

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390616 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.06.08

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.08.17

(54) ОГРАНИЧЕННЫЕ КОНДИЦИОНАЛЬНО АКТИВИРУЕМЫЕ СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ

(31) 63/066,565

(32) 2020.08.17

(33) US

(86) PCT/US2021/046217

(87) WO 2022/040128 2022.02.24

(88) 2022.04.07

(71) Заявитель:

ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)

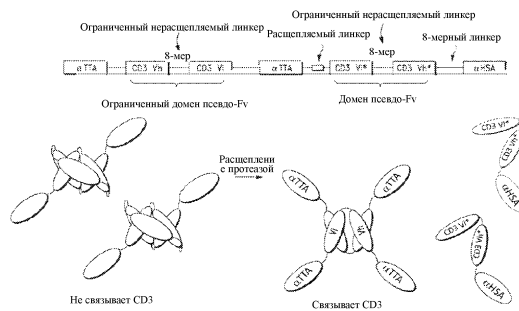
(72) Изобретатель:

Дьюбридж Роберт Б., Чэнь Тсэнь-хой Тимоти, Калп Патрисия А., Мэй Чэд Майкл, Детлинг Даниэль, Дегенхардт Джеремайя (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к кондициональным биспецифическим конструкциям перенаправляемой активации, или COBRA, которые вводят в формате активного пролекарства. При воздействии опухолевых протеаз конструкции расщепляются и активируются так, что они могут связывать один или большее число целевых опухолевых антигенов (ТТА), а также CD3, тем самым рекрутируя CD3-экспрессирующие Т-клетки к опухоли, что приводит к лечению. В некоторых вариантах осуществления целевой опухолевый антиген включает V7H3, CA9 (CAIX), EGFR, EpCAM, FOLR1, HER2, LuPD3 и/или Trop2.



A1

202390616

202390616

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-577335EA/025

ОГРАНИЧЕННЫЕ КОНДИЦИОНАЛЬНО АКТИВИРУЕМЫЕ СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет относительно предварительной заявки на патент США № 63/066565, поданной 17 августа 2020 года, содержание которой настоящим включено в данный документ посредством ссылки во всей полноте.

Перечень последовательностей

[0002] Данная заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронной виде в формате ASCII и включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Указанная ASCII-копия, созданная 13 августа 2021 года, имеет название «118459-5014-WO_SL.txt» и имеет размер 1341889 байт.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Селективное разрушение индивидуальной клетки или конкретного типа клеток часто является желаемым в различных клинических условиях. Например, основной целью терапии рака является целенаправленное уничтожение опухолевых клеток, оставляя при этом здоровые клетки и ткани как можно более неповрежденными. Одним из таких методов является индуцирование иммунного ответа против опухоли, чтобы заставить иммунокомпетентные эффекторные клетки, такие как клетки - естественные киллеры (NK) или цитотоксические Т-лимфоциты (CTL), атаковать и уничтожить опухолевые клетки.

[0004] Использование интактных моноклональных антител (mAb), которые обеспечивают превосходную специфичность и аффинность связывания антигена, ассоциированного с опухолью, успешно применяется в области лечения и диагностики рака. Однако большой размер интактных mAb, их плохое биораспределение, низкая активность и длительное персистирование в крови ограничивают их клиническое применение. Например, интактные антитела могут демонстрировать специфическое накопление в области опухоли. В исследованиях биораспределения при точном исследовании опухоли отмечается неоднородное распределение антител с преимущественным накоплением в периферических областях. Из-за некроза опухоли, неоднородного распределения антигенов и повышенного давления в интерстициальной ткани невозможно достичь центральных участков опухоли интактными конструкциями антител. Напротив, более мелкие фрагменты антител проявляют быструю опухолевую локализацию, проникают глубже в опухоль, а также относительно быстро удаляются из кровотока. Однако многие антитела, включая scFv и другие конструкции, проявляют эффекты «на мишени/вне опухоли», при которых молекула активна в отношении неопухолевых клеток, вызывая побочные эффекты, некоторые из которых могут быть токсичными. Данное изобретение относится к новым конструкциям, которые селективно активируются в присутствии опухолевых протез.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] В одном аспекте представлен слитый белок, содержащий, от N-конца к C-концу: (a) первый sdABD, который связывает HER2 (sdABD-HER2); (b) первый доменный линкер; (c) ограниченный домен Fv, содержащий: (i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; (ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и (iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; (d) второй доменный линкер; (e) второй sdABD-HER2; (f) расщепляемый линкер (CL); (g) ограниченный домен псевдо-Fv, содержащий: (i) первый псевдопеременный легкий домен; (ii) нерасщепляемый линкер (NCL); и (iii) первый псевдопеременный тяжелый домен; (h) третий доменный линкер; и (i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека (sdABD-HSA); при этом первый переменный тяжелый домен и первый переменный легкий домен ограниченного домена Fv способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен псевдо-Fv не связывает CD3; первый переменный тяжелый домен и первый псевдопеременный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и первый переменный легкий домен и первый псевдопеременный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

[0006] В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй sdABD-HER2 имеют аминокислотную последовательность, содержащую набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (a) sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196; (b) sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220; (c) sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228; (d) sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240; (e) sdCDR1 с SEQ ID NO:142, sdCDR2 с SEQ ID NO:143 и sdCDR3 с SEQ ID NO:144; (f) sdCDR1 с SEQ ID NO:146, sdCDR2 с SEQ ID NO:147 и sdCDR3 с SEQ ID NO:148; (g) sdCDR1 с SEQ ID NO:150, sdCDR2 с SEQ ID NO:151 и sdCDR3 с SEQ ID NO:152; (h) sdCDR1 с SEQ ID NO:154, sdCDR2 с SEQ ID NO:155 и sdCDR3 с SEQ ID NO:156; (i) sdCDR1 с SEQ ID NO:158, sdCDR2 с SEQ ID NO:159 и sdCDR3 с SEQ ID NO:160; (j) sdCDR1 с SEQ ID NO:162, sdCDR2 с SEQ ID NO:163 и sdCDR3 с SEQ ID NO:164; (k) sdCDR1 с SEQ ID NO:166, sdCDR2 с SEQ ID NO:167 и sdCDR3 с SEQ ID NO:168; (l) sdCDR1 с SEQ ID NO:170, sdCDR2 с SEQ ID NO:171 и sdCDR3 с SEQ ID NO:172; (m) sdCDR1 с SEQ ID NO:174, sdCDR2 с SEQ ID NO:175 и sdCDR3 с SEQ ID NO:176; (n) sdCDR1 с SEQ ID NO:178, sdCDR2 с SEQ ID NO:179 и sdCDR3 с SEQ ID NO:180; (o) sdCDR1 с SEQ ID NO:182, sdCDR2 с SEQ ID NO:183 и sdCDR3 с SEQ ID NO:184; (p) sdCDR1 с SEQ ID NO:186, sdCDR2 с SEQ ID NO:187 и sdCDR3 с SEQ ID NO:188; (q) sdCDR1 с SEQ ID NO:190, sdCDR2 с SEQ ID NO:191 и sdCDR3 с SEQ ID NO:192; (r) sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196; (s) sdCDR1 с SEQ ID NO:198, sdCDR2 с SEQ ID NO:199 и sdCDR3 с SEQ ID NO:200; (t) sdCDR1 с SEQ ID NO:202, sdCDR2 с SEQ ID NO:203 и sdCDR3 с SEQ ID NO:204; (u) sdCDR1 с SEQ ID NO:206, sdCDR2 с SEQ ID NO:207 и sdCDR3 с SEQ ID

NO:203; (v) sdCDR1 с SEQ ID NO:210, sdCDR2 с SEQ ID NO:211 и sdCDR3 с SEQ ID NO:212; (w) sdCDR1 с SEQ ID NO:214, sdCDR2 с SEQ ID NO:215 и sdCDR3 с SEQ ID NO:216; (x) sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220; (y) sdCDR1 с SEQ ID NO:222, sdCDR2 с SEQ ID NO:223 и sdCDR3 с SEQ ID NO:224; (z) sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228; (aa) sdCDR1 с SEQ ID NO:230, sdCDR2 с SEQ ID NO:231 и sdCDR3 с SEQ ID NO:232; (ab) sdCDR1 с SEQ ID NO:234, sdCDR2 с SEQ ID NO:235 и sdCDR3 с SEQ ID NO:236; (ac) sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240; (ad) sdCDR1 с SEQ ID NO:242, sdCDR2 с SEQ ID NO:243 и sdCDR3 с SEQ ID NO:244; и (ae) sdCDR1 с SEQ ID NO:500, sdCDR2 с SEQ ID NO:501 и sdCDR3 с SEQ ID NO:502; (af) sdCDR1 с SEQ ID NO:504, sdCDR2 с SEQ ID NO:505 и sdCDR3 с SEQ ID NO:506; (ag) sdCDR1 с SEQ ID NO:508, sdCDR2 с SEQ ID NO:509 и sdCDR3 с SEQ ID NO:510; и (ah) sdCDR1 с SEQ ID NO:512, sdCDR2 с SEQ ID NO:513 и sdCDR3 с SEQ ID NO:5.

[0007] В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй sdABD-HER2 содержат аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:225, SEQ ID NO:237, SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:149, SEQ ID NO:153, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:229, SEQ ID NO:233, SEQ ID NO:241, SEQ ID NO:499, SEQ ID NO:503, SEQ ID NO:507 и SEQ ID NO:511.

[0008] В некоторых вариантах осуществления первый sdABD-HER2 и второй sdABD-HER2 являются одним и тем же.

[0009] В некоторых вариантах осуществления первый sdABD-HER2 и второй sdABD-HER2 являются разными.

[0010] В некоторых вариантах осуществления первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

[0011] В некоторых вариантах осуществления первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена и псевдопеременный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдопеременного легкого домена.

[0012] В некоторых вариантах осуществления первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

[0013] В некоторых вариантах осуществления первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена и

псевдовариабельный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдовариабельного легкого домена.

[0014] В некоторых вариантах осуществления третий sdABD, который связывается с HSA (sdABD-HSA), имеет аминокислотную последовательность, содержащую: (a) набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (i) sdCDR1 с SEQ ID NO:246, sdCDR2 с SEQ ID NO:247 и sdCDR3 с SEQ ID NO:248, и (ii) sdCDR1 с SEQ ID NO:250, sdCDR2 с SEQ ID NO:251 и sdCDR3 с SEQ ID NO:252; или (b) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:245 и SEQ ID NO:249.

