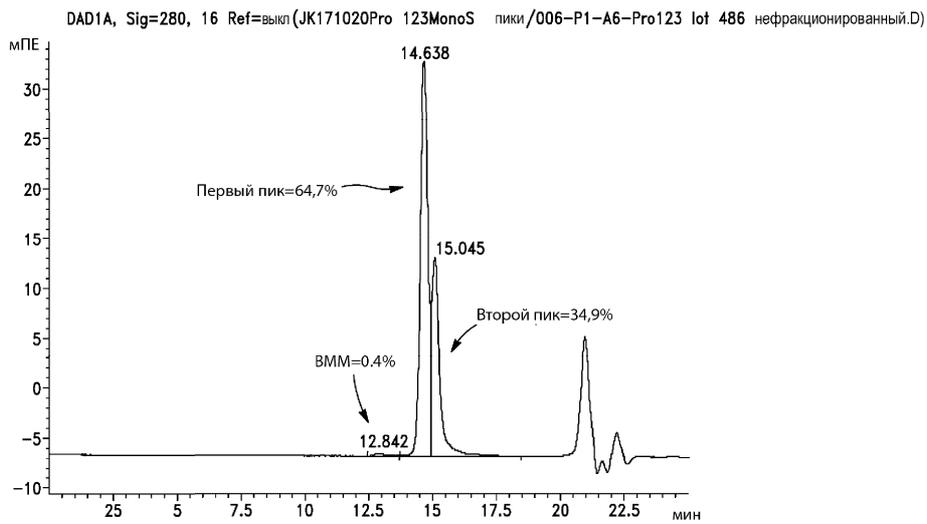
045012



Фиг. 18

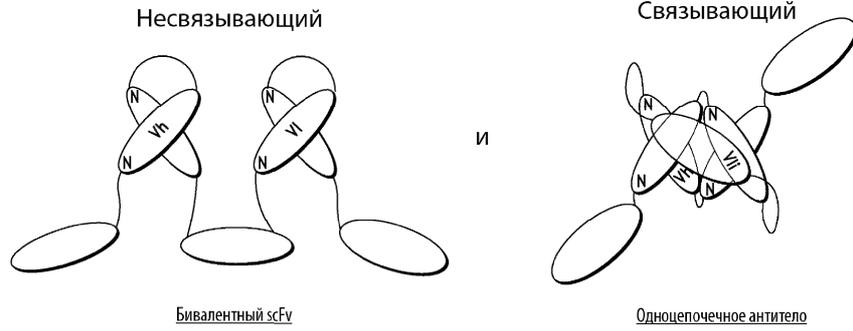


Фиг. 19

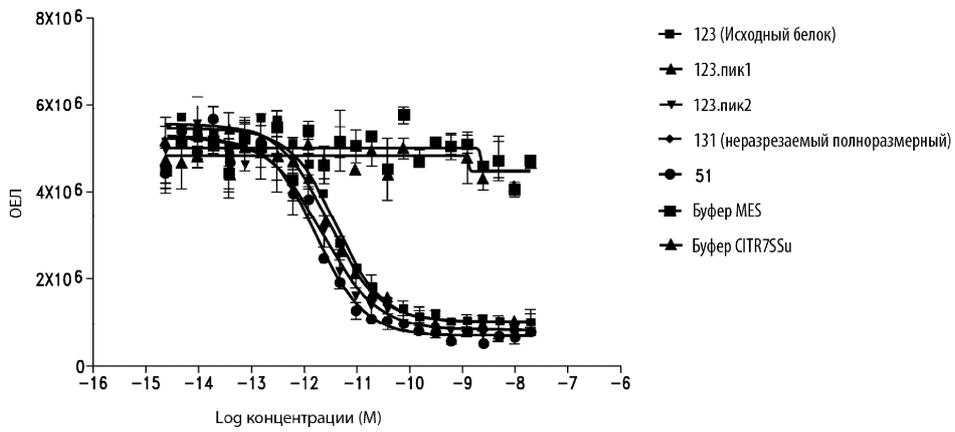


Pro123

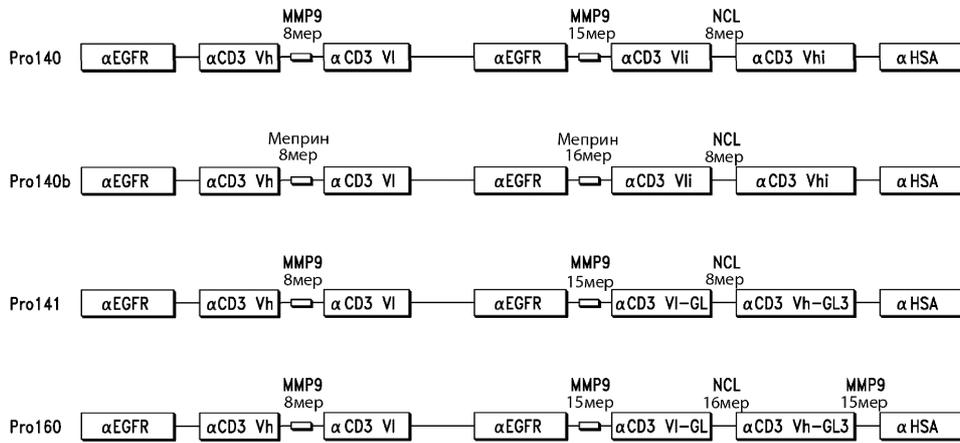
Фиг. 20



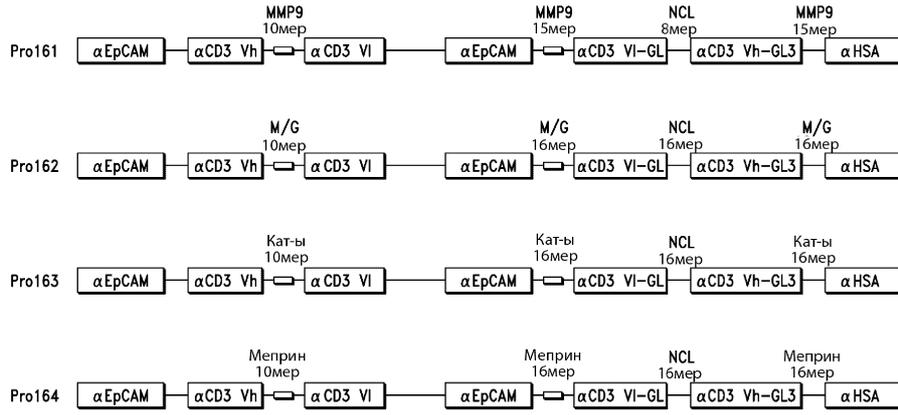
Фиг. 21



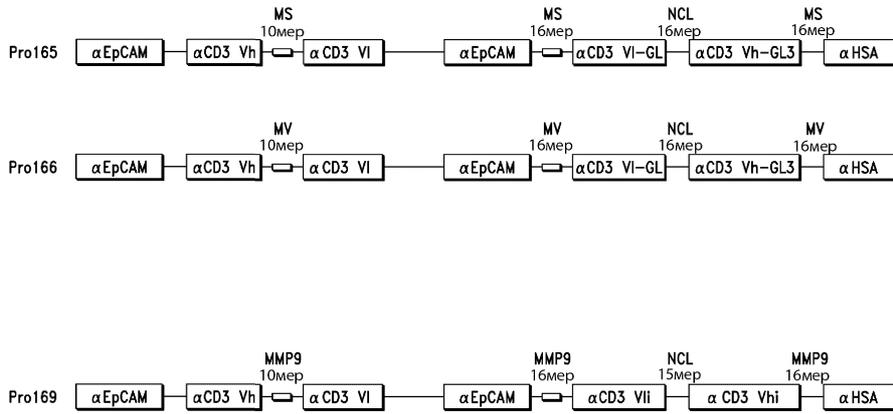
Фиг. 22



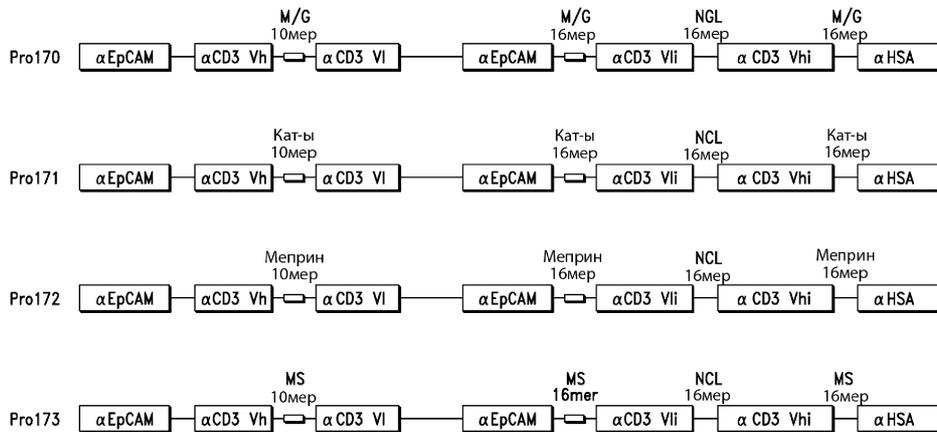
Фиг. 23А



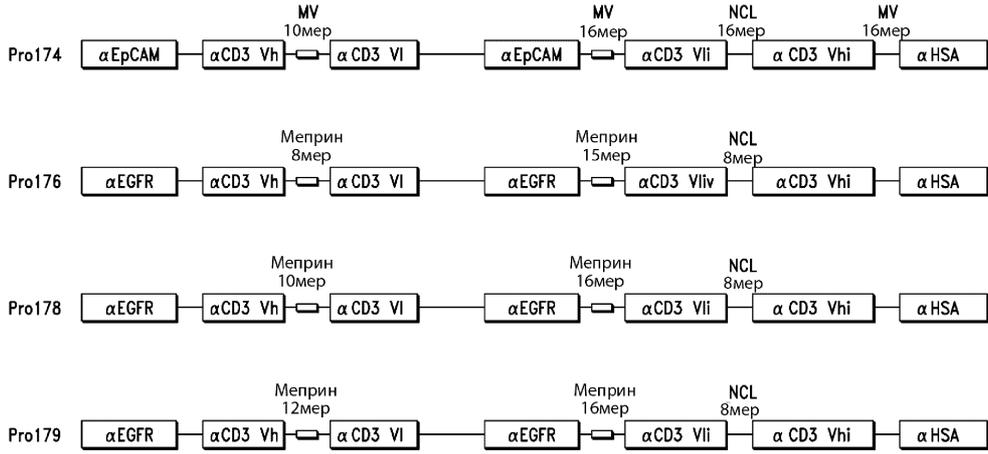
Фиг. 23В



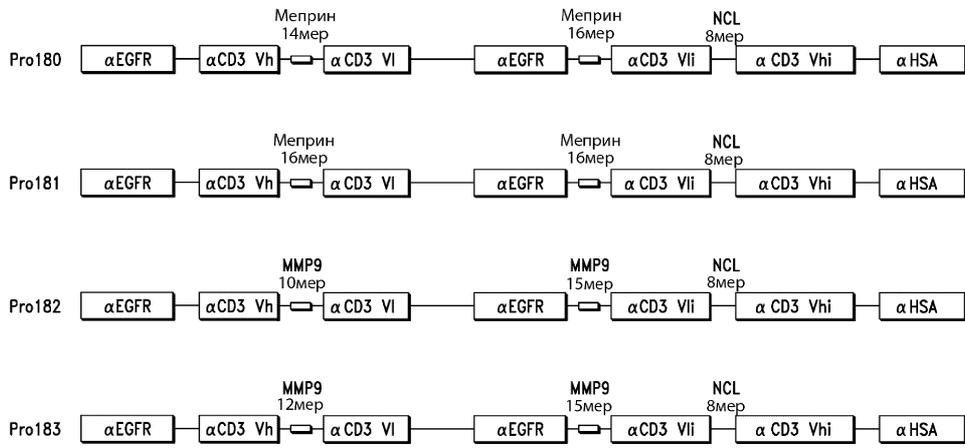
Фиг. 23С



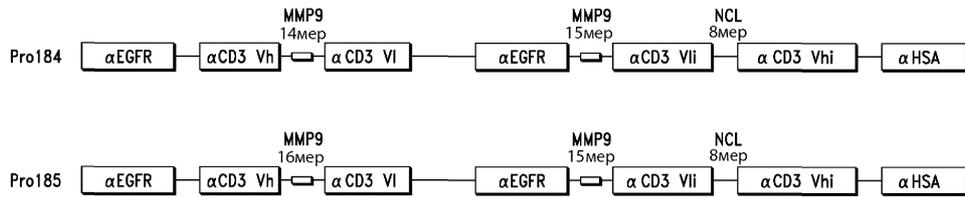
Фиг. 23D