[0015] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит последовательность домена расщепления, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:339-408 и 532-535.

[0016] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер расщепляется протеазой человека, выбранной из группы, состоящей из MMP2, MMP9, меприна А, меприна В, катепсина S, катепсина К, катепсина L, гранзима В, uPA, калликреина 7, матриптазы и тромбина.

[0017] В некоторых вариантах осуществления слитый белок имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:459-484 и 491-494.

[0018] В данном документе представлена нуклеиновая кислота, кодирующая любой из слитых белков, описанных в данном документе.

[0019] В данном документе представлен вектор экспрессии, содержащий любую из нуклеиновых кислот, описанных в данном документе.

[0020] В данном документе представлена клетка-хозяин, содержащая любой из векторов экспрессии, описанных в данном документе.

[0021] В некоторых аспектах представлен способ получения слитого белка согласно данному изобретению, включающий: (i) культивирование описанной клетки-хозяина в условиях, при которых экспрессируется слитый белок, и (ii) выделение слитого белка.

[0022] В некоторых аспектах представлен способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий введение субъекту любого из слитых белков, описанных в данном документе.

[0023] В некоторых аспектах представлен однодоменный антигенсвязывающий домен (sdABD), который связывает HER2 человека (sdABD-HER2), содержащий: (i) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:149, SEQ ID NO:153, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:225, SEQ ID NO:229, SEQ ID NO:233, SEQ ID NO:237, SEQ ID NO:241, SEQ ID NO:499, SEQ ID NO:503, SEQ ID NO:507 и SEQ ID NO:511; или (ii)

аминокислотную последовательность, содержащую набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (a) sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196; (b) sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220; (c) sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228; (d) sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240; (e) sdCDR1 с SEQ ID NO:142, sdCDR2 с SEQ ID NO:143 и sdCDR3 с SEQ ID NO:144; (f) sdCDR1 с SEQ ID NO:146, sdCDR2 с SEQ ID NO:147 и sdCDR3 с SEQ ID NO:148; (g) sdCDR1 с SEQ ID NO:150, sdCDR2 с SEQ ID NO:151 и sdCDR3 с SEQ ID NO:152; (h) sdCDR1 с SEQ ID NO:154, sdCDR2 с SEQ ID NO:155 и sdCDR3 с SEQ ID NO:156; (i) sdCDR1 с SEQ ID NO:158, sdCDR2 с SEQ ID NO:159 и sdCDR3 с SEQ ID NO:160; (j) sdCDR1 с SEQ ID NO:162, sdCDR2 с SEQ ID NO:163 и sdCDR3 с SEQ ID NO:164; (k) sdCDR1 с SEQ ID NO:166, sdCDR2 с SEQ ID NO:167 и sdCDR3 с SEQ ID NO:168; (l) sdCDR1 с SEQ ID NO:170, sdCDR2 с SEQ ID NO:171 и sdCDR3 с SEQ ID NO:172; (m) sdCDR1 с SEQ ID NO:174, sdCDR2 с SEQ ID NO:175 и sdCDR3 с SEQ ID NO:176; (n) sdCDR1 с SEQ ID NO:178, sdCDR2 с SEQ ID NO:179 и sdCDR3 с SEQ ID NO:180; (o) sdCDR1 с SEQ ID NO:182, sdCDR2 с SEQ ID NO:183 и sdCDR3 с SEQ ID NO:184; (p) sdCDR1 с SEQ ID NO:186, sdCDR2 с SEQ ID NO:187 и sdCDR3 с SEQ ID NO:188; (q) sdCDR1 с SEQ ID NO:190, sdCDR2 с SEQ ID NO:191 и sdCDR3 с SEQ ID NO:192; (r) sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196; (s) sdCDR1 с SEQ ID NO:198, sdCDR2 с SEQ ID NO:199 и sdCDR3 с SEQ ID NO:200; (t) sdCDR1 с SEQ ID NO:202, sdCDR2 с SEQ ID NO:203 и sdCDR3 с SEQ ID NO:204; (u) sdCDR1 с SEQ ID NO:206, sdCDR2 с SEQ ID NO:207 и sdCDR3 с SEQ ID NO:203; (v) sdCDR1 с SEQ ID NO:210, sdCDR2 с SEQ ID NO:211 и sdCDR3 с SEQ ID NO:212; (w) sdCDR1 с SEQ ID NO:214, sdCDR2 с SEQ ID NO:215 и sdCDR3 с SEQ ID NO:216; (x) sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220; (y) sdCDR1 с SEQ ID NO:222, sdCDR2 с SEQ ID NO:223 и sdCDR3 с SEQ ID NO:224; (z) sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228; aa) sdCDR1 с SEQ ID NO:230, sdCDR2 с SEQ ID NO:231 и sdCDR3 с SEQ ID NO:232; ab) sdCDR1 с SEQ ID NO:234, sdCDR2 с SEQ ID NO:235 и sdCDR3 с SEQ ID NO:236; ac) sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240; ad) sdCDR1 с SEQ ID NO:242, sdCDR2 с SEQ ID NO:243 и sdCDR3 с SEQ ID NO:244; ae) sdCDR1 с SEQ ID NO:500, sdCDR2 с SEQ ID NO:501 и sdCDR3 с SEQ ID NO:502; af) sdCDR1 с SEQ ID NO:504, sdCDR2 с SEQ ID NO:505 и sdCDR3 с SEQ ID NO:506; ag) sdCDR1 с SEQ ID NO:508, sdCDR2 с SEQ ID NO:509 и sdCDR3 с SEQ ID NO:510; и ah) sdCDR1 с SEQ ID NO:512, sdCDR2 с SEQ ID NO:513 и sdCDR3 с SEQ ID NO:514.

[0024] В некоторых аспектах представлен слитый белок, содержащий, от N-конца к C-концу: (a) первый sdABD, который связывает целевой опухолевый антиген (sdABD-ТТА); (b) первый доменный линкер; (c) ограниченный домен Fv, содержащий: (i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; (ii)

ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и (iii) первый вариабельный легкий домен, содержащий v1CDR1, v1CDR2 и v1CDR3; d) второй доменный линкер; e) второй sdABD-ТТА; f) расщепляемый линкер (CL); (g) ограниченный домен псевдо-Fv, содержащий: (i) первый псевдовариабельный легкий домен; (ii) нерасщепляемый линкер (NCL); и (iii) первый псевдовариабельный тяжелый домен; (h) третий доменный линкер; и (i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека (sdABD-HSA); при этом первый вариабельный тяжелый домен и первый вариабельный легкий домен ограниченного домена Fv способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен псевдо-Fv не связывает CD3; первый вариабельный тяжелый домен и первый псевдовариабельный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; первый вариабельный легкий домен и первый псевдовариабельный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv, и при этом либо: (1) первый sdABD-ТТА представляет собой sdABD-HER2 или sdABD-LyPD3, и второй sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2; или (2) первый sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и второй sdABD-ТТА представляет собой sdABD-HER2 или sdABD-LyPD3.

[0025] В некоторых вариантах осуществления первый и второй sdABD-ТТА каждый представляет собой sdABD-LyPD3. В некоторых вариантах осуществления первый и второй sdABD-LPYD3 являются одним и тем же. В некоторых вариантах осуществления первый и второй sdABD-LPYD3 являются разными.

[0026] В некоторых вариантах осуществления слитого белка: (a) первый sdABD-ТТА представляет собой sdABD-HER2 и второй sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2; (b) первый sdABD-ТТА представляет собой sdABD-LyPD3 и второй sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2 и sdABD-Trop2; (c) первый sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и второй ТТА представляет собой sdABD-HER2; или (d) первый sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3, и sdABD-Trop2, и второй ТТА представляет собой sdABD-LyPD3.

[0027] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (a) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196; (b) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220; (c) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228; (d) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID

NO:240; (e) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:142, sdCDR2 с SEQ ID NO:143 и sdCDR3 с SEQ ID NO:144; (f) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:146, sdCDR2 с SEQ ID NO:147 и sdCDR3 с SEQ ID NO:148; (g) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:150, sdCDR2 с SEQ ID NO:151 и sdCDR3 с SEQ ID NO:152; (h) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:154, sdCDR2 с SEQ ID NO:155 и sdCDR3 с SEQ ID NO:156; (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:158, sdCDR2 с SEQ ID NO:159 и sdCDR3 с SEQ ID NO:160; (j) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:162, sdCDR2 с SEQ ID NO:163 и sdCDR3 с SEQ ID NO:164; (k) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:166, sdCDR2 с SEQ ID NO:167 и sdCDR3 с SEQ ID NO:168; (l) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:170, sdCDR2 с SEQ ID NO:171 и sdCDR3 с SEQ ID NO:172; (m) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:174, sdCDR2 с SEQ ID NO:175 и sdCDR3 с SEQ ID NO:176; (n) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:178, sdCDR2 с SEQ ID NO:179 и sdCDR3 с SEQ ID NO:180; (o) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:182, sdCDR2 с SEQ ID NO:183 и sdCDR3 с SEQ ID NO:184; (p) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:186, sdCDR2 с SEQ ID NO:187 и sdCDR3 с SEQ ID NO:188; (q) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:190, sdCDR2 с SEQ ID NO:191 и sdCDR3 с SEQ ID NO:192; (r) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196; (s) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:198, sdCDR2 с SEQ ID NO:199 и sdCDR3 с SEQ ID NO:200; (t) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:202, sdCDR2 с SEQ ID NO:203 и sdCDR3 с SEQ ID NO:204; (u) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:206, sdCDR2 с SEQ ID NO:207 и sdCDR3 с SEQ ID NO:203; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:210, sdCDR2 с SEQ ID NO:211 и sdCDR3 с SEQ ID NO:212; (w) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:214, sdCDR2 с SEQ ID NO:215 и sdCDR3 с SEQ ID NO:216; (x) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220; (y) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:222, sdCDR2 с SEQ ID NO:223 и sdCDR3 с SEQ ID NO:224; (z) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228; (aa) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:230, sdCDR2 с SEQ ID NO:231 и sdCDR3 с SEQ ID NO:232; (ab) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:234, sdCDR2 с SEQ ID NO:235 и sdCDR3 с SEQ ID NO:236; (ac) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240; и (ad) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:242, sdCDR2 с SEQ ID NO:243 и sdCDR3 с SEQ ID NO:244; (ae) SEQ ID NO:141; (af) SEQ ID NO:145; (ag) SEQ ID NO:149; (ah) SEQ ID NO:153; (ai) SEQ ID NO:157; (aj) SEQ ID NO:161; (ak) SEQ ID NO:165; (al) SEQ ID NO:169; (am) SEQ ID NO:173; (an) SEQ ID NO:177; (ao) SEQ ID NO:181; (ap) SEQ ID NO:185; (aq) SEQ ID NO:189; (ar) SEQ ID NO:193; (as) SEQ ID NO:197; (at) SEQ ID NO:201; (au) SEQ ID NO:205; (av) SEQ ID NO:209; (aw) SEQ ID NO:213; (ax) SEQ ID NO:217; (ay) SEQ ID NO:221; (az) SEQ ID

NO:225; (ba) SEQ ID NO:229; (bb) SEQ ID NO:233; (bc) SEQ ID NO:237; и (bd) SEQ ID NO:241.

[0028] Слитый белок по любому из пп. [00456]-[0027], отличающийся тем, что sdABD-LyPD3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (a) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:118, sdCDR2 с SEQ ID NO:119 и sdCDR3 с SEQ ID NO:120; (b) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:122, sdCDR2 с SEQ ID NO:123 и sdCDR3 с SEQ ID NO:124; (c) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:126, sdCDR2 с SEQ ID NO:127 и sdCDR3 с SEQ ID NO:128; (d) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:130, sdCDR2 с SEQ ID NO:131 и sdCDR3 с SEQ ID NO:132; (e) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:134, sdCDR2 с SEQ ID NO:135 и sdCDR3 с SEQ ID NO:136; (f) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:138, sdCDR2 с SEQ ID NO:139 и sdCDR3 с SEQ ID NO:140; (g) SEQ ID NO:117; (h) SEQ ID NO:121; (i) SEQ ID NO:125; (j) SEQ ID NO:129; (k) SEQ ID NO:133; и (l) SEQ ID NO:137.

[0029] В некоторых вариантах осуществления sdABD-B7H3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:34 sdCDR2 с SEQ ID NO:35 и sdCDR3 с SEQ ID NO:36; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:38, sdCDR2 с SEQ ID NO:39 и sdCDR3 с SEQ ID NO:40; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:42, sdCDR2 с SEQ ID NO:43 и sdCDR3 с SEQ ID NO:44; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:46, sdCDR2 с SEQ ID NO:47 и sdCDR3 с SEQ ID NO:48; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:50, sdCDR2 с SEQ ID NO:51 и sdCDR3 с SEQ ID NO:52; (vi) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:54, sdCDR2 с SEQ ID NO:55 и sdCDR3 с SEQ ID NO:56; (vii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:58, sdCDR2 с SEQ ID NO:59 и sdCDR3 с SEQ ID NO:60; (ix) SEQ ID NO:33; (x) SEQ ID NO:37; (xi) SEQ ID NO:41; (xii) SEQ ID NO:45; (xiii) SEQ ID NO:49; (xiv) SEQ ID NO:53; и (xv) SEQ ID NO:57.

[0030] В некоторых вариантах осуществления sdABD-CA9 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:102, sdCDR2 с SEQ ID NO:103 и sdCDR3 с SEQ ID NO:104; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:106, sdCDR2 с SEQ ID NO:107 и sdCDR3 с SEQ ID NO:108; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:110, sdCDR2 с SEQ ID NO:111 и sdCDR3 с SEQ ID NO:112; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:114, sdCDR2 с SEQ ID NO:115 и sdCDR3 с SEQ ID NO:116; (v) SEQ ID NO:101; (vi) SEQ ID NO:105; (vii) SEQ ID NO:109; и (viii) SEQ ID NO:113.

[0031] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EGFR содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:2 sdCDR2 с SEQ ID NO:3 и sdCDR3 с SEQ ID NO:4; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:6, sdCDR2 с SEQ ID NO:7 и

sdCDR3 с SEQ ID NO:8; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:10, sdCDR2 с SEQ ID NO:11 и sdCDR3 с SEQ ID NO:12; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:14, sdCDR2 с SEQ ID NO:15 и sdCDR3 с SEQ ID NO:16; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:18, sdCDR2 с SEQ ID NO:19 и sdCDR3 с SEQ ID NO:20; (vi) SEQ ID NO:1; (vii) SEQ ID NO:5; (viii) SEQ ID NO:9; (ix) SEQ ID NO:13; и (x) SEQ ID NO:17.

[0032] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EpCAM содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:62 sdCDR2 с SEQ ID NO:63 и sdCDR3 с SEQ ID NO:64; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:66, sdCDR2 с SEQ ID NO:67 и sdCDR3 с SEQ ID NO:68; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:70, sdCDR2 с SEQ ID NO:71 и sdCDR3 с SEQ ID NO:72; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:74, sdCDR2 с SEQ ID NO:75 и sdCDR3 с SEQ ID NO:76; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:496, sdCDR2 с SEQ ID NO:497 и sdCDR3 с SEQ ID NO:498; (vi) SEQ ID NO:61; (vii) SEQ ID NO:65; (viii) SEQ ID NO:69; (ix) SEQ ID NO:73; и (x) SEQ ID NO:495.

[0033] В некоторых вариантах осуществления sdABD-FOLR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:22 sdCDR2 с SEQ ID NO:23 и sdCDR3 с SEQ ID NO:24; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:26, sdCDR2 с SEQ ID NO:27 и sdCDR3 с SEQ ID NO:28; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:30, sdCDR2 с SEQ ID NO:31 и sdCDR3 с SEQ ID NO:32; (iv) SEQ ID NO:21; (v) SEQ ID NO:25; и (vi) SEQ ID NO:29.

[0034] В некоторых вариантах осуществления sdABD-Trop2 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:78, sdCDR2 с SEQ ID NO:79 и sdCDR3 с SEQ ID NO:80; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:82, sdCDR2 с SEQ ID NO:83 и sdCDR3 с SEQ ID NO:84; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:86, sdCDR2 с SEQ ID NO:87 и sdCDR3 с SEQ ID NO:88; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:90, sdCDR2 с SEQ ID NO:91 и sdCDR3 с SEQ ID NO:92; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:94, sdCDR2 с SEQ ID NO:95 и sdCDR3 с SEQ ID NO:96; (vi) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:98, sdCDR2 с SEQ ID NO:99 и sdCDR3 с SEQ ID NO:100; (vii) SEQ ID NO:77; (viii) SEQ ID NO:81; (ix) SEQ ID NO:85; (x) SEQ ID NO:89; (xi) SEQ ID NO:93; и (xii) SEQ ID NO:97.

[0035] В некоторых вариантах осуществления первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

[0036] В некоторых вариантах осуществления первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена и

псевдовариабельный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдовариабельного легкого домена.

[0037] В некоторых вариантах осуществления первый вариабельный легкий домен является N-концевым относительно первого вариабельного тяжелого домена и псевдовариабельный легкий домен является N-концевым относительно псевдовариабельного тяжелого домена.

[0038] В некоторых вариантах осуществления первый вариабельный легкий домен является N-концевым относительно первого вариабельного тяжелого домена и псевдовариабельный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдовариабельного легкого домена.

[0039] В некоторых вариантах осуществления третий sdABD, который связывается с HSA, имеет аминокислотную последовательность, содержащую: (a) набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (i) sdCDR1 с SEQ ID NO:246, sdCDR2 с SEQ ID NO:247 и sdCDR3 с SEQ ID NO:248, и (ii) sdCDR1 с SEQ ID NO:250, sdCDR2 с SEQ ID NO:251 и sdCDR3 с SEQ ID NO:252; или (b) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:245 и SEQ ID NO:249.

[0040] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит последовательность домена расщепления, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:339-408 и 532-535.

[0041] В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер расщепляется протеазой человека, выбранной из группы, состоящей из MMP2, MMP9, меприна А, меприна В, катепсина S, катепсина К, катепсина L, гранзима В, uPA, калликреина 7, матриптазы и тромбина.

[0042] В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:453, SEQ ID NO:454, SEQ ID NO:455, SEQ ID NO:456, SEQ ID NO:457 и SEQ ID NO:458.

[0043] В данном документе представлена нуклеиновая кислота, кодирующая любой из слитых белков, описанных в данном документе. В данном документе представлен вектор экспрессии, содержащий любую из нуклеиновых кислот, описанных в данном документе. В данном документе представлена клетка-хозяин, содержащая любой из векторов экспрессии, описанных в данном документе.

[0044] В некоторых аспектах представлен способ получения слитого белка согласно данному изобретению, включающий: (i) культивирование описанной клетки-хозяина в условиях, при которых экспрессируется слитый белок, и (ii) выделение слитого белка.

[0045] В некоторых аспектах представлен однодоменный антигенсвязывающий домен, который связывает LyPD3 (sdABD-LyPD3) человека, содержащий: (i) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:121, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:129, SEQ ID NO:133 и SEQ ID

NO:137, или (ii) аминокислотную последовательность, содержащую набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (a) sdCDR1 с SEQ ID NO:118, sdCDR2 с SEQ ID NO:119 и sdCDR3 с SEQ ID NO:120; (b) sdCDR1 с SEQ ID NO:122, sdCDR2 с SEQ ID NO:123 и sdCDR3 с SEQ ID NO:124; (c) sdCDR1 с SEQ ID NO:126, sdCDR2 с SEQ ID NO:127 и sdCDR3 с SEQ ID NO:128; (d) sdCDR1 с SEQ ID NO:130, sdCDR2 с SEQ ID NO:131 и sdCDR3 с SEQ ID NO:132; (e) sdCDR1 с SEQ ID NO:134, sdCDR2 с SEQ ID NO:135 и sdCDR3 с SEQ ID NO:136; и (f) sdCDR1 с SEQ ID NO:138, sdCDR2 с SEQ ID NO:139 и sdCDR3 с SEQ ID NO:140.

[0046] Также представлена нуклеиновая кислота, кодирующая любой из однодоменных антигенсвязывающих доменов (sdABD), описанных в данном документе. Также представлен вектор экспрессии, содержащий любую из нуклеиновых кислот. Представлена клетка-хозяин, содержащая любой из векторов экспрессии, описанных в данном документе.

[0047] В некоторых аспектах представлен способ получения однодоменного антигенсвязывающего домена (sdABD), включающий: (a) культивирование любой клетки-хозяина, описанной в данном документе, в условиях, при которых экспрессируется sdABD, и (b) выделение sdABD.