Фиг. 23Е

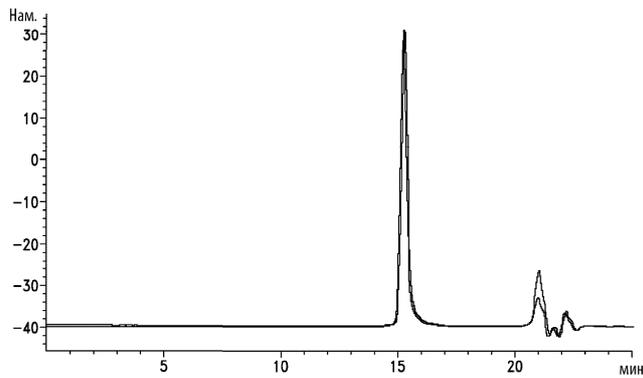


Фиг. 23F

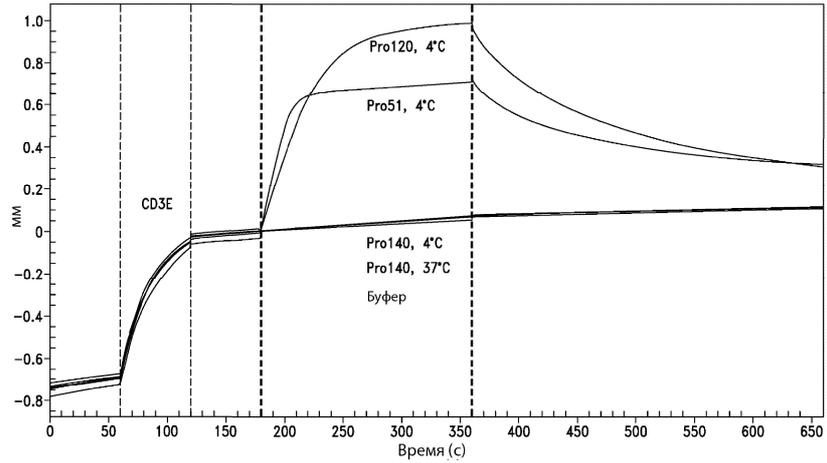


Фиг. 23G

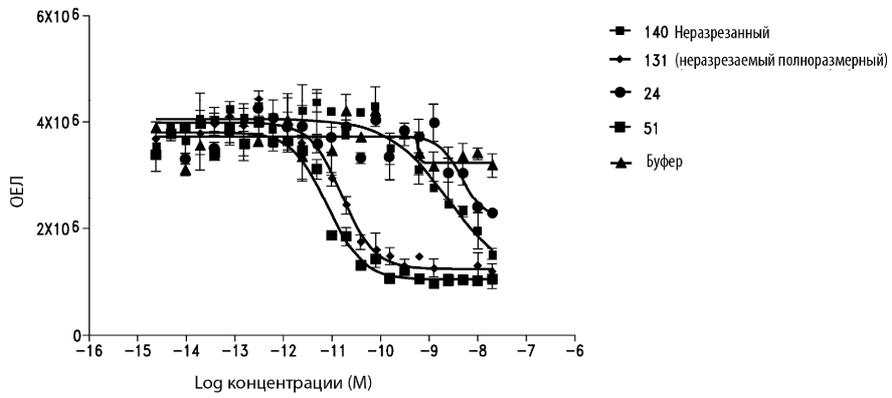
DAD1A,Sig=280,16 Ref=888(C:\CHEM32\...ATA\JK171027 SEC LOTS 503 TO 508\003-P1-A4PRO lot PL-0506.D0 4°C
DAD1A,Sig=280,16 Ref=888(JK17 1030 Pro140 и 41 и 42 при 37\003-P1-A4-Pro 140at 37 C.D) 37°C 72 ч :



Фиг. 24

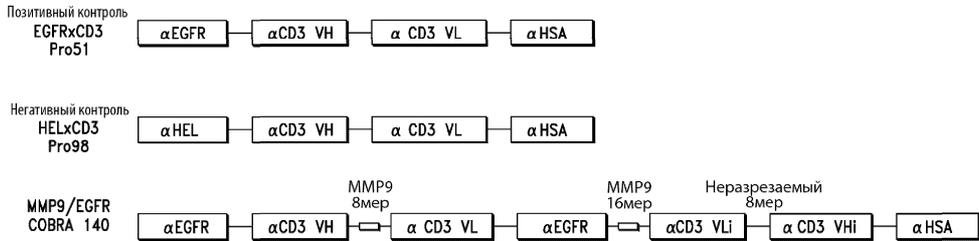


Фиг. 25

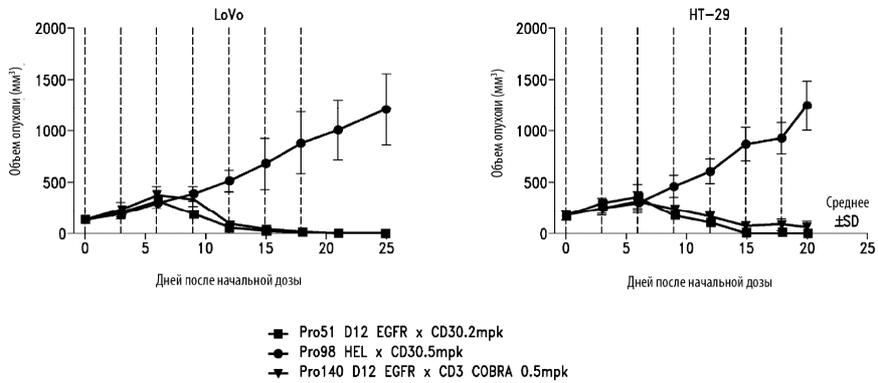


Фиг. 26

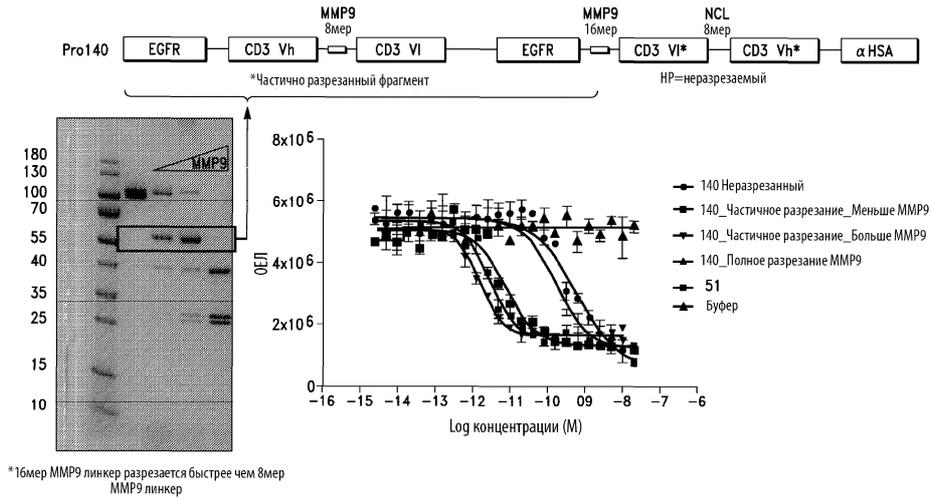
Группы:



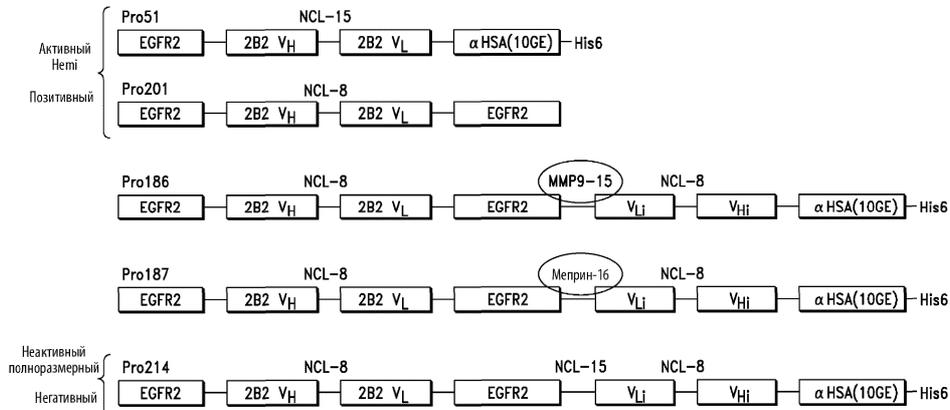
Фиг. 27



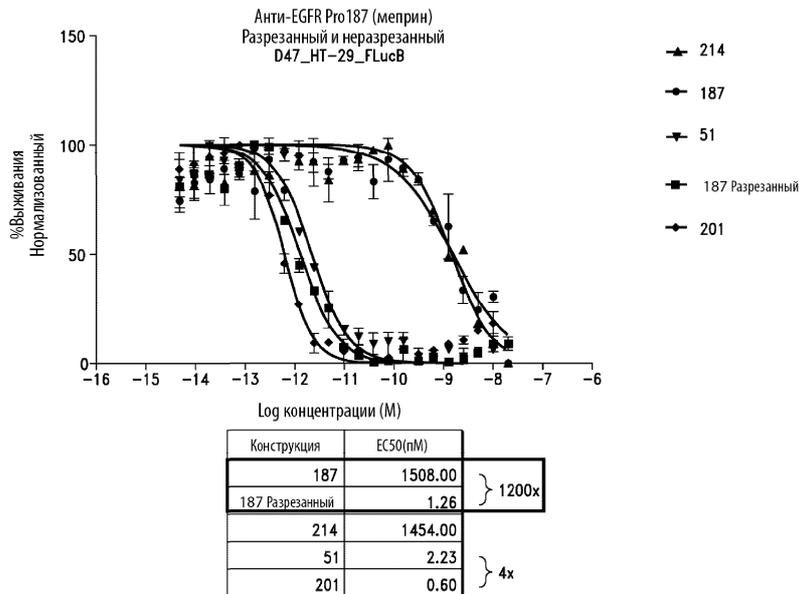
Фиг. 28



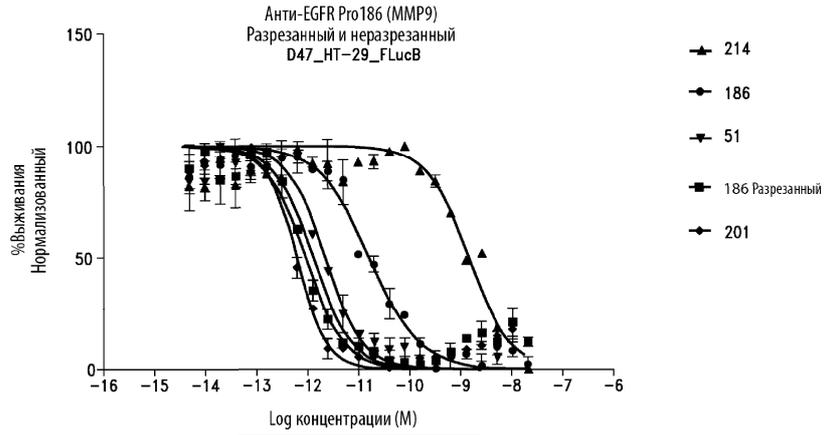
Фиг. 29



Фиг. 30



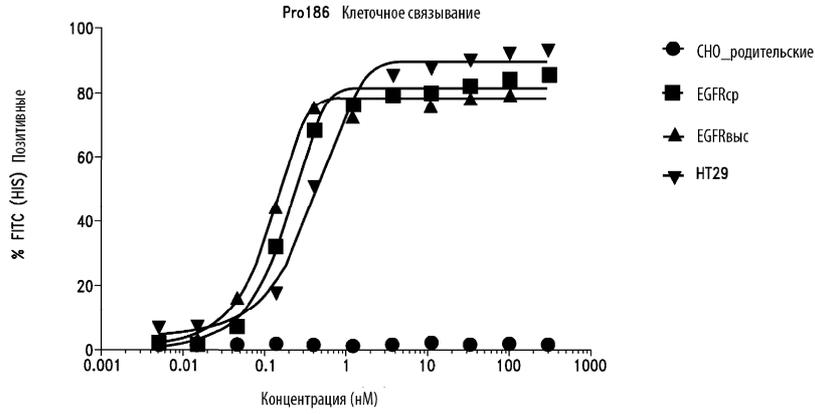
Фиг. 31



Конструкция	EC50(nM)
186	16.24
186 Разрезанный	0.90
214	1454.00
51	2.23
201	0.60

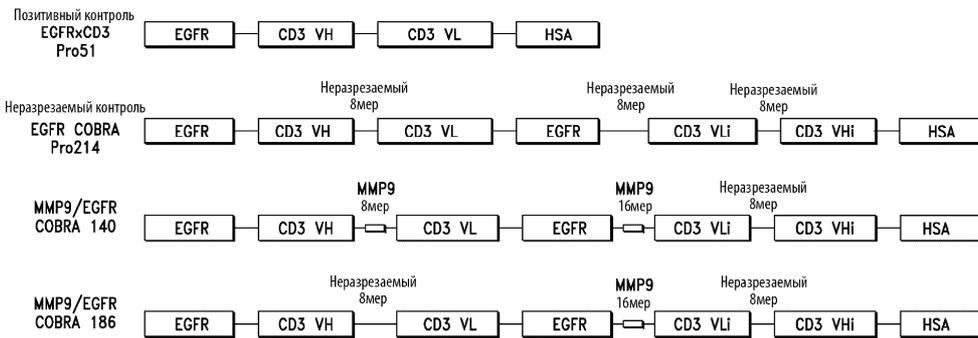
1600x { } 18x

Фиг. 32

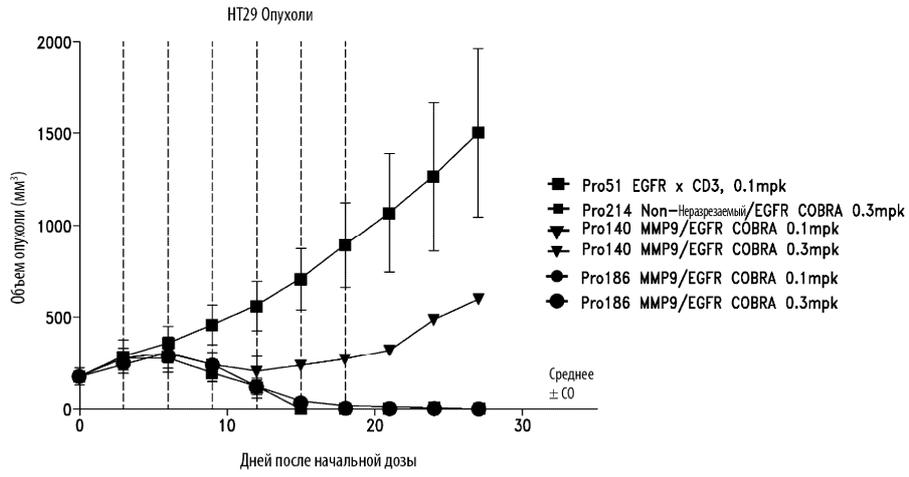


Фиг. 33

Группы:



Фиг. 34



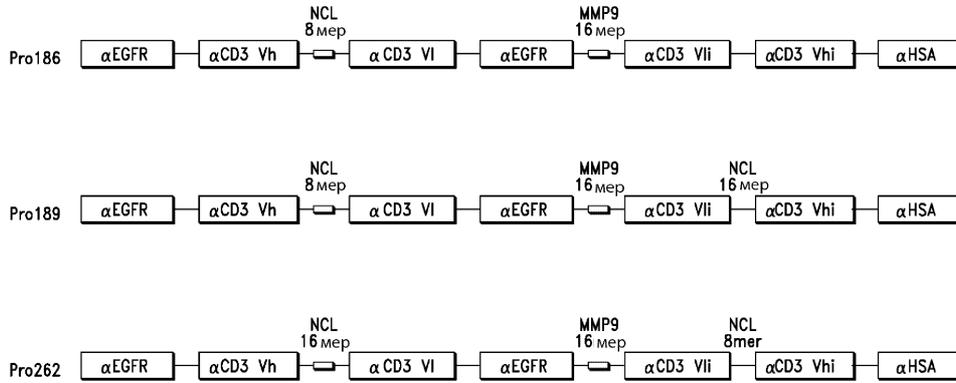
Фиг. 35

Pro186

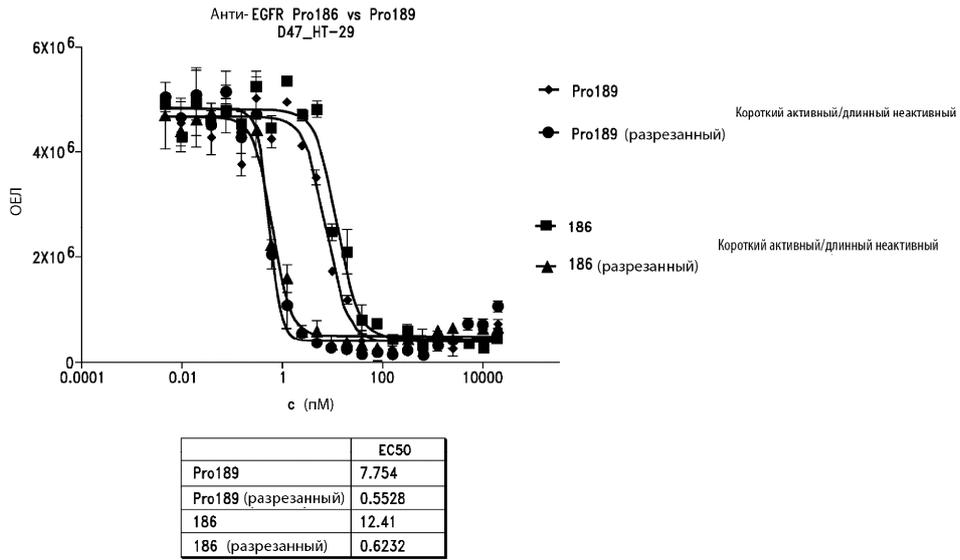


Pro	BS1	DL1	CD3VI-	BS2	AL	DL2	CD3Vh-
393	EGFR2 Vh	NCL-8	VI	EGFR2	S9	Vii NCL-8	Vhi alphaHSA
394	EGFR2 Vh	NCL-8	VI	EGFR2	ST14(MV)	Vii NCL-8	Vhi alphaHSA
395	EGFR2 Vh	NCL-8	VI	EGFR2	Caths	Vii NCL-8	Vhi alphaHSA
396	EGFR2 Vh	NCL-8	VI	EGFR2	MMP9v	Vii NCL-8	Vhi alphaHSA
429	EGFR2 Vh	NCL-8	VI	EGFR2	Mep/GranB	Vii NCL-8	Vhi alphaHSA
430	EGFR2 Vh	NCL-8	VI	EGFR2	MMP9-2	Vii NCL-8	Vhi alphaHSA
431	EGFR2 Vh	NCL-8	VI	EGFR2	ST14(MS)	Vii NCL-8	Vhi alphaHSA