[0048] Также представлена фармацевтическая композиция, содержащая любой из слитых белков, описанных в данном документе, или любой из однодоменных антигенсвязывающих доменов (sdABD), описанных в данном документе.

[0049] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

[0050] В некоторых аспектах представлен способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий введение любого из слитых белков, описанных в данном документе, любого из однодоменных антигенсвязывающих доменов (sdABD), описанных в данном документе, или любой из фармацевтических композиций согласно данному изобретению.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0051] На фиг. 1 изображен тип протеазной активации «формата 1» согласно данному изобретению, обозначаемый в данном документе как «ограниченные расщепляемые конструкции», или «сс-конструкции». В данном варианте осуществления репрезентативная конструкция включает ABD для двух ТТА (как представлено на фиг. 1, оба они одинаковы, хотя, как описано в данном документе, они могут быть разными). При расщеплении конструкция пролекарства распадается на три компонента, один из которых содержит домен α -ТТА, связанный через доменный линкер с активным VH α CD3, второй, содержащий домен α -ТТА, связанный через доменный линкер с активным VL α CD3, и «остаточный» фрагмент, содержащий домен продления периода полужизни, связанный с неактивными VH и VL. Затем два активных переменных домена могут свободно ассоциироваться, образуя функциональный домен связывания против CD3. Следует отметить, что в вариантах осуществления «формата 1» получаемый в результате активный

компонент является трехвалентным: он обладает одновалентным связыванием с CD3 и двухвалентным связыванием с ТТА, что приводит к образованию биспецифического связывающего белка, хотя в некоторых случаях эта трехвалентность может быть трехспецифичностью, с одновалентным связыванием с CD3, одновалентным связыванием с первым ТТА и одновалентным связыванием со вторым ТТА. На фиг. 1 также показан домен против альбумина сыворотки крови человека (HSA) в качестве домена продления периода полужизни, во многих вариантах осуществления - sdABD, как определено в данном документе, хотя, как обсуждается в данном документе, это необязательно и/или его можно заменить другими доменами продления периода полужизни; в дополнение к этому, домен продления периода полужизни может быть также N-концевым к данной конструкции или внутренним. На фиг. 1 представлены также VH и VL из Fv, и iVH и iVL из псевдо-Fv в конкретном порядке, например, от N-конца к C-концу, VH-линкер-VL (и iVL-линкер-iVH), хотя, как будет понятно специалистам в данной области техники, данный порядок может быть обратным (VL-линкер-VH и iVH-линкер-iVL). В качестве альтернативы, один из данных Fv может находиться в одной ориентации, а другой - в другой ориентации, хотя экспрессия белка в ориентации, показанной на данной фигуре, была неожиданно более высокой, чем в других ориентациях.

[0052] На фиг. 2 изображен тип протеазной активации «формата 2» согласно данному изобретению, обозначаемый в данном документе как «ограниченные нерасщепляемые конструкции», или «CNCL-конструкции», также иногда обозначаемый в данном документе как «конструкции димеризации», как обсуждается в данном документе. Данные конструкции не изомеризуются, как обсуждается в данном документе. При расщеплении две конструкции пролекарства расщепляются на четыре компонента - два домена продления периода полужизни (в данном случае - sdABD против HSA), связанные с двумя псевдодоменами (которые могут или не могут быть способны к самоассоциации, в зависимости от длины линкеров и инактивирующих мутаций), и два активных фрагмента, которые самособираются в димерный активный фрагмент, содержащий четыре домена против ТТА (все из которых могут быть одинаковыми или может быть два одинаковых и два других разных). Следует отметить, что в вариантах осуществления «формата 2» получаемый в результате активный компонент является шестивалентным: он обладает двухвалентным связыванием с CD3 и четырехвалентным связыванием с ТТА, что приводит к образованию биспецифического связывающего белка, хотя в некоторых случаях эта шестивалентность может быть трехспецифичностью, с двухвалентным связыванием с CD3, двухвалентным связыванием с первым ТТА и двухвалентным связыванием со вторым ТТА. На фиг. 2 также показан домен против альбумина сыворотки крови человека (HSA) в качестве домена продления периода полужизни, во многих вариантах осуществления - sdABD, как определено в данном документе, хотя, как обсуждается в данном документе, это необязательно и/или его можно заменить другими доменами продления периода полужизни; в дополнение к этому, домен продления периода полужизни может быть также N-концевым к данной конструкции или

внутренним. На фиг. 2 представлены также VH и VL из Fv, и iVH и iVL из псевдо-Fv в конкретном порядке, например, от N-конца к C-концу, VH-линкер-VL (и iVL-линкер-iVH), хотя, как будет понятно специалистам в данной области техники, данный порядок может быть обратным (VL-линкер-VH и iVH-линкер-iVL). В качестве альтернативы, один из данных Fv может находиться в одной ориентации, а другой - в другой ориентации, хотя экспрессия белка в ориентации, показанной на данной фигуре, была неожиданно более высокой, чем в других ориентациях.

[0053] На фиг. 3А-3В изображен тип конструкций «формата 3», иногда также обозначаемых как «полуконструкции» или «hemi-COBRA™», как описано в данном документе, поскольку они представляют собой две разные полипептидные цепи, которые вместе образуют МКЭ-терапевтический агент, как обсуждается далее в данном документе. В данном варианте осуществления конструкции доставляются парами, при этом внутримолекулярная самосборка с предварительным расщеплением приводит к образованию неактивных доменов Fv против CD3. При расщеплении высвобождаются инертные переменные домены, и затем межмолекулярно собираются два активных переменных домена, образуя активный домен связывания против CD3. Два sdABD-ТТА связываются с соответствующим рецептором на поверхности опухолевой клетки, и протеаза осуществляет расщепление. Это обеспечивает межмолекулярную сборку, поскольку молекулы физически удерживаются на месте, способствуя сборке активного домена против CD3. Как указано выше для форматов 1 и 2, в данном варианте осуществления порядок переменных доменов от N-конца к C-концу может быть обращенным или также смешанным. Кроме того, sdABD(HSA) может располагаться либо на N-конце, либо на C-конце каждой полуконструкции. Pro16 имеет sdABD(HSA) на C-конце и Pro17 имеет его на N-конце. Pro19 имеет sdABD(HSA) на C-конце. На фиг. 3А представлены конструкции формата 3 с одним доменом sdABD-ТТА на полуконструкцию, а на фиг. 3В представлены конструкции формата 3 с двумя sdABD-ТТА на полуконструкцию в формате «двойного нацеливания», или «гетеро-нацеливания». Следует отметить, что на фиг. 3В в качестве двух ТТА используются FOLR1 и EGFR, но также можно использовать другие комбинации, как описано в данном документе.

[0054] На фиг. 4 изображен тип конструкций «формата 4», которые подобны конструкциям «формата 2», но имеют только один sdABD-ТТА. На данной фигуре показаны sdABD-ТТА против EGFR но, как поймут специалисты в данной области техники, можно использовать и другие ТТА. При расщеплении конструкция пролекарства распадается на два компонента - домен продления периода полужизни (в данном случае sdABD против HSA), связанный с псевдо Fv, и активную часть, которая в присутствии второй активной части из другой расщепленной молекулы самособирается в димерную активную часть, которая содержит два домена против ТТА. Следует отметить, что в вариантах осуществления «формата 4» получаемый в результате активный компонент является четырехвалентным: он обладает двухвалентным связыванием с CD3 и двухвалентным связыванием с ТТА, что приводит к образованию биспецифического

связывающего белка. На фиг. 4 также показан домен против альбумина сыворотки крови человека (HSA) в качестве домена продления периода полужизни, во многих вариантах осуществления - sdABD($\frac{1}{2}$), как определено в данном документе, хотя, как обсуждается в данном документе, это необязательно и/или его можно заменить другими доменами продления периода полужизни; в дополнение к этому, домен продления периода полужизни может быть также N-концевым к данной конструкции или внутренним. На фиг. 4 представлены также VH и VL из Fv, и iVH и iVL из псевдо-Fv в конкретном порядке, например, от N-конца к C-концу, VH-линкер-VL (и iVL-линкер-iVH), хотя, как будет понятно специалистам в данной области техники, данный порядок может быть обратным (VL-линкер-VH и iVH-линкер-iVL). В качестве альтернативы, один из данных Fv может находиться в одной ориентации, а другой - в другой ориентации, хотя экспрессия белка в ориентации, показанной на данной фигуре, была неожиданно более высокой, чем в других ориентациях.

[0055] На фиг. 5A-5M изображен ряд последовательностей однодоменных доменов, связывающих целевой опухолевый антиген (sdTTA-ABD), согласно данному изобретению, с подчеркнутыми CDR. Как более полно описано в данном документе, данные домены могут быть собраны в самых разнообразных конфигурациях в данном изобретении, включительно с ориентациями «формата 1», «формата 2», «формата 3» и «формата 4».

[0056] На фиг. 6 представлен ряд доменов с увеличенным периодом полужизни.

[0057] На фиг. 7A и 7B представлен ряд переменных тяжелых и переменных легких доменов α CD3, включительно с активными (например, «VL» или «VH»), иногда также называемыми «aVL» или «aVH») и неактивными (например, «VLi» или «VHi»), иногда также называемыми «iVL» или «iVH») доменами. CDR подчеркнуты.

[0058] На фиг. 8A-8D показан ряд подходящих сайтов расщепления протеазой. Как будет понятно специалистам в данной области техники, данные сайты расщепления можно использовать в качестве расщепляемых линкеров. В некоторых вариантах осуществления, например, когда требуются более гибкие расщепляемые линкеры, могут присутствовать дополнительные аминокислоты (как правило, глицины и серины), которые являются либо N-концевыми, либо C-концевыми, или и то, и другое, относительно данных сайтов расщепления.

[0059] На фиг. 9A-9V представлен ряд последовательностей согласно данному изобретению, хотя в перечне последовательностей также можно найти многие дополнительные последовательности. CDR подчеркнуты и выделены жирным шрифтом, линкеры дважды подчеркнуты (при этом расщепляемые линкеры выделены курсивом и дважды подчеркнуты), а разделение доменов обозначено символом «/». Все метки His6 являются необязательными, так как их можно использовать для снижения иммуногенности у человека, а также в качестве меток для очистки.

[0060] На фиг. 10A-10EE представлены аминокислотные последовательности иллюстративных конструкций формата 2, содержащих ряд sdABD-B7H3 и домен псевдо-

Fv (например, домен Vli2/Vhi2).

[0061] На фиг. 11 проиллюстрирована схема конструкции COBRA и прогнозируемый механизм фолдинга, с прогнозируемой структурой нерасщепленной молекулы сверху, которая все еще связывает опухолевый антиген (EGFR, в случае MVC-101), имеет нарушенное связывание CD3 и связывает альбумин сыворотки крови человека. В середине показаны прогнозируемые продукты расщепления, а слева показан активный димер.

[0062] На фиг. 12A-12Q представлены дополнительные последовательности некоторых COBRA согласно данному изобретению.

[0063] На фиг. 13 показано, что конструкции формата 2 согласно данному изобретению после расщепления и димеризации быстро выводятся из организма мышей, которым они вводились посредством инъекции.

[0064] На фиг. 14 представлена кинетика связывания Pro225.

[0065] На фиг. 15A-15B показано, что конструкции формата 2, в данном случае - Pro225, вызывают регресс развившихся солидных опухолей у мышей.

[0066] На фиг. 16A-16B показано, что конструкции формата 2 согласно данному изобретению, в данном случае - Pro225, демонстрируют повышенную переносимость по сравнению с изначально активными агентами, вовлекающими Т-клетки. На фиг. 16C и 16D показано, что воздействие конструкцией Pro225 приводит к более низкому высвобождению цитокинов у мышей по сравнению с изначально активной биспецифической конструкцией. Pro 225 не индуцирует ИЛ-2, ФНО-а и ИЛ-10 у приматов, отличных от человека, и ИЛ-6 у мышей по сравнению с изначально активными агентами, вовлекающими Т-клетки.

[0067] На фиг. 17 показана эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе Т-клеточно-зависимой клеточной цитотоксичности (ТКЗКЦ), как описано в примере 2. Pro233 представляет собой конструкцию aEGFR с сайтом расщепления MMP9; Pro565 представляет собой конструкцию aEрCAM (h664) с сайтом расщепления MMP9; Pro566 представляет собой конструкцию aEрCAM (h665) с сайтом расщепления MMP9; Pro623 представляет собой heteroCOBRA из aEGFR и aEрCAM (h664) с сайтом MMP9; и Pro624 представляет собой heteroCOBRA из aEGFR и aEрCAM (h665) с сайтом MMP9.

[0068] На фиг. 18 показана эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2. Pro233 представляет собой конструкцию aEGFR с сайтом расщепления MMP9; Pro311 представляет собой конструкцию aFOLR1 с сайтом расщепления MMP9; и Pro421 представляет собой heteroCOBRA из aEGFR и aFOLR1 с сайтом MMP9.

[0069] На фиг. 19 показана эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2. Pro225 представляет собой конструкцию aB7H3 с сайтом расщепления MMP9; Pro566 представляет собой конструкцию aEрCAM с сайтом расщепления MMP9; Pro656 представляет собой

heteroCOBRA из aB7H3 и aErCAM с сайтом MMP9; и Pro658 представляет собой heteroCOBRA из aErCAM и aB7H3 с сайтом MMP9.

[0070] На фиг. 20 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на двух разных клеточных линиях. Pro225 представляет собой конструкцию aB7H3 с сайтом расщепления MMP9; Pro566 представляет собой конструкцию aErCAM с сайтом расщепления MMP9; и Pro656 представляет собой heteroCOBRA из aB7H3 и aErCAM с сайтом MMP9. HT29 представляет собой эпителиальную клеточную линию, которая, в отличие от клеточных линий Raji, образует качественные ксенотрансплантаты у мышей. HT29 экспрессирует оба целевых гена (B7H3 и ErCAM), и в данном случае экспрессия B7H3 была отключена посредством нокаута с помощью CRISPR. Следовательно, heteroCOBRA и однонацеленная COBRA ErCAM уничтожили оба, в то время как однонацеленная COBRA B7H3 этого не осуществила.

[0071] На фиг. 21 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на клеточной линии HT29, которая имеет высокую экспрессию ErCAM и низкую экспрессию Trop2. Pro824 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 с линкером MMP9. Pro825 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 с NCL (например, нерасщепляемую контрольную конструкцию). Pro826 представляет собой heteroCOBRA aTrop2 X aErCAM с линкером MMP9. Pro827 представляет собой heteroCOBRA aTrop2 X aErCAM с NCL (нерасщепляемая контрольная конструкция). Pro677 представляет собой COBRA aTrop2/MMP9 и Pro566 представляет собой COBRA aErCAM/MMP9. Поскольку уровни двух антигенов различаются, heteroCOBRA поддерживают высокий уровень уничтожения, в то время как уничтожение моноспецифическими (например, нацеленным на один опухолевый антиген) COBRA варьирует. Моноспецифические COBRA не уничтожают так же хорошо, когда уровень экспрессии их специфического антигена падает (в данном случае - Trop2); это же верно для фиг. 22 и 23.

[0072] На фиг. 22 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на клеточной линии HT116, которая имеет высокую экспрессию ErCAM и очень низкую экспрессию Trop2. Pro824 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 с линкером MMP9. Pro825 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro826 представляет собой heteroCOBRA aTrop2 X aErCAM с линкером MMP9. Pro827 представляет собой heteroCOBRA aTrop2 X aErCAM с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro677 представляет собой моноспецифическую COBRA aTrop2/MMP9 и Pro566 представляет собой моноспецифическую COBRA aErCAM/MMP9.

[0073] На фиг. 23 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на клеточной линии VXPC3, которая имеет среднюю экспрессию ErCAM и высокую экспрессию Trop2. Pro824 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 с линкером MMP9. Pro825

представляет собой heteroCOBRA aEpCAM X aTrop2 с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro826 представляет собой heteroCOBRA aTrop2 X aEpCAM с линкером MMP9. Pro827 представляет собой heteroCOBRA aTrop2 X aEpCAM с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro677 представляет собой моноспецифическую COBRA aTrop2/MMP9 и Pro566 представляет собой моноспецифическую COBRA aEpCAM/MMP9.

[0074] На фиг. 24 показана эффективность *in vivo* для COBRA aEpCAM с сайтом расщепления MMP9 при использовании протокола 2 из примера 3. Pro566 проявил эффективность на опухолях LoVo, а также на опухолевых ксенотрансплантатах HT29, VxPC3 и SW403.

[0075] На фиг. 25 показана эффективность *in vivo* для COBRA aTrop2 с сайтом расщепления MMP9 при использовании протокола 2 из примера 3. Pro677 проявил эффективность на опухолях VxPC3, а также на опухолевых ксенотрансплантатах HCC827.

[0076] На фиг. 26 показана эффективность *in vivo* для COBRA aV7H3 с сайтом расщепления MMP9 при использовании протокола 3 из примера 3. Pro225 проявил эффективность на опухолях A549.

[0077] Фиг. 27А-27Е представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что моноспецифическая COBRA, содержащая два sdABD-HER2 (aHer2 hVIB1139), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие HER2 человека или яванской макаки, в анализах Т-клеточно-зависимой клеточной цитотоксичности (ТКЗКЦ). Фиг. 27А: на клетках HER2-Raji человека тестировали различные слитые белки. Фиг. 27В: на клетках Her2-Raji яванской макаки тестировали различные слитые белки. Фиг. 27С: клетки Raji, на которых тестировали различные слитые белки. Фиг. 27D: на клетках SKOV3 с высокой экспрессией HER2 тестировали различные слитые белки. Фиг. 27Е: на клетках HT29 с низкой экспрессией HER2 тестировали различные слитые белки. Тестируемые слитые белки были следующими: Pro1123 NCL (нерасщепляемый контроль), Pro1117 MMP9 (нерасщепленная MMP9-содержащая COBRA), Pro1117 MMP9cl (расщепленная MMP9-содержащая COBRA) или Pro1060 формата Pro51 (положительный контроль, имеющий формат, аналогичный формату положительного контроля Pro51 против EGFR x CD3, как описано в US2020/0347132 и WO2020/181140) и Pro1069 AD (только активный домен). Аминокислотная последовательность Pro1117 представлена на фиг. 74 и SEQ ID NO:493.

[0078] Фиг. 28А-28Е представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что моноспецифическая COBRA, содержащая два sdABD-HER2 (aHer2 h1159), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие HER2 человека или яванской макаки, в анализах ТКЗКЦ. Фиг. 28А на клетках HER2-Raji человека тестировали различные слитые белки. Фиг. 28В: на клетках HER2-Raji яванской макаки тестировали различные слитые белки. Фиг. 28С: клетки Raji, на которых тестировали различные слитые белки. Фиг. 28D: на клетках SKOV3 с высокой экспрессией HER2 тестировали различные слитые белки. Фиг. 28Е: клетки HT29 с низкой экспрессией HER2, на которых тестировали различные слитые белки. Тестируемые слитые белки были

следующими: Pro1110 NCL, Pro1109 MMP9, Pro1109 MMP9cl, Pro 1062 Pro51 (положительный контроль, имеющий формат, аналогичный формату положительного контроля Pro51 против EGFR x CD3, как описано в US2020/0347132 и WO2020/181140) и Pro1071 AD. Аминокислотная последовательность Pro1109 представлена на фиг. 73 и SEQ ID NO:491.

[0079] Фиг. 29А-29Е представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что моноспецифическая СОВРА, содержащая два sdABD-HER2 (aHER2 h1162), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие HER2 человека или яванской макаки, в анализах ТКЗКЦ. Фиг. 29А: на клетках HER2-Raji человека тестировали различные слитые белки Фиг. 29В: на клетках HER2-Raji яванской макаки тестировали различные слитые белки. Фиг. 29С: клетки Raji, на которых тестировали различные слитые белки. Фиг. 29D: на клетках SKOV3 с высокой экспрессией HER2 тестировали различные слитые белки. Фиг. 29Е: на клетках HT29 с низкой экспрессией HER2 тестировали различные слитые белки. Тестированные слитые белки были следующими: Pro1112 NCL, Pro1111 MMP9, Pro 1111 MMP9cl, Pro1064 Pro51 и Pro1073 AD. Аминокислотная последовательность Pro1111 представлена на фиг. 73 и SEQ ID NO:492.