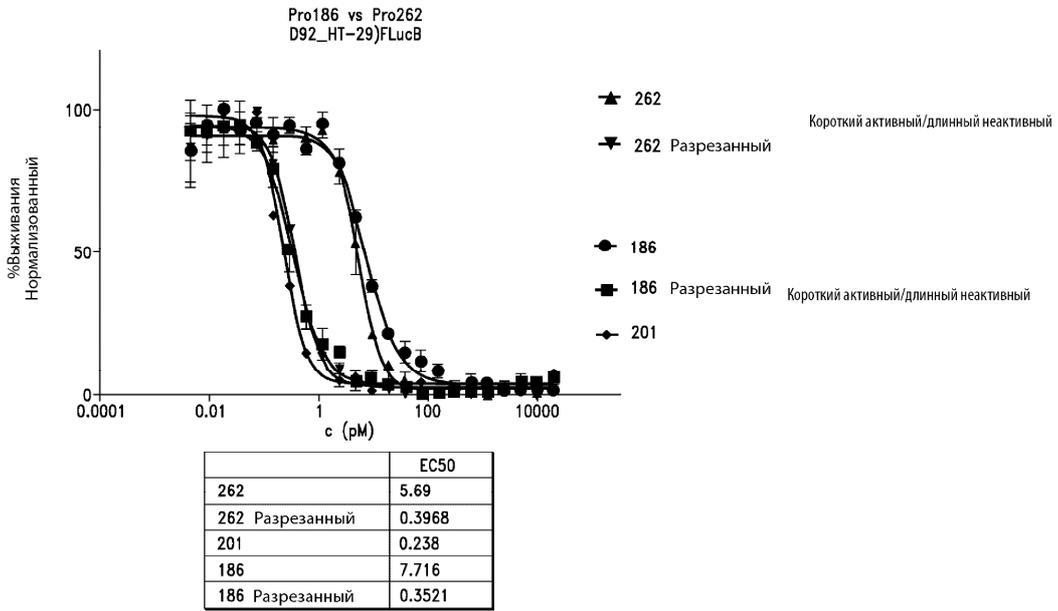
Фиг. 36



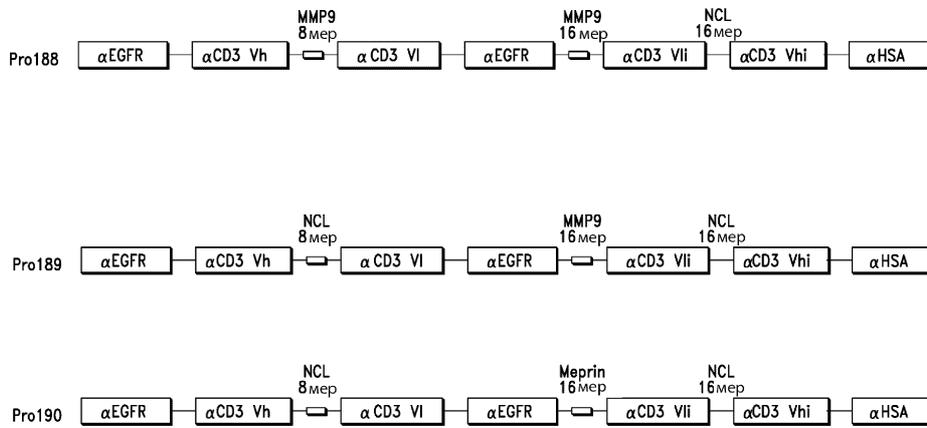
Фиг. 37



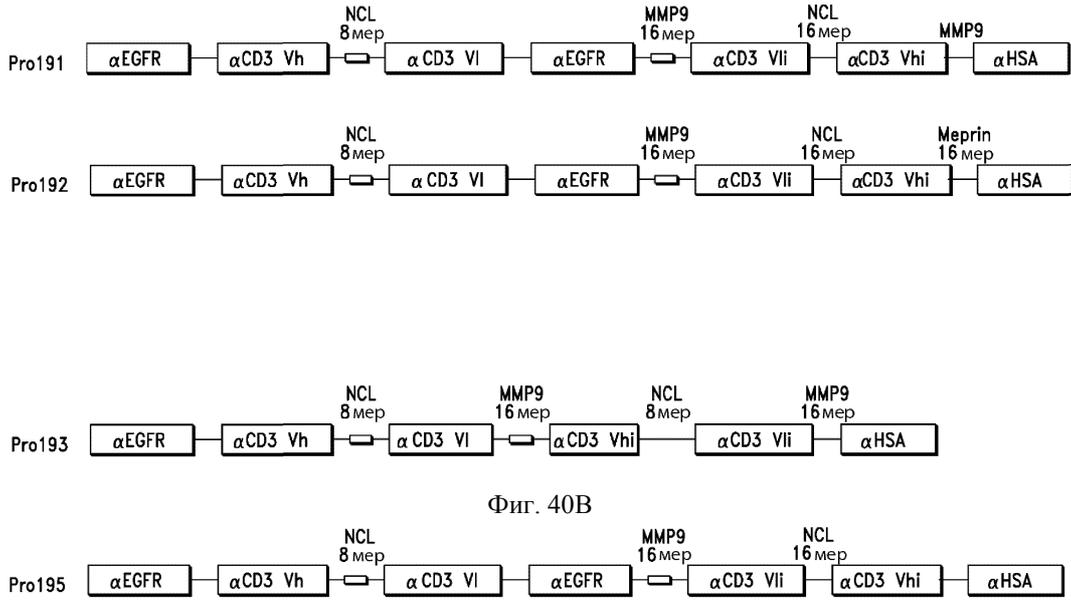
Фиг. 38



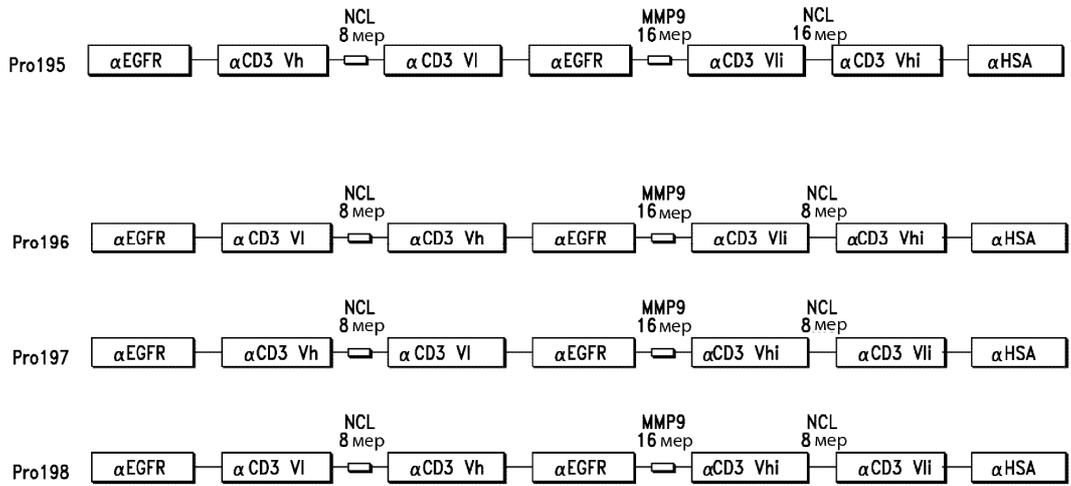
Фиг. 39



Фиг. 40А



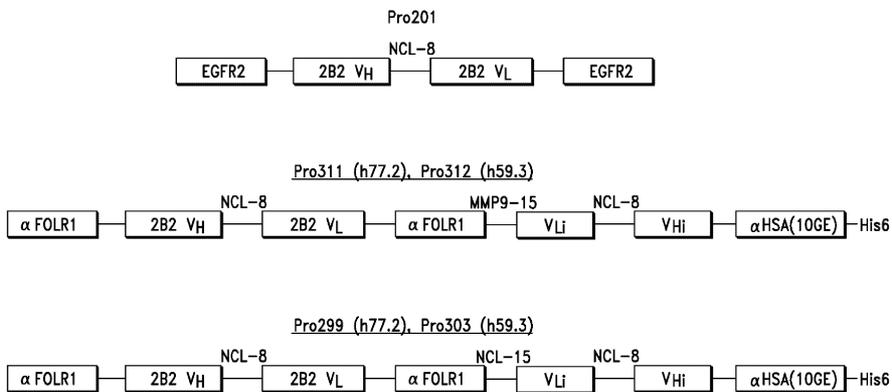
Фиг. 40B



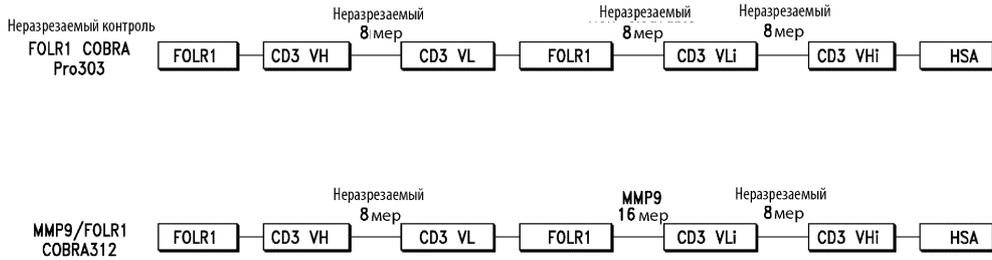
Фиг. 40C

одАт		Связывание белка: K_D (нМ)			Клеточное связывание:		TDCC EC_{50} (нМ)	
MVK ID	Семейство	Человек	Резус	Мышь	Человек	Резус	IGROV1	OVAR8
77-2	2	2	3	7	+++	+++	2	0.2
59-3	3	15	53	NB	+++	+++	30	6
22-4	4	2	11	NB	+++	+++	8	1
Pro51							41	2

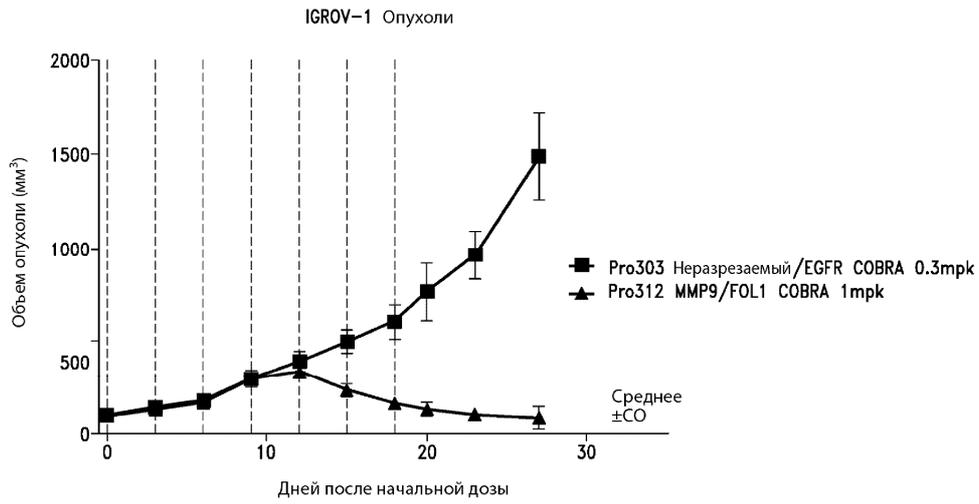
Фиг. 41



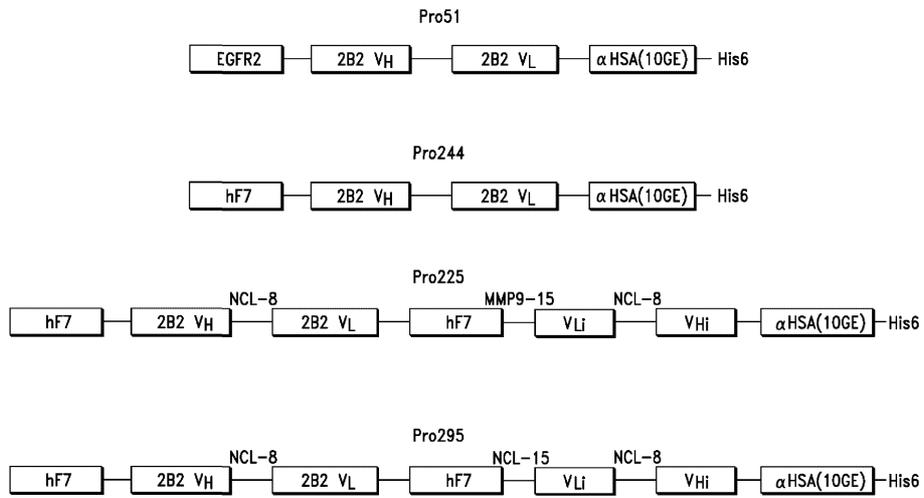
Фиг. 42



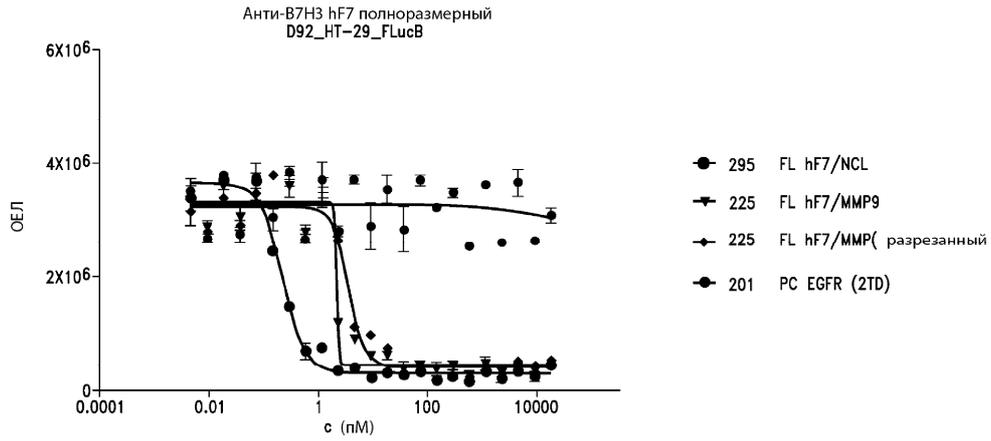
Фиг. 43



Фиг. 44



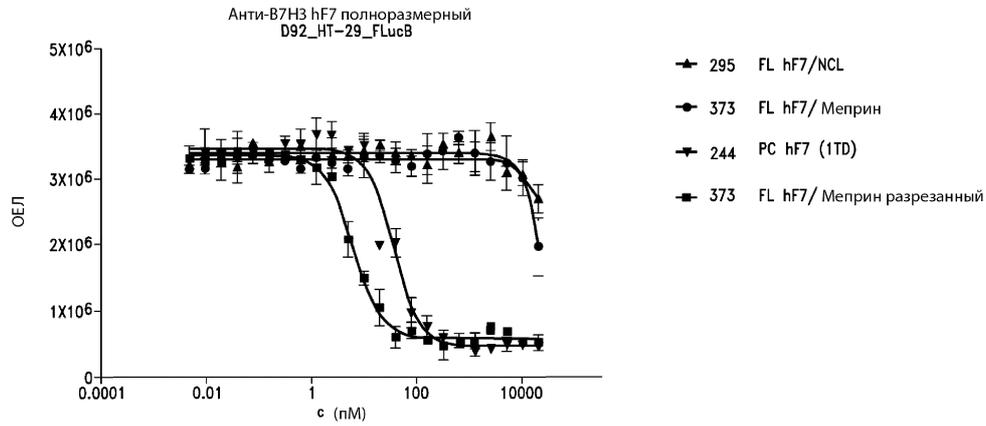
Фиг. 45



	EC50
225	~2.313
225 Разрезанный	3.757
295	8497
201	0.2374

} 2000x

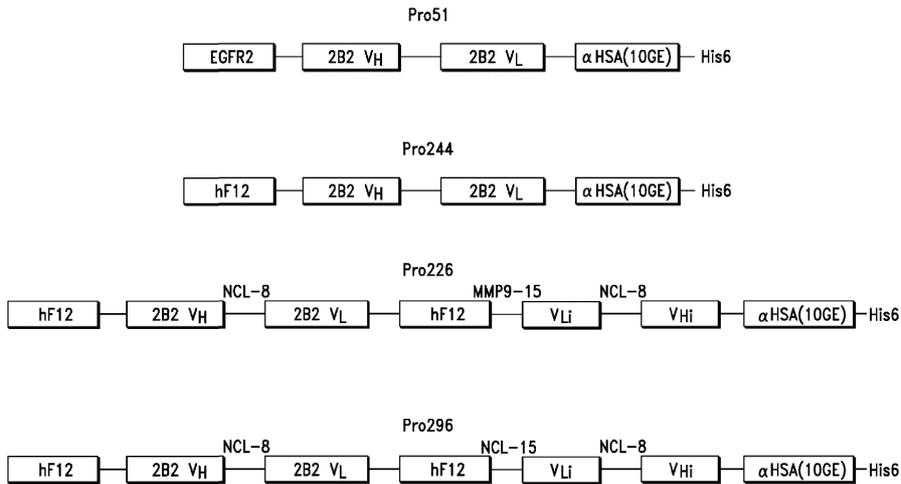
Фиг. 46



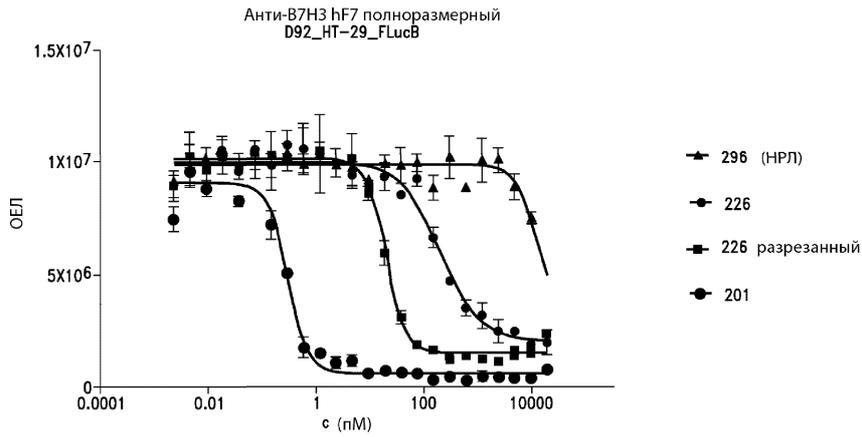
	EC50
373	~29872
373 Разрезанный	6.038
295	13371
244	35.63

} 5000x

Фиг. 47



Фиг. 48



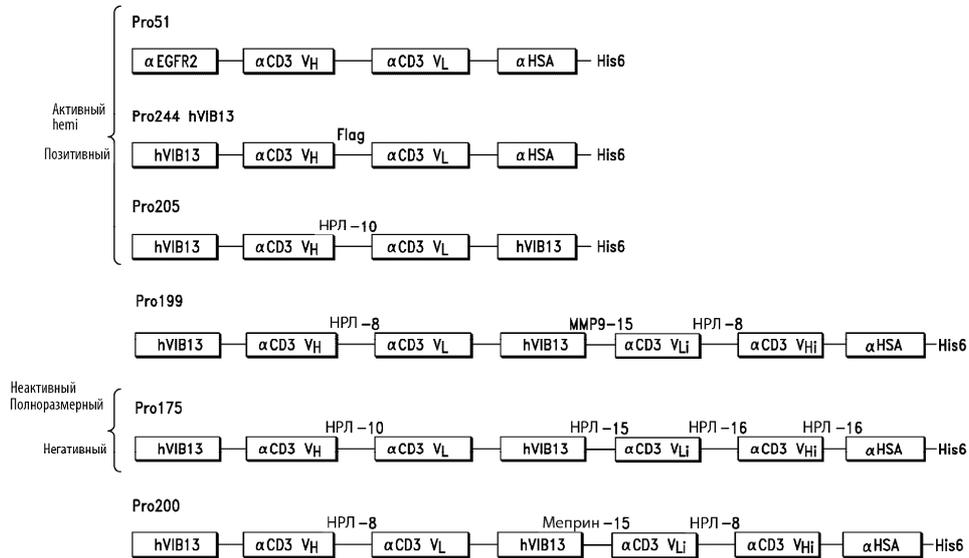
	EC50
226	211.7
226 разрезанный	20.3
296 (НРЛ)	13075
201	0.3082

Фиг. 49

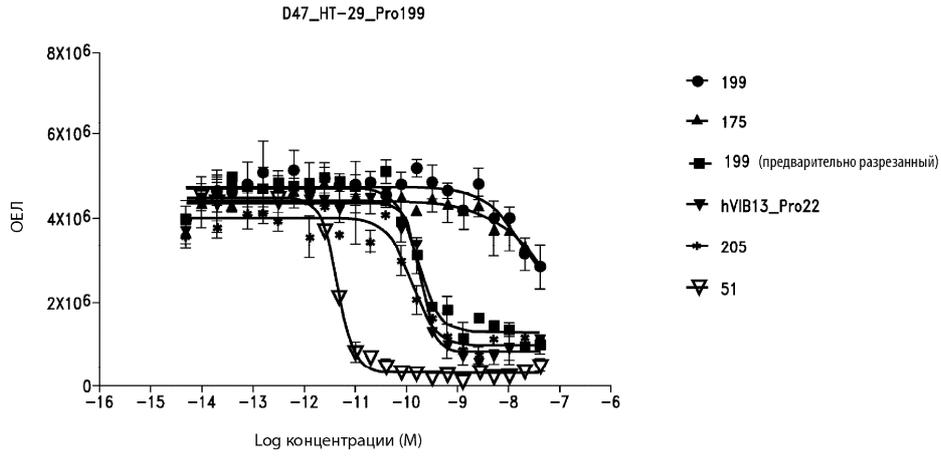
Аффинность связывания (нМ) Перекрестная реактивность

Клон	Человек	Яванский макак	Яванский макак/Человек
VIB-13	2.3	11.6	5
hVIB-13	2.8	12.7	4.5
VIB-23	4.2	46.7	11.1
hVIB-23	4.1	51.8	12.6

Фиг. 50



Фиг. 51

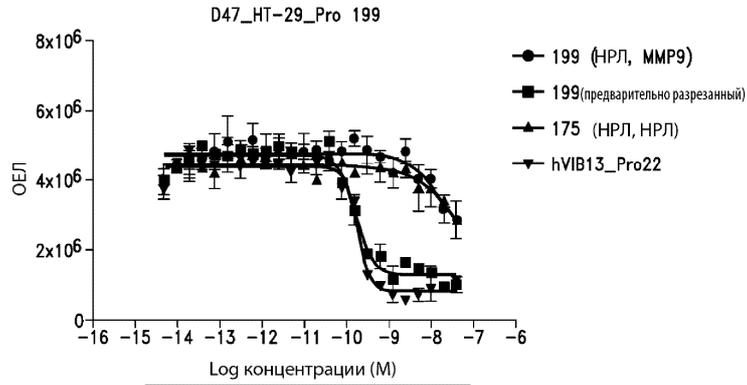


Конструкция	EC50 (нМ)
199	
199разрезанный	164.60
175	
hVIB13_Pro22	184.40
51	4.54
205	123.2

40x ↓

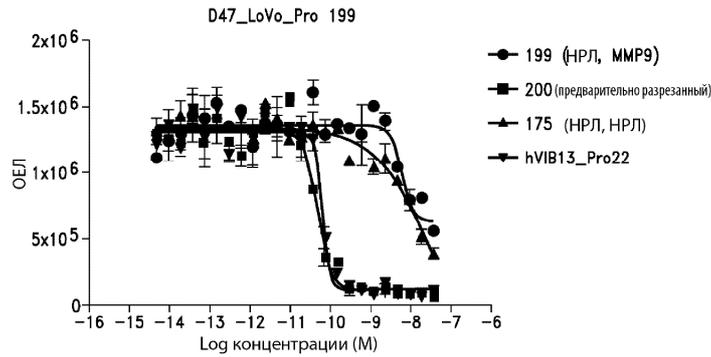
>100x

Фиг. 52



Конструкция	EC50
199 (НРЛ, ММР9)	1.657e-008
199 (предварительно разрезанный)	1.646e-010
175 (НРЛ, НРЛ)	7.461e-008
hVIB13_Pro22	1.844e-010

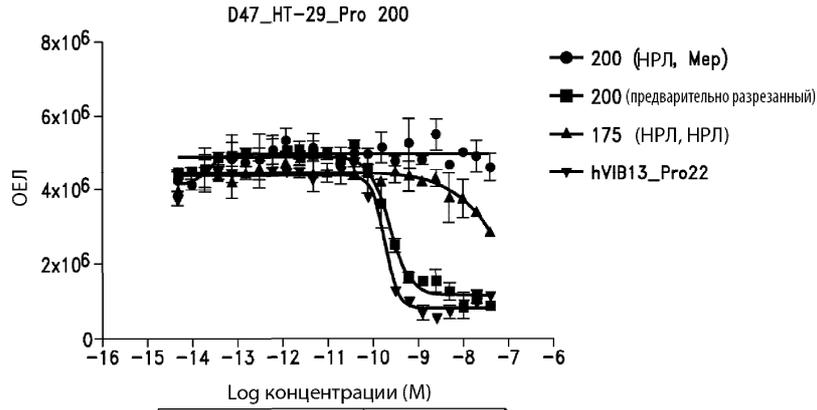
Фиг. 53А



Конструкция	EC50
199 (НРЛ, ММР9)	6.344e-009
199 (предварительно разрезанный)	4.912e-011
175 (НРЛ, НРЛ)	3.882e-008
hVIB13_Pro22	6.75e-011

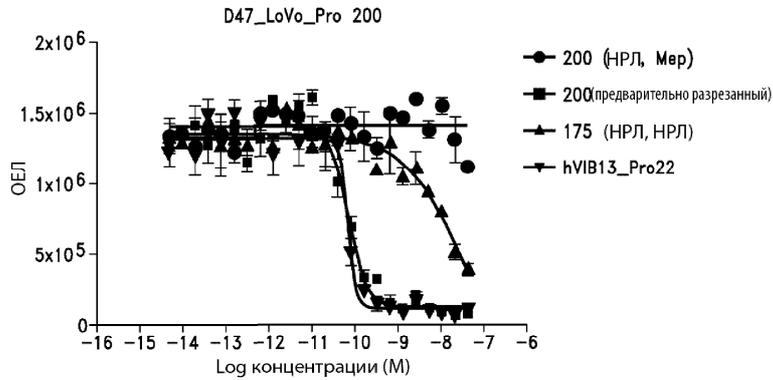
Фиг. 53В

045012



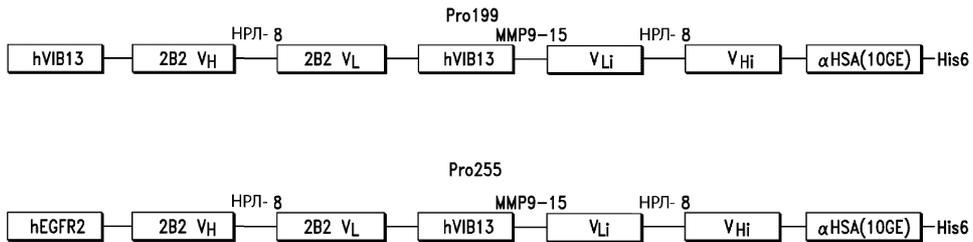
	EC50
200 (НРЛ, Мер)	2.256e-014
200 (предварительно разрезанный)	2.343e-010
175 (НРЛ, НРЛ)	7.461e-008
hVIB13_Pro22	1.844e-010