[0080] Фиг. 30А-30Е представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что моноспецифическая СОВРА, содержащая два sdABD-HER2 (aHer2 h1156), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие HER2 человека или яванской макаки, в анализах ТКЗКЦ. Фиг. 30А на клетках HER2-Raji человека тестировали различные слитые белки Фиг. 30В: клетки HER2-Raji яванской макаки, на которых тестировали различные слитые белки. Фиг. 30С: клетки Raji, на которых тестировали различные слитые белки. Фиг. 30D: на клетках SKOV3 с высокой экспрессией HER2 тестировали различные слитые белки. Фиг. 30Е: на клетках HT29 с низкой экспрессией HER2 тестировали различные слитые белки. Тестированные слитые белки были следующими: Pro1124 NCL, Pro1118 MMP9, Pro 1118 MMP9cl и Pro106 Pro51. Аминокислотная последовательность Pro1118 представлена на фиг. 74 и SEQ ID NO:494.

[0081] Фиг. 31А-31С представляют собой серию графиков, на которых представлены результаты для репрезентативных слитых белков aHER2 Pro51 - Pro1043 VIB1139, Pro 1044 VIB1156, Pro1045 VIB1159 и Pro1047 VIB1162, которые были выбраны для демонстрации высокой активности и перекрестной реактивности с яванской макакой в анализах ТКЗКЦ, в то время как Pro1036 VIB1055 и Pro1038 VIB1059 продемонстрировали слабую активность.

[0082] Фиг. 32 представляет собой график, демонстрирующий, что СОВРА HER2/MMP9 вызывает регресс прижившихся ксенотрансплантатов N87. В данном анализе Pro1118 применяли в дозе 100 мкг/кг.

[0083] Фиг. 33 представляет собой график, демонстрирующий, что фармакокинетика (ФК) СОВРА HER2/MMP9 согласуется со связыванием HER2 у мыши. В данном анализе Pro1111 применяли в дозе 30 мкг/кг.

[0084] Фиг. 34 представляет собой таблицу, в которой представлен биннинг эпитопов различных HER2 sdAb. Конкурирующие антитела при 100 нМ тестировали с насыщающими антителами при 333 нМ. Тестируемые антитела aHER2 были следующими: VIB1121, VIB1139, VIB1058, VIB1097, трастузумаб, VIB1156, VIB1160, VIB1159 и VIB1162. «В» обозначает связывание конкурирующего антитела, а «NB» обозначает отсутствие связывание конкурирующего антитела.

[0085] Фиг. 35 представляет собой таблицу, в которой представлен биннинг эпитопов различных HER2 sdAb. Конкурирующие антитела при 100 нМ тестировали с насыщающими антителами при 333 нМ. Тестируемые антитела были следующими: Pro1118, Pro1111, трастузумаб и пертузумаб. «В» обозначает связывание конкурирующего антитела, а «NB» обозначает отсутствие связывание конкурирующего антитела.

[0086] Фиг. 36 представляет собой перечень аминокислотных местоположений и последовательностей для картирования эпитопов HER2 sdAb h1156 (SEQ ID NO:503) и HER2 sdAb h1162 (SEQ ID NO:511).

[0087] Фиг. 37 представляет собой таблицу, в которой представлены аффинности HER2 sdAb формата Pro51. Различные комбинации sdAb и слитых белков исследовали у человека, яванской макаки и мыши. Комбинации были следующими: 1055 и Pro1036; 1058 и Pro1037; 1059 и Pro1038; 1091 и Pro1039; 1092 и Pro1040; 1097 и Pro1041; 1121 и Pro1042; 1139 и Pro1043; 1156 и Pro1044; 1159 и Pro1045; 1160 и Pro1046; 1162 и Pro1047; h1058 и Pro1056; h1092 и Pro1057; h1097 и Pro1058; h1121 и Pro1059; h1139 и Pro1060; h1156 и Pro1061; h1159 и Pro1062; h1160 и Pro1063; и h1162 и Pro1064.

[0088] Фиг. 38А-38С представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что моноспецифическая COBRA, содержащая два sdABD-CA9 (aCA9 h407), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки, в анализах ТКЗКЦ. Фиг. 38А: на клетках CA9-Raji человека тестировали различные слитые белки. Фиг. 38В: на клетках CA9-Raji яванской макаки тестировали различные слитые белки. Фиг. 38С: на клетках HT29 тестировали различные слитые белки. Тестируемые слитые белки были следующими: Pro514 NCL, Pro518 MMP9, Pro518 MMP9cl, Pro511 Pro51 и Pro521 AD. Аминокислотная последовательность Pro518 представлена на фиг. 10АА и SEQ ID NO:331.

[0089] Фиг. 39А-39С представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что моноспецифическая COBRA, содержащая два sdABD-CA9 (aCA9 h445), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки. Фиг. 39А на клетках CA9-Raji человека тестировали различные слитые белки. Фиг. 39В: на клетках CA9-Raji яванской макаки тестировали различные слитые белки. Фиг. 39С: на клетках HT29 тестировали различные слитые белки. Тестируемые слитые белки были следующими: Pro515 NCL, Pro519 MMP9, Pro519 MMP9cl и Pro512 Pro51. Аминокислотная последовательность Pro519 представлена на фиг. 10ВВ и SEQ ID NO:332.

[0090] Фиг. 40А-40С представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что

моноспецифическая COBRA, содержащая два sdABD-CA9 (aCA9 h456), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки, в анализах ТКЗКЦ. Фиг. 40А: на клетках CA9-Raji человека тестировали различные слитые белки. Фиг. 40В: на клетках CA9-Raji яванской макаки тестировали различные слитые белки. Фиг. 40С: клетки HT29, на которых тестировали различные слитые белки. Тестируемые слитые белки были следующими: Pro1095 NCL, Pro516 MMP9, Pro516 MMP9cl и Pro509 Pro51. Аминокислотная последовательность Pro516 представлена на фиг. 10Z и SEQ ID NO:329.

[0091] Фиг. 41А-41С представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что моноспецифическая COBRA, содержащая два sdABD-CA9 (aCA9 h476), кондиционально уничтожает линии опухолевых клеток, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки, в анализах ТКЗКЦ. Фиг. 41А: на клетках CA9-Raji человека тестировали различные слитые белки. Фиг. 41В: на клетках CA9-Raji яванской макаки тестировали различные слитые белки. Фиг. 41С: на клетках HT29 тестировали различные слитые белки. Тестируемые слитые белки были следующими: Pro513 NCL, Pro517 MMP9, Pro517 MMP9cl, Pro520 AD и Pro510 Pro51. Аминокислотная последовательность Pro517 представлена на фиг. 10AA и SEQ ID NO:330.

[0092] Фиг. 42 представляет собой таблицу, в которой представлены аффинности CA9 sdAb формата Pro51. Различные sdAb, комбинации sdAb и слитые белки исследовали у человека, яванской макаки и мыши. sdAb были следующими: h407, h445, h456, h472 и h476, а комбинации были следующими: h445 и Pro512; h456 и Pro509; и h476 и Pro510.

[0093] Фиг. 43А-43В представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA CA9/MMP9 вызывают регресс прижившихся опухолевых ксенотрансплантатов. Опухоль SNU-16 в присутствии Pro513, нерасщепляемого контроля, Pro517 и Pro518, все в дозе 300 мкг/кг. Опухоль 786-О в присутствии Pro513 и Pro517, все в дозе 100 мкг/кг.

[0094] Фиг. 44 представляет собой график, на котором показано, что hetero-COBRA CA9/MMP9. ФК для Pro516 согласуется с его связыванием с белком CA9 мыши. Pro517 и Pro 516 применяли в дозе 100 мкг/кг.

[0095] На фиг. 45А-45D представлена серия графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA EGFR/EpCAM индуцируют ТКЗКЦ на клетках Raji, экспрессирующих один или оба антигена. На родительских клетках Raji (фиг. 45А), клетках Raji-EGFR (фиг. 45В), клетках Raji-EpCAM (фиг. 45С) и клетках Raji-EGFR/EpCAM (фиг. 45D) тестировали моноспецифические COBRA (моноспецифические COBRA Pro233 EGFR/EGFR) и Pro566 (моноспецифические COBRA EpCAM/EpCAM), и hetero-COBRA (hetero-COBRA Pro624 EGFR/EpCAM) и Pro698 (hetero-COBRA EpCAM/EGFR). Все COBRA предварительно расщепляли.

[0096] Фиг. 46А-46С представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA EGFR/EpCAM, содержащие EGFR sdABD hD12 и EpCAM sdABD h665, индуцировали ТКЗКЦ на клетках HT29, экспрессирующих оба антигена. Фиг. 46А: hetero-

COBRA EGFR/EpCAM тестировали с Pro623 MMP9, расщепленным Pro623, Pro625 NCL и с буфером в качестве контроля. Фиг. 46B: hetero-COBRA EGFR/EpCAM (EpCAM sdABD h665/EGFR sdABD hD12) тестировали с Pro698 MMP9, Pro698 MMP9cl, Pro699 NCL и с буфером в качестве контроля. Фиг. 46C: hetero-COBRA EGFR/EpCAM (hD12/h665) тестировали с Pro624 MMP9, Pro624 MMP9cl, Pro626 NCL и с буфером в качестве контроля. Аминокислотная последовательность Pro624 представлена на фиг. 10W и SEQ ID NO:323. Аминокислотная последовательность Pro623 представлена на фиг. 10X и SEQ ID NO:322. Аминокислотная последовательность Pro698 представлена на фиг. 10X и SEQ ID NO:324.

[0097] На фиг. 47A-47C представлена серия графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA EGFR/FOLR1 индуцирует ТКЗКЦ на клетках Raji, экспрессирующих один или оба антигена. На клетках Raji-EGFR (фиг. 47A), клетках Raji-FOLR1 (фиг. 47B), клетках Raji-EGFR/FOLR1 (фиг. 47C) тестировали моноспецифические COBRA: Pro233 (EGFR/EGFR) и Pro311 (FOLR1/ FOLR1) и hetero-COBRA: Pro421 (EGFR/FOLR1) и Pro420 (FOLR1/EGFR). Все COBRA предварительно расщепляли. Аминокислотная последовательность Pro420 представлена на фиг. 9G и SEQ ID NO:421. Аминокислотная последовательность Pro421 представлена на фиг. 9G и SEQ ID NO:422. Аминокислотная последовательность Pro233 представлена на фиг. 9D и SEQ ID NO:415. Аминокислотная последовательность Pro311 представлена на фиг. 9D и SEQ ID NO:416.