Фиг. 54А



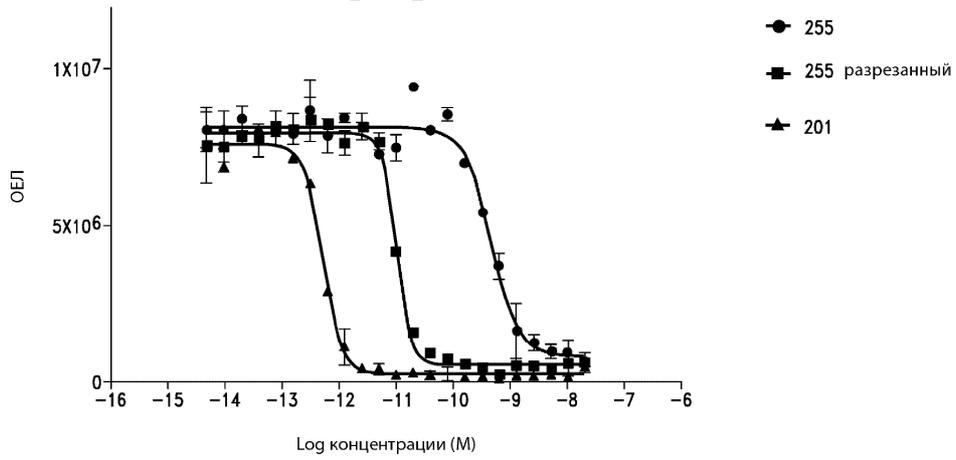
	EC50
200 (НРЛ, MMP9)	~4.648e-013
200 (предварительно разрезанный)	6.76e-011
175 (НРЛ, НРЛ)	3.882e-008
hVIB13_Pro22	6.75e-011

Фиг. 54В



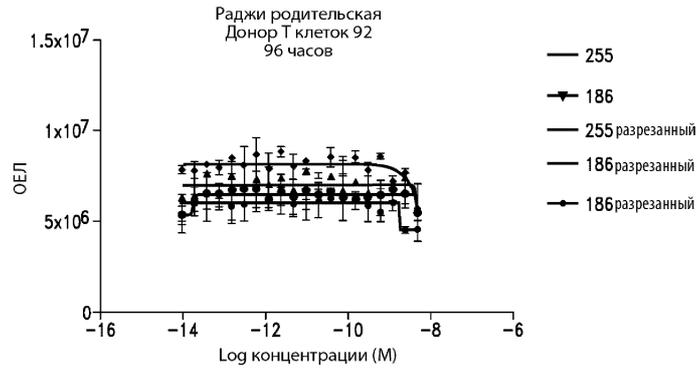
Фиг. 55

Анти-EGFR и анти-EpCAM гетерологичный полноразмерный Pro 255
D47_HT-29_FLucB

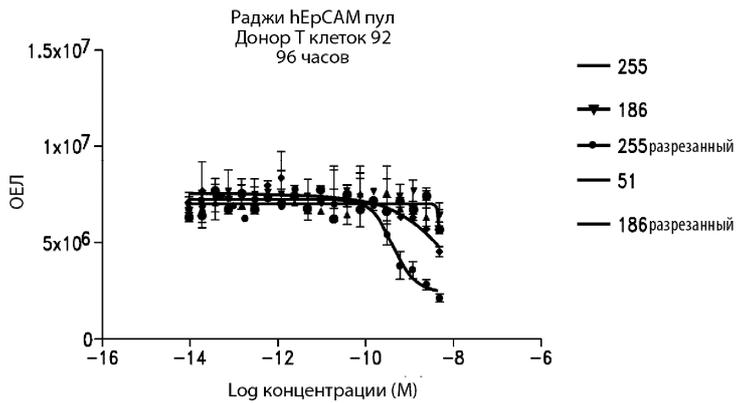


Конструкция	EC50 (nM)
255	461.50
200разрезанный	10.08
201	0.52

Фиг. 56



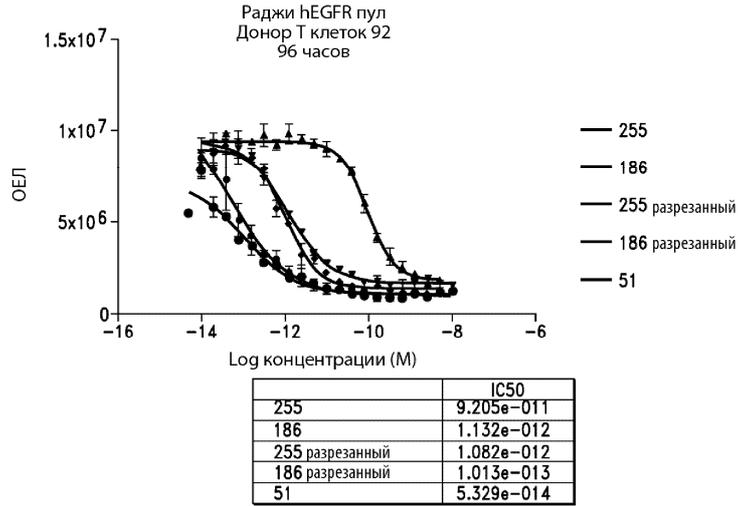
Фиг. 57А



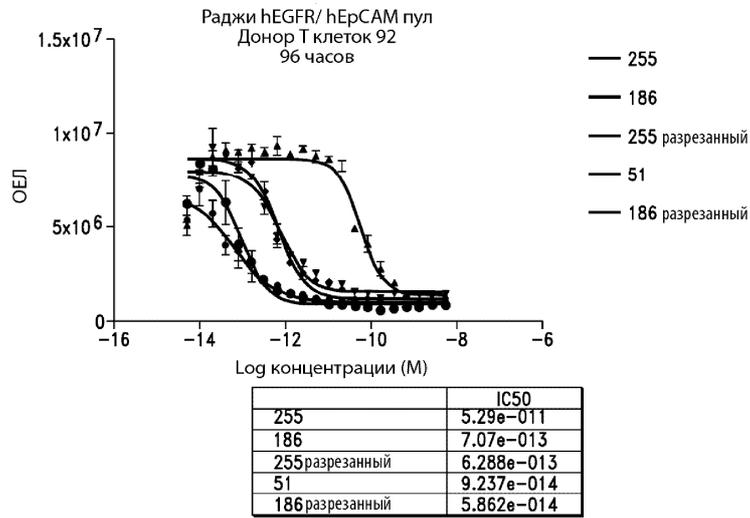
	IC50
255	$\sim 4.612e-009$
255 разрезанный	$4.462e-010$

Фиг. 57В

045012

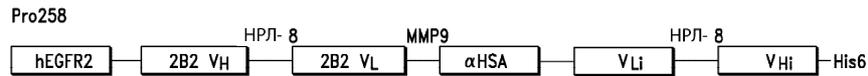


Фиг. 57С



Фиг. 57D

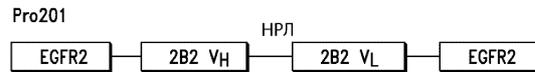
- Одноцелевая COBRA



- αEGFR Позитивный контроль

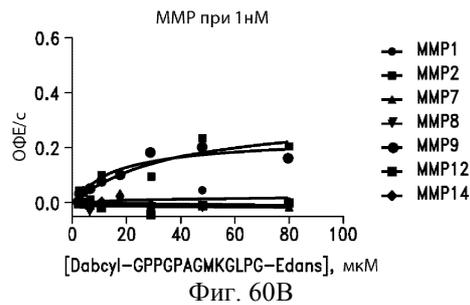
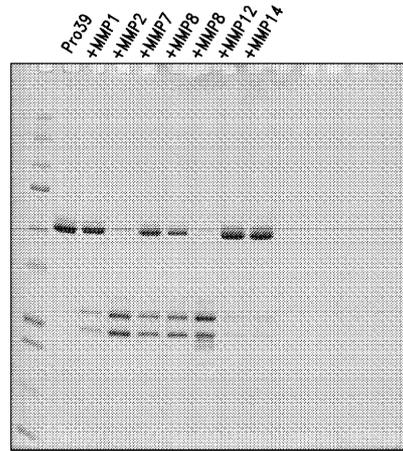
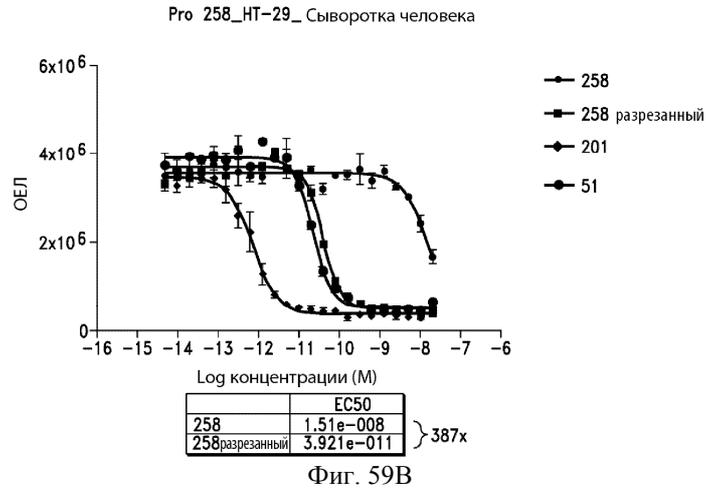
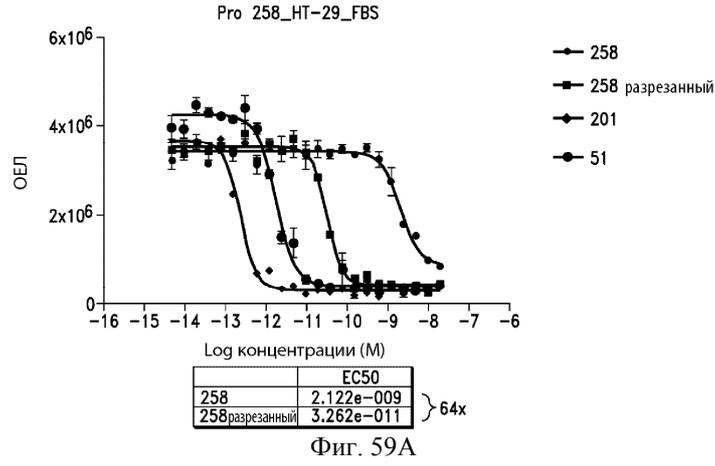


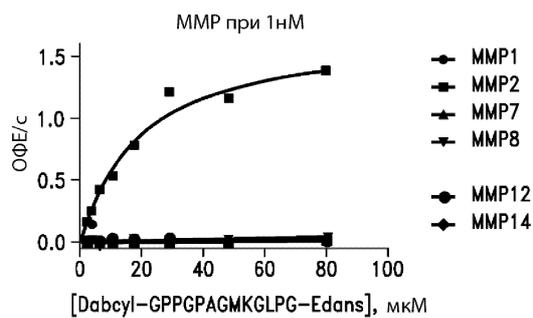
- Активный домен Pro186



Фиг. 58

045012





Фиг. 60С

Формат 2

- Pro186 – EGFR2/MMP9 (aEGFR),
- Pro225 – hF7/MMP9 (aB7H3)
- Pro226 – hF12/MMP9 (aB7H3)
- Pro233 – hEGFR2/MMP9 (aEGFR)
- Pro311 – h77.2/MMP9 (aFOLR1)
- Pro312 – h59.3/MMP9 (aFOLR1)
- Pro313 – h22.4/MMP9 (aFOLR1)
- Pro495 – hF7 MMP9 Vli2 + Vhi2 (aB7H3)

Формат 2 - гетерологичный

- Pro246 – hEGFR1/hEGFR2 MMP9 (aEGFR)
- Pro254 – hEGFR2/hEGFR1 MMP9 (aEGFR)
- Pro255 – hEGFR2/h13 MMP9 (aEGFR/aEpCAM)
- Pro256 – h13/hEGFR2 MMP9 (aEpCAM/aEGFR)
- Pro420 – h77.2/hEGFR2 MMP9 (aFOLR1/aEGFR)
- Pro421 – hEGFR2/h77.2 MMP9 (aEGFR/aFOLR1)
- Pro432 - h13/hEGFR1 MMP9 (aEpCAM/aEGFR)
- Pro479 – hF7/hF12 MMP9 (aB7H3)
- Pro480 – hF12/hF7 MMP9 (aB7H3)

Двунацеленные Непi (Format 3)

- Pro448 – h77.2/hEGFR2 MMP9 VH (aFOLR1/aEGFR)
- Pro449 – hEGFR2/h77.2 MMP9 VH (aEGFR/aFOLR1)
- Pro450 – h77.2/hEGFR2 MMP9 VL (aFOLR1/aEGFR)
- Pro451 – hEGFR2/h77.2 MMP9 VL (aEGFR/aFOLR1)

Фиг. 61А

Формат 1

Pro140 – EGFR2 MMP9 (aEGFR)
 Pro140b – EGFR2 Меприн (aEGFR)

Формат 2-варианты с разрезаемым линкером

Pro187 – EGFR2/Меприн (aEGFR)
 Pro221 – EGFR2/KLK7-6 (aEGFR)
 Pro222 – EGFR2/KLK7-13 (aEGFR)
 Pro223 – EGFR2/KLK7-11 (aEGFR)
 Pro224 – EGFR2/KLK7-10 (aEGFR)
 Pro393 – EGFR2/S9 (aEGFR)
 Pro394 – EGFR2/ST14MV (aEGFR)
 Pro395 – EGFR2/CathS (aEGFR)
 Pro396 – EGFR2/MMP9v (aEGFR)
 Pro429 – EGFR2/Меприн/GranzymeB (aEGFR)
 Pro430 – EGFR2/MMP9-2 (aEGFR)
 Pro431 – EGFR2/ST14MS (aEGFR)

Формат 4

Pro258 – hEGFR2 MMP9 (aEGFR)
 Pro356 – hEGFR1 MMP9 (aEGFR)
 Pro359 – hF7 MMP9 (aB7H3)
 Pro388 – h77.2 MMP9 (aFOLR1)
 Pro364 – h59.3 MMP9 (aFOLR1)

Фиг. 61B

Pro140 (Формат 1)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFV**S****GISWRGDST**
GYADSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMN**SL**KPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQG
 TQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQP**GGSLKLS**CAAS**GFTFNKYAIN**WWRQAPGK
 GLEW**VARIRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMN**NL**KTEDTAVYYC**VRHAN**
FGNSYISYWAYWGQGT**LVTVSS**/**GPAGMKGL**/QTVVTQEP**SLTVSPGGT**VT**LTCA****ASSTGA**
VTSGNYPNW**WQ**KPGQAP**RGLIGG****TKFLVP**GT**PARFSG**LLGGKAAL**TL**SGVQ**PEDEAE**
 YYC**TLWYSNRWV**FGG**G**TK**LV**L/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQ**TGGSLRLTCAASGR**
TSRSYGMGWFRQAPGKEREFV**S****GISWRGDSTGYADSVKGR**FTISRDNAKNTVDLQMN**SL**
 KPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVV
 TQEP**SLTVSPGGT**VT**LTCS****GSSTGAVTSGNYPN**W**WQ**KPGQAP**RGLIGD****YKDDDDK**GT**PA**
 RFSG**LLGGKAAL**TL**SGVQPEDEAE**YYC**VLWYSNRWV**FGG**G**TK**LV**L/**GGGSGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQP**GGSLKLS**CAAS**GFTFNKYAMN**WWRQAPG**GLEWVARIRSKYDYKDDD**
DKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN**NL**KTEDTAVYYC**VRHGNFGNSYISYWAY**WGQGT
 LTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQP**GNLRLS**CAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPG
 KGLEW**WSISGSGRD**TL**YAESVKGR**FTISRDNAK**T**TL**YLQMN**SLRPEDTAVYYCT**IGGSL**
VSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO:143)

Pro140b Формат 1

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFV**S****GISWRGDST**
GYADSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMN**SL**KPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQG
 TQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQP**GGSLKLS**CAAS**GFTFNKYAIN**WWRQAPGK
 GLEW**VARIRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMN**NL**KTEDTAVYYC**VRHAN**
FGNSYISYWAYWGQGT**LVTVSS**/**KKLADEPE**/QTVVTQEP**SLTVSPGGT**VT**LTCA****ASSTGAV**
TSGNYPNW**WQ**KPGQAP**RGLIGG****TKFLVP**GT**PARFSG**LLGGKAAL**TL**SGVQ**PEDEAE**
 Y**YCTLWYSNRWV**FGG**G**TK**LV**L/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQ**TGGSLRLTCAASGRT**
SRSYGMGWFRQAPGKEREFV**S****GISWRGDSTGYADSVKGR**FTISRDNAKNTVDLQMN**SL**
 PEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**GGGSKKLADEPEGGGS**/QTVVT
 QEP**SLTVSPGGT**VT**LTCS****GSSTGAVTSGNYPN**W**WQ**KPGQAP**RGLIGD****YKDDDDK**GT**PAR**
 FSG**LLGGKAAL**TL**SGVQPEDEAE**YYC**VLWYSNRWV**FGG**G**TK**LV**L/**GGGSGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQP**GGSLKLS**CAAS**GFTFNKYAMN**WWRQAPG**GLEWVARIRSKYDYKDDDD**
KADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN**NL**KTEDTAVYYC**VRHGNFGNSYISYWAY**WGQGT
 LTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQP**GNLRLS**CAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPGK
 GLEW**WSISGSGRD**TL**YAESVKGR**FTISRDNAK**T**TL**YLQMN**SLRPEDTAVYYCT**IGGSL**
VSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO:144)

Фиг. 62A

Pro186 Формат 2

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GR**TSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQG
 TQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WWRQAPGK
 GLEWWAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HAN**
FGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCA**ASSTGA**
VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVPQPEDEAE
 YYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GR**
TSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST**GYADSVKGR**FTISRDNAKNTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVV
 TQEPSTVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPA
 RFSGSLLGGKAALTLGVPQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WWRQAPGKLEWWAR**IRSKYDYKDD**
DKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGT
 LVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPG
 KLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCT**IGGSL**
 VSSQGTTLVTVSS (SEQ ID NO:145)

Pro187 Формат 2

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GR**TSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQG
 TQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WWRQAPGK
 GLEWWAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HAN**
FGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCA**ASSTGA**
VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVPQPEDEAE
 YYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GR**
TSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST**GYADSVKGR**FTISRDNAKNTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**GGGSKLADEPEGGGS**/QTVV
 TQEPSTVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPA
 RFSGSLLGGKAALTLGVPQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WWRQAPGKLEWWAR**IRSKYDYKDD**
DKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGT
 LVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPG
 KLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCT**IGGSL**
 VSSQGTTLVTVSS (SEQ ID NO:146)

Фиг. 62B

Pro225 (FL aB7H3 hF7 MMP9 линкер) Формат 2

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSR**RT**FHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGST
VYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCA**AGGATTQRATEASYDY**WGQG
 TLVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WWRQAPGK
 GLEWWAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HAN**
 FGNSYISYWAYWGQGTTLVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCA**ASSTGA**
 VTS**GNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVPQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSR**RT**
FHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGST**VYADSVKGR**FTISRDNKNTLYLQMNLSR
 AEDTAVYYCA**AGGATTQRATEASYDY**WGQGTTLVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVT
 QEPSTVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPAR
 FSGSLLGGKAALTLGVPQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WWRQAPGKLEWWAR**IRSKYDYKDDDDK**
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGT
 LVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPGKGL
 EWWSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCT**IGGSL**
 VSSQGTTLVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:147)

Pro226 (FL aB7H3 hF12 MMP9 линкер) Формат 2

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**PRT**FSTYSMAWFRQAPGKERSFVA**AIN**WSSGGNTS
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCA**AGGVLAHHNYEYDY**WGQGT
 LVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WWRQAPGKLEW
 VAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HAN**FGNS
 YISYWAYWGQGTTLVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCA**ASSTGAVTSG**
 NYPNWVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVPQPEDEAEYYCTL
 WYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**PRT**FSTY
SMAWFRQAPGKERSFVA**AIN**WSSGGNTS**YADSVKGR**FTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTA
 VYYCA**AGGVLAHHNYEYDY**WGQGTTLVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTV
 SPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLG
 GKAALTLGVPQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGL
 VQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WWRQAPGKLEWWAR**IRSKYDYKDDDDK**ADSVKDR
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGTTLVTVSS/**GGG**
SGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPGKLEWVSS**SIS**
GSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCT**IGGSL**VSSQGTTLVTV
 SS/HHHHHH (SEQ ID NO:148)

Фиг. 62C

Pro233(гуманизированный Pro 186)Формат 2

QVKLVESGGGVVVRPGLSLLTSCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREVSVGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQG
 TLVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
 GLEWWARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHAN
 FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTA
 VTSNGYNPWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLVESGGGVVVRPGLSLLTSCAASGRT
 SRSYGMGWFQRAPGKEREVSVGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSR
 AEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVT
 QEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTA
 VTSNGYNPWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWWARIRSKYDYKDDDDK
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVT
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
 EWWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:149)

Pro311 (FL aFOLR1 h77.2 MMP9 линкер)Формат 2

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNREFVAIINSIGITNYAD
 SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYVCNRFDRYWGQGLTVTVSS/**GGGSGG
 GS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKGLEWWARIRSKYNN
 YATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQ
 GTLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTA
 VTSNGYNPWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPG
 NEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYVCNRFDRYWG
 QGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTA
 VTSNGYNPWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCV
 LWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY
 AMNWRQAPGKGLEWWARIRSKYDYKDDDDK
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLK
 TEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGL
 TVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
 PGNLSRLS
 CAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:150)

Фиг. 62D

Pro312 (FL aFOLR1 h59.3 MMP9 линкер)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAPGNTFISAMGWYRQAPGKQREWAVTHSDYSTN
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCKHYGIDYWGQGLTVTVSS/**GGGS
 GGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKGLEWWARIRSKY
 NNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYW
 GQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTA
 VTSNGYNPWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
 CAAPGNTFISAMGWYRQAPGKQREWAVTHSDYSTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCKHYG
 IDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTA
 VTSNGYNPWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWWARIRSKYDYKDDDDK
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLK
 TEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGL
 TVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGL
 VQPGNSLRLS
 CAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:151)

Pro313 (FL aFOLR1 h22.4 MMP9 линкер)Формат 2

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGTTFSRDVMGWYRQAPGKQRELVAIISRGGSTNY
 ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCNANATWGRVFWGQGLTVTVSS/**G
 GSGGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKGLEWWARIR
 SKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYW
 AYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTA
 VTSNGYNPWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASGTTFSRDVMGWYRQAPGKQRELVAIISRGGSTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCNAN
 ATWGRVFWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCA
 ASSTA
 VTSNGYNPWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLVSGVQ
 PEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLS
 CAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWWARIRSKYDYKDDDDK
 ADSVKDRFTISRDDSKN
 TAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QL
 VESGGGLVQPGNSLRLS
 CAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:152)

Фиг. 62E

Pro246 (FL haEGFR1/haEGFR2 гетерологичный COBRA with MMP9 линкер)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTSSYAMGWFRQAPGKEREFVVAINWSSGSTY
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGYQINSGNYNFKDYEDYWGQ
 GTLTVTVSS/**GGSGGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPG
 KGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHA
 NFGNSYISYWAYWGQGTTLTVTVSS/**GGSGGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTG
 AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAE
 YYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGSGGGGS**/QVKLVESGGGVVPRGGSLTSCAASGR
 TRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLS
 RAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTTLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVV
 TQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGSGGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDD
 KADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT
 LTVTVSS/**GGSGGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWRQAPGK
 LEWSSISGSGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTTLTVTVSS/HHHHH (SEQ ID NO:153)

Pro256 (FL haEpCAM VIB13/haEGFR1 гетерологичный COBRA MMP9 линкер)