[0098] Фиг. 48A-48C представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA aFOLR1/aEGFR, содержащая EGFR D12 и FOLR1 h59-3, уничтожила опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и FOLR1, и EGFR, кондиционально. Фиг. 48A: на клетках H292 тестировали моноспецифические COBRA: Pro214 NCL (EGFR D12), Pro186 MMP9 (EGFR D12) и Pro186 MMP9cl (EGFR D12). Фиг. 48B: на клетках H292 тестировали моноспецифические COBRA: Pro303 NCL (FOLR1 h59-3), Pro312 MMP9 (FOLR1 h59-3) и Pro312 MMP9cl (FOLR1 h59-3). Фиг. 48C: на клетках H292 тестировали hetero-COBRA: Pro550 NCL (EGFR D12/FOLR1 h59-3), Pro551 MMP9 (EGFR D12/FOLR1 h59-3) и Pro551 (MMP9cl EGFR D12/FOLR1 h59-3). Аминокислотная последовательность Pro551 представлена на фиг. 10V и SEQ ID NO:320.

[0099] Фиг. 49A-49D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что aFOLR1(h77.2)/aEGFR (hD12) уничтожила опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и FOLR1, и EGFR, кондиционально. Фиг. 49A: на клетках H292 тестировали моноспецифические COBRA: Pro600 NCL (EGFR/EGFR), Pro233 MMP9 EGFR/EGFR и Pro233 MMP9cl (EGFR/EGFR). Фиг. 49B: на клетках H292 тестировали моноспецифические COBRA: Pro299 NCL FOLR1/FOLR1, Pro311 MMP9 (FOLR1/FOLR1) и Pro311 MMP9cl (FOLR1/FOLR1). Фиг. 49C: на клетках H292 тестировали следующие hetero-COBRA: Pro420 MMP9 (FOLR1/EGFR) и Pro420 MMP9cl (FOLR1/EGFR). Фиг. 49D: на клетках H292 тестировали следующие hetero-COBRA: Pro421 MMP9 (EGFR/FOLR1) и Pro421 MMP9cl (EGFR/FOLR1). Аминокислотная последовательность Pro420 представлена на фиг. 9G и SEQ ID NO:421. Аминокислотная последовательность Pro421

представлена на фиг. 9G и SEQ ID NO:422.

[00100] Фиг. 50 представляет собой таблицу, в которой перечислены аффинности HeteroCOBRA EGFR/FOLR1 по сравнению с молекулами формата Pro51.

[00101] Фиг. 51A-51D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что Pro566 аЕрСАМ (h664) уничтожает трансфицированные ЕрСАМ Raji и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие ЕрСАМ, кондиционально. На клетках Trop2-Raji (фиг. 51A), клетках ЕрСАМ-Raji (фиг. 51B), клетках SKOV3 (фиг. 51C) и клетках HT29 (фиг. 51D) тестировали Pro566 и расщепленный Pro566 (Pro566cl).

[00102] Фиг. 52A-52D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что Pro677 аTrop2 (h557) уничтожает трансфицированные Trop2 Raji и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие Trop2, кондиционально. На клетках Trop2-Raji (фиг. 52A), клетках ЕрСАМ-Raji (фиг. 52B), клетках SKOV3 (фиг. 52C) и клетках HT29 (фиг. 52D) тестировали Pro677 и расщепленный Pro677 (Pro677cl).

[00103] Фиг. 53A-53D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что Pro824 аЕрСАМ (h664)/аTROP2 (h557) уничтожает трансфицированные Raji и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и TROP2, и ЕрСАМ, кондиционально. На клетках Trop2-Raji (фиг. 53A), клетках ЕрСАМ-Raji (фиг. 53B), клетках SKOV3 (фиг. 53C) и клетках HT29 (фиг. 53D) тестировали Pro824 и расщепленный Pro824 (Pro824cl).

[00104] Фиг. 54A-54D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что Pro826 аTROP2 (h557)/аЕрСАМ (h664) уничтожает трансфицированные Raji и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и TROP2, и ЕрСАМ, кондиционально. На клетках Trop2-Raji (фиг. 54A), клетках ЕрСАМ-Raji (фиг. 54B), клетках SKOV3 (фиг. 54C) и клетках HT29 (фиг. 54D) тестировали Pro826 и расщепленный Pro826 (Pro826cl).

[00105] Фиг. 55A-55D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что все COBRA и HeteroCOBRA ЕрСАМ и Trop2 хорошо срабатывают на ВХРС3. Фиг. 55A: на клетках ВХРС3 тестировали Pro569 NCL, Pro566 MMP9 и Pro566 MMP9cl. Фиг. 55B: на клетках ВХРС3 тестировали Pro681 NCL, Pro677 MMP9 и Pro677 MMP9cl. Фиг. 55C: на клетках ВХРС3 тестировали Pro825 NCL, Pro824 MMP9 и Pro824 MMP9cl. Фиг. 55D: на клетках ВХРС3 тестировали Pro827 NCL, Pro826 MMP9 и Pro826 MMP9cl.

[00106] Фиг. 56A-56D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что все COBRA и HeteroCOBRA ЕрСАМ и Trop2 хорошо срабатывают на НСТ116. Фиг. 56A: на клетках НСТ116 (клеточная линия рака толстой кишки человека) тестировали Pro569 NCL, Pro566 MMP9 и Pro566 MMP9cl. Фиг. 56B: на клетках НСТ116 тестировали Pro681 NCL, Pro677 MMP9 и Pro677MMP9cl. Фиг. 56C: на клетках НСТ116 тестировали Pro825 NCL, Pro824 MMP9 и Pro824 MMP9cl. Фиг. 56D: на клетках НСТ116 тестировали Pro827 NCL, Pro826 MMP9 и Pro846 MMP9cl.

[00107] Фиг. 57A-57D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что все COBRA и Hetero-COBRA ЕрСАМ и Trop2 хорошо срабатывают на SCC25. Фиг. 57A: на клетках SCC25 тестировали Pro569 NCL, Pro566 MMP9 и Pro566 MMP9cl. Аминокислотная последовательность Pro566 представлена на фиг. 10F и SEQ ID NO:289.

Фиг. 57B: на клетках SCC25 тестировали Pro681 NCL, Pro677 MMP9 и Pro677 MMP9cl. Аминокислотная последовательность Pro677 представлена на фиг. 10K и SEQ ID NO:298. Фиг. 57C: на клетках SCC25 тестировали Pro825 NCL, Pro824 MMP9 и Pro824 MMP9cl. Аминокислотная последовательность Pro824 представлена на фиг. 12Q и SEQ ID NO:485. Фиг. 57D: на клетках SCC25 тестировали Pro827 NCL, Pro826 MMP9 и Pro826 MMP9cl. Аминокислотная последовательность Pro826 представлена на фиг. 12Q и SEQ ID NO:486.

[00108] На фиг. 58A-58D представлена серия графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA B7H3/EpCAM индуцируют ТКЗКЦ на клетках, экспрессирующих один или оба антигена. На родительских клетках Raji (фиг. 58A), клетках Raji-B7H3 (фиг. 58B), клетках Raji-EpCAM (фиг. 58C) и клетках Raji-B7H3/EpCAM (фиг. 58D) тестировали моноспецифические COBRA: Pro225 (B7H3/B7H3) и Pro566 (EpCAM/EpCAM), и hetero-COBRA: Pro656 (B7H3/EpCAM) и Pro658 (EpCAM/B7H3). Все COBRA предварительно расщепляли. Аминокислотная последовательность Pro225 представлена на фиг. 10DD и SEQ ID NO:336. Аминокислотная последовательность Pro566 представлена на фиг. 10F и SEQ ID NO:289. Аминокислотная последовательность Pro656 представлена на фиг. 10Y и SEQ ID NO:326. Аминокислотная последовательность Pro658 представлена на фиг. 10Z и SEQ ID NO:328.

[00109] Фиг. 59A-59D представляют собой серию графиков, демонстрирующих результаты CRISPR-нокаута для клеточных линий. На клетках HT29 (фиг. 59A), клетках HT29-B7H3 KO (фиг. 59B), клетках HT29-EpCAM KO (фиг. 59C) и клетках HT29-B7H3/EpCAM KO (фиг. 59D) тестировали моноспецифические COBRA: Pro225 (B7H3/B7H3) и Pro566 (EpCAM/EpCAM), и hetero-COBRA: Pro656 (B7H3/EpCAM). Все COBRA предварительно расщепляли. Аминокислотная последовательность Pro225 представлена на фиг. 10DD и SEQ ID NO:336. Аминокислотная последовательность Pro566 представлена на фиг. 10F и SEQ ID NO:289. Аминокислотная последовательность Pro656 представлена на фиг. 10Y и SEQ ID NO:326.

[00110] Фиг. 60A-60D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA EpCAM/B7H3, содержащие aEpCAM sdABD (h664) и aB7H3 sdABD (hF7), уничтожили опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и EpCAM, и B7H3, кондиционально. Фиг. 60A: на клетках IGROV тестировали Pro295 NCL (B7H3), Pro225 MMP9 (B7H3) и Pro225 MMP9cl (B7H3). Фиг. 60B: на клетках IGROV тестировали Pro568 NCL (EpCAM), Pro565 MMP9 (EpCAM) и Pro565 MMP9cl (EpCAM). Фиг. 60C: на клетках IGROV тестировали Pro659 NCL (B7H3/EpCAM), Pro655 MMP9 (B7H3/EpCAM) и Pro655 MMP9cl (B7H3/EpCAM). Фиг. 60D: на клетках IGROV тестировали Pro661 NCL (EpCAM/B7H3), Pro657 MMP9 (EpCAM/B7H3) и Pro657 MMP9cl (EpCAM/B7H3). Аминокислотная последовательность Pro655 представлена на фиг. 10X и SEQ ID NO:325. Аминокислотная последовательность Pro657 представлена на фиг. 10Y и SEQ ID NO:327.

[00111] Фиг. 61A-61D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA aEpCAM/aB7H3, содержащие aEpCAM sdABD (h665) и aB7H3 sdABD (hF7) sdABD, уничтожили опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и EpCAM, и

В7Н3, кондиционально. Фиг. 61А: на клетках IGROV тестировали Pro295 NCL (В7Н3), Pro225 MMP9 (В7Н3) и Pro225 MMP9cl (В7Н3). Фиг. 61В: на клетках IGROV тестировали Pro569 NCL (ЕрСАМ), Pro566 MMP9 (ЕрСАМ) и Pro566 MMP9cl (ЕрСАМ). Фиг. 61С: на клетках IGROV тестировали Pro660 NCL (В7Н3/ЕрСАМ), Pro656 MMP9 (В7Н3/ЕрСАМ) и Pro656 MMP9cl (В7Н3/ЕрСАМ). Фиг. 61D: на клетках IGROV тестировали Pro662 NCL (ЕрСАМ/В7Н3), Pro658 MMP9 (ЕрСАМ/В7Н3) и Pro658 MMP9cl (ЕрСАМ/В7Н3). Аминокислотная последовательность Pro656 представлена на фиг. 10Y и SEQ ID NO:326. Аминокислотная последовательность Pro658 представлена на фиг. 10Z и SEQ ID NO:328.

[00112] Фиг. 62А-62D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA aЕрСАМ/aВ7Н3, содержащие aЕрСАМ sdABD (h664) и aВ7Н3 sdABD (hF7), уничтожили опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и ЕрСАМ, и В7Н3, кондиционально. Фиг. 62А: на клетках H292 тестировали Pro295 NCL (В7Н3), Pro225 MMP9 (В7Н3) и Pro225 MMP9cl (В7Н3). Фиг. 62В: на клетках H292 тестировали Pro568 NCL (ЕрСАМ), Pro565 MMP9 (ЕрСАМ) и Pro565 MMP9cl (ЕрСАМ). Фиг. 62С: на клетках H292 тестировали Pro659 NCL (В7Н3/ЕрСАМ), Pro655 MMP9 (В7Н3/ЕрСАМ) и Pro655 MMP9cl (В7Н3/ЕрСАМ). Фиг. 62D: на клетках H292 тестировали Pro661 NCL (ЕрСАМ/В7Н3), Pro657 MMP9 (ЕрСАМ/В7Н3) и Pro657 MMP9cl (ЕрСАМ/В7Н3).

[00113] Фиг. 63А-63D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что hetero-COBRA aЕрСАМ/aВ7Н3, содержащие aЕрСАМ sdABD (h665) и aВ7Н3 sdABD (hF7), уничтожили опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и ЕрСАМ, и В7Н3, кондиционально. Фиг. 63А: на клетках H292 тестировали Pro295 NCL (В7Н3), Pro225 MMP9 (В7Н3) и Pro225 MMP9cl (В7Н3). Фиг. 63В: на клетках H292 тестировали Pro569 NCL (ЕрСАМ), Pro566 MMP9 (ЕрСАМ) и Pro566 MMP9cl (ЕрСАМ). Фиг. 63С: на клетках H292 тестировали Pro660 NCL (В7Н3/ЕрСАМ), Pro656 MMP9 (В7Н3/ЕрСАМ) и Pro656 MMP9cl (В7Н3/ЕрСАМ). Фиг. 63D: на клетках H292 тестировали Pro662 NCL (ЕрСАМ/В7Н3), Pro658 MMP9 (ЕрСАМ/В7Н3) и Pro658 MMP9cl (ЕрСАМ/В7Н3).

[00114] Фиг. 64А-64D представляют собой серию графиков, демонстрирующих эффект Т-клеточно-зависимой клеточной токсичности (ТКЗКЦ) на линии опухолевых клеток. На клетках HT29 (фиг. 64А), клетках U87-MG (ЕрСАМ-отрицательные) (фиг. 64В), клетках Саран2 (фиг. 64С) и клетках VCAP (фиг. 64D) тестировали моноспецифические COBRA: Pro225 (В7Н3/В7Н3) и Pro566 (ЕрСАМ/ЕрСАМ), и hetero-COBRA: Pro656 (В7Н3/ЕрСАМ) и Pro658 (ЕрСАМ/В7Н3). Все COBRA предварительно расщепляли.

[00115] Фиг. 65 представляет собой график, показывающий люциферазную активацию Т-клеток Jurkat с клетками HT29. На клетках HT29 тестировали моноспецифические COBRA: Pro225 (В7Н3/В7Н3) и Pro566 (ЕрСАМ/ЕрСАМ), и hetero-COBRA: Pro656 (В7Н3/ЕрСАМ) и Pro658 (ЕрСАМ/В7Н3). Все COBRA предварительно расщепляли.

[00116] Фиг. 66А-66D представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что активность hetero-COBRA на клетках HT29 является менее чувствительной к

ингибированию растворимым антигеном по сравнению с моноспецифическими COBRA. Клетки анализировали с растворимым EpCAM, растворимым B7H3 4Ig и без антигена (контроль) вместе с моноспецифическими COBRA: Pro225 (B7H3/B7H3) на фиг. 66A и Pro566 (EpCAM/EpCAM) на фиг. 66B, и с hetero-COBRA: Pro656 (B7H3/EpCAM) на фиг. 66C и Pro658 (EpCAM/B7H3) на фиг. 66D. Более сильное ингибирование было выявлено с моноспецифическими COBRA. Все COBRA предварительно расщепляли.

[00117] Фиг. 67 представляет собой таблицу, в которой указаны аффинности связывания конструкций hetero-COBRA B7H3/EpCAM. Антигены, включительно с huB7H3-4Ig отдельно, huEpCAM и huB7H3-4Ig, и huEpCAM отдельно, анализировали с hetero-COBRA Pro656 (B7H3/EpCAM) и Pro658 (EpCAM/B7H3).

[00118] Фиг. 68 представляет собой график, демонстрирующий фармакокинетику различных heteroCOBRA B7H3/EpCAM.

[00119] Фиг. 69 представляет собой график, демонстрирующий, что hetero-COBRA B7H3/EpCAM активны в мышинной модели ксенотрансплантата, происходящего из клеточной линии HT29. Дозы конструкций hetero-COBRA, таких как Pro660 NCL (B7H3/EpCAM; 0,3 мг/кг), Pro656 MMP9 (B7H3/EpCAM; 0,01 мг/кг), Pro656 MMP9 (B7H3/EpCAM; 0,03 мг/кг) и Pro656 MMP9 (0 B7H3/EpCAM; 1 мг/кг), вводили через разные промежутки времени.

[00120] Фиг. 70 представляет собой график, демонстрирующий, что hetero-COBRA B7H3/EpCAM активны в мышинной модели ксенотрансплантата, происходящего из клеточной линии HT29. Дозы heteroCOBRA, таких как Pro662 NCL (EpCAM/B7H3; 0,1 мг/кг) и Pro658 MMP9 (EpCAM/B7H3; 0,1 мг/кг), вводили через разные промежутки времени.

[00121] На фиг. 71-72 представлены дополнительные последовательности иллюстративных heteroCOBRA (двунацеленных COBRA), описанных в данном документе.

[00122] На фиг. 73-74 представлены дополнительные последовательности иллюстративных моноспецифических COBRA HER2 (однацеленных COBRA).

[00123] На фиг. 75 представлены последовательности гуманизированного sdAb h664 против EpCAM и гуманизированных sdAb h1139, h1156, h1159 и h1162 против HER2, описанных в данном документе.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Введение

[00124] Данное изобретение направлено на способы снижения токсичности и побочных эффектов биспецифических антител (включительно с антителоподобными функциональными белками), которые связываются с важными физиологическими целевыми молекулами, такими как CD3 и опухолевые антигены. Многие антигенсвязывающие белки, такие как антитела, могут оказывать значительные побочные эффекты, воздействуя на нормальные ткани, и, следовательно, существует необходимость активировать связывающие способности терапевтической молекулы только вблизи

пораженной ткани, чтобы избежать взаимодействий с нормальными тканями. Соответственно, данное изобретение направлено на мультивалентные кондиционально эффективные («МКЭ», англ. «MCE») белки, которые имеют ряд функциональных белковых доменов. В общем случае, один из этих доменов представляет собой антигенсвязывающий домен (ABD), который будет связывать целевой опухолевый антиген (ТТА), а другой представляет собой ABD, который при определенных условиях будет связывать Т-клеточный антиген, такой как CD3. В дополнение к этому, МКЭ-белки также включают один или большее число сайтов расщепления протеазой. То есть терапевтические молекулы изготавливаются в формате, подобном «пролекарству», в котором CD3-связывающий домен неактивен до воздействия на него опухолевой среды. Опухолевая среда содержит протеазы, так что при воздействии протеазы пролекарство расщепляется и становится активным.

[00125] Как правило, в данном изобретении это достигается с помощью белков, которые включают «псевдо» вариабельный тяжелый домен и «псевдо» вариабельный легкий домен, направленные на Т-клеточный антиген, такой как CD3, которые удерживают Fv CD3 из МКЭ в неактивном формате, как обсуждается в данном документе. Поскольку ТТА нацеливает МКЭ в близкое к опухоли пространство, МКЭ, следовательно, подвергается воздействию протеазы. После расщепления активный вариабельный тяжелый домен и активный легкий домен теперь способны соединяться в пару, образуя один или большее число активных ABD против CD3 и, следовательно, рекрутируя Т-клетки в опухоль, что приводит к лечению.

[00126] В общем случае, CD3-связывающий домен («Fv») имеет ограниченный формат, в котором линкер между активным вариабельным тяжелым доменом и активным вариабельным легким доменом, которые традиционно образуют Fv, слишком короткий, чтобы позволить этим двум активным вариабельным доменам связываться друг с другом; это называется «ограниченный линкер»; они могут быть ограниченными и расщепляемыми (CCL, как используется в формате 1) или ограниченными и нерасщепляемыми (CNCL, как используется в формате 2). Лучше, в формате пролекарства (например, нерасщепляемого), полипептид пролекарства также содержит «домен псевдо-Fv». Домен псевдо-Fv содержит вариабельный тяжелый и легкий домен со стандартными каркасными областями, но «инертными» или «неактивными» CDR. Домен псевдо-Fv имеет также ограниченный линкер между неактивным вариабельным тяжелым и неактивным вариабельным легким доменами. Поскольку ни домены Fv, ни домены псевдо-Fv не могут самособираться из-за стерических ограничений, происходит внутримолекулярная сборка, которая соединяет aVL с iVH и aVH с iVL благодаря аффинности каркасных областей каждого из них. Однако из-за «инертных» CDR псевдодомена, полученные ABD не будут связывать CD3, тем самым предотвращая токсичность вне пораженной ткани, такой как опухоль. Однако в присутствии протеаз, которые находятся в опухоли или вблизи нее, конструкция пролекарства расщепляется так, что домен