QVQLVESGGGLVQPGGSLTSCAASGTGSIFINLMGWYRQAPGKQRELVARITSGDSTV
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCNLLLRSSPGATTPYWGQGTTLTV
 TVSS/**GGSGGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKLEW
 VARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSY
 ISYWAYWGQGTTLTVTVSS/**GGSGGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGN
 YPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCT
 LWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGSGGGGS**/QVKLVESGGGVVPRGGSLTSCAASGRTRSYGM
 GWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTAL
 YCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTTLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTL
 TVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGSGGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDR
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVTVSS/**GGG
 SGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWRQAPGKLEWSSIS
 GSGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGTTLTV
 TVSS/HHHHH (SEQ ID NO:154)

Фиг. 62F

Pro420 (FL aFOLR1 h77.2/haEGFR1 гетерологичный COBRA MMP9 линкер)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYAD
 SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCNRNFDRIYWGQGTTLTVTVSS/**GGSGGG
 GS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKLEWVARIRSKYNN
 YATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQ
 GTLTVTVSS/**GGSGGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQK
 PGPQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCTLWYSNRWVFGG
 GTKLTTLV/**GGSGGGGS**/QVKLVESGGGVVPRGGSLTSCAASGRTRSYGMGWFRQAPG
 KEREFEVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGS
 AWYGTLYEYDYWGQGTTLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTL
 TCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGSGGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDR
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVTVSS/**GGGGSGGGGS**
 /EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWRQAPGKLEWSSISGSGRDTL
 YAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGTTLTVTVSS/HHHHH
 H (SEQ ID NO:155)

Pro421 (FL haEGFR1/aFOLR1 h77.2 гетерологичный COBRA MMP9 линкер)

QVKLVESGGGVVPRGGSLTSCAASGRTRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQ
 GTLTVTVSS/**GGSGGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
 LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHAN
 FGNSYISYWAYWGQGTTLTVTVSS/**GGSGGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGA
 VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGSGGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT
 VSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDT
 AVYYCNRNFDRIYWGQGTTLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTV
 TCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGSGGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDR
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVTVSS/**GGGGSGGGGS**
 /EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWRQAPGKLEWSSISGSGRDTL
 YAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGTTLTVTVSS/HHHHH
 H (SEQ ID NO:156)

Фиг. 62G

Pro393 (Pro186 S9 линкер)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
 LEWWARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
 GNSYISYWAYWGQGLTVLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY
 CTLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
 RSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GARLQSAAPAGLKGAG**/QTVVT
 QEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPAR
 FSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWWWRQAPGKLEWWARIRSKYDYKDDDDK
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
 EWWSSISGSGRDTLTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:157)

Pro394 (Pro186 ST14(MV) линкер)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
 LEWWARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
 GNSYISYWAYWGQGLTVLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY
 CTLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
 RSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSTRQARVWGGGS**/QTVVT
 QEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPAR
 FSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWWWRQAPGKLEWWARIRSKYDYKDDDDK
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
 EWWSSISGSGRDTLTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:158)

Фиг. 62H

Pro395 (Pro186 CathS линкер)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
 LEWWARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
 GNSYISYWAYWGQGLTVLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY
 CTLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
 RSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGARLQSAAPGGGS**/QTVVT
 QEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPAR
 FSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWWWRQAPGKLEWWARIRSKYDYKDDDDK
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
 EWWSSISGSGRDTLTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:159)

Pro396 (Pro186 MMP9v линкер)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
 LEWWARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
 GNSYISYWAYWGQGLTVLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY
 CTLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
 RSYGMGWFQRAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GSGGPGPAGMHGLPGGS**/QTVV
 TQEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPA
 RFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWWWRQAPGKLEWWARIRSKYDYKDDDD
 KADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
 TVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
 LEWSSISGSGRDTLTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:160)

Фиг. 62I

Pro 429 (Pro186 Меприн/Гранзим В линкер)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
 LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
 GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
 CTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
 RSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGVYADSLLEDGGGS**/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCSGSGTAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLV
 ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKA
 DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVT
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLE
 WSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSSQ
 GTLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:161)

Pro430 (Pro186 MMP9-2линкер)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
 LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
 GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
 CTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
 RSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGPAGLKGAPGS**/QTVVTQ
 PSLTVSPGGTVTLTCSGSGTAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLV
 ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKA
 DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVT
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLE
 WSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSSQ
 GTLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:162)

Фиг. 62J

Pro431 (Pro186 ST14(MS)линкер)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
 LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
 GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
 CTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
 RSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSLSGRSDNHGGGS**/QTVVT
 QEPSTVSPGGTVTLTCSGSGTAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKA
 ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVT
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
 EWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:163)

Pro258 (Pro186 с единичным аEGFR доменом и центральным аЧА доменом)

QVKLVESGGGVVRPGLSLTSCAASGRTRSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNKNTSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
 TLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
 GLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHAN
 FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTGA
 VTSNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
 YCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**SGGGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYL
 QMNLSRPEdTAVYYCTIGGSLSVSSQGTLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPG
 GTVTLTCSGSGTAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLV
 ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTIS
 RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/HHHHHH
 (SEQ ID NO:164)

Фиг. 62K

Pro221

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASGTAV
TSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
CTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
RSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
EDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGQNPYSAGRGGGS**/QTVVT
QEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDK
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
EWWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEDEAVYYCTIGGSLSVSS
QGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:165)

Pro222

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASGTAV
TSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
CTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
RSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
EDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGQNPYSAGGGSGG**/QTVVT
QEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDK
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
EWWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEDEAVYYCTIGGSLSVSS
QGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:166)

Фиг. 62L

Pro223

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASGTAV
TSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
CTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
RSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
EDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGRNVSAGGGSGG**/QTVVT
QEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDK
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
EWWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEDEAVYYCTIGGSLSVSS
QGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:167)

Pro224

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
QVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKG
LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANF
GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCAASGTAV
TSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
CTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
RSYGMGWFQRAPGKEREFEVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSK
EDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGQNTWSAGKGGGS**/QTVVT
QEPSTLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQL
VESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDK
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGL
EWWSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNLSRPEDEAVYYCTIGGSLSVSS
QGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:168)

Фиг. 62M

Pro254

QVKLVESGGGVVPRGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFQAPGKEREFVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQG
TLVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
GLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHAN
FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTGA
VTSNGYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGRT
FSSYAMGWFRQAPGKEREFVAINWSSGSTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRA
EDTAVYYCAAGYQINSNGYNFKDYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVV
TQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPTA
RFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQ
LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDD
KADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
TVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGK
LEWSSISGSGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSS
QGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:169)

Pro255

QVKLVESGGGVVPRGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFQAPGKEREFVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQG
TLVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
GLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHAN
FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTGA
VTSNGYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEY
YCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLTSCAASGTG
SIFINLMGWYRQAPGKQRELVARITSGDSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSR
EDTAVYYCNLLRSPGATTPYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPST
VSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPTARFSGS
LGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGG
GLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**G
GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWWS
SISGSGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTV
TVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:170)

Фиг. 62N

Pro262

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFQAPGKEREFVSGISWRGDST
GYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNLSKPEDTAYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGT
QTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
LEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHANF
GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLT
CASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQ
PEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLT
CAASGRTSRSYGMGWFQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNTVD
LQMNLSKPEDTAYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPG
S**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDD
KGTPTARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGG
GS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYD
YKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW
GQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWWR
QAPGKLEWWSISGSGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIG
GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:171)

Pro356

EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAINWSSGSTY
YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGYQINSNGYNFKDYEYDYWGQ
GTLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPG
KLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHA
NFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTG
AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAE
YYCTLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**SGGPGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLR
SCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWWSISGSGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLY
LQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPG
GTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPTARFSGSLLGGKA
ALTLVSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
PGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTIS
RDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/HHHHHH
(SEQ ID NO:172)

Фиг. 62O

Pro359

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGST
VYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGG
TLVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
GLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHAN
FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CASSTGA
VTSNGYNPNWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEY
YCTLVYSNRWVFGGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSL
CAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYL
QMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP SLTVSPG
GTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKA
ALTL SGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTIS
RDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/HHHHHH
(SEQ ID NO:173)

Pro364

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAAPGNTFISAMGWYRQAPGKQREWAVTHSDYSTN
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKHYGIDYWGQGLTVTVSS/**GGGS**
GGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKLEWVARIRSKY
NNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYW
GQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNYPNWWQQ
KPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCTLVYSNRWV
GGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGM
SWWRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVY
YCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAV
TSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAE
YCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG
FTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ
MNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:174)

Фиг. 62P

Pro388

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGSGG**
GS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKLEWVARIRSKYNN
YATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQ
GLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNYPNWWQQK
PGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCTLVYSNRWV
GGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMS
WRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT
IGGSLSVSSQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSG
NYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEY
CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN
KYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLK
TEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:175)

Фиг. 62Q

Pro432

QVQLVESGGGLVQPGGSLT LSCAASGTGSIFSNLMGWYRQAPGKQRELVARITSGDSTV
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCNLLRSPGATTPTYWGQGLTVTV
SS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQAPGKLEW
VARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHANFGNSY
SYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNY
PNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCTLV
YSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGRTFSSYAM
GWFRQAPGKEREFVAVINWSSGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY
YCAAGYQINSGNYNFKDYEDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKLPGS**/QTVVTQEP SL
TVSPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGS
LLGGKAALTL SGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGG
GLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**G**
GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWV
SISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTV
TVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:176)

Pro448

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGGSG**
GS/QVQLVESGGGVVQPGGSLT LSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWVRG
DSTGYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYW
GQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWWRQ
APGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCV
RHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKLPGS**/QTVVTQEP SLTVSPGGT
VTLT CGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAAL
TL SGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
GNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN
AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:177)

Фиг. 62R

Pro449

QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREVSVGISWRGDST
 GYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQG
 TLVTVSS/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTP
 GNREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVVVCNRFDRY
 WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVR
 QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSTVSPG
 GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKA
 ALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLV
 QPNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISR
 DNAKTLLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID
 NO:178)

Pro450

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNREFVAIINSIGITNYAD
 SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVVVCNRFDRYWGQGLTVTVSS/**GGGSGG
 GGS**/QVQLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREVSVGISWRG
 DSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYW
 CQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWQ
 KPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCTLWYSNRW
 FGGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYA
 MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
 DAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
 PNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISR
 DNAKTLLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:179)

Фиг. 62S

Pro451

QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREVSVGISWRGDST
 VYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQG
 TLVTVSS/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTP
 GNREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVVVCNRFDRY
 WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNW
 VQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCTLWYSNR
 WVFGGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK
 YAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLK
 TEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLV
 QPNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISR
 DNAKTLLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID
 NO:180)

Pro479

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREVAVINWGGST
 VYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQG
 TLVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGK
 GLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHAN
 FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCASSTGA
 VTSNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPR
 TSTYSMAWFRQAPGKERSFVAIINWSSGNTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRA
 EDTAVYYCAAGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEP
 STVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSG
 SLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVES
 GGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKAD
 SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVS
 S/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEW
 VSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGT
 LVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:181)

Фиг. 62T

Pro480

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGNTS
 YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGGVLAAHNNYEYDYWGQGLVT
 VSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWWRQAPGKGLEW
 VARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNS
 YISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSG
 NYPNWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTL
 WYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTY
 HMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDT
 AVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPS
 LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGS
 LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESG
 GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSV
 KDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/
GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGLEW
 SSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLT
 VTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:182)

Pro495

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGST
 VYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGL
 TLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWWRQAPGK
 GLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHAN
 FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCASSTGA
 VTSNYPNWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY
 YCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRT
 FHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSR
 AEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVT
 QEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWQQKPGQAPRGLIGGTDKDDAPGTPARF
 SCSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLV
 ESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKHAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYAD
 SVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFNGNSYISYWAYWGQGLTVTVS
 S/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSKFGMSWWRQAPGKGLEW
 VSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLT
 LVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:183)

Фиг. 62U



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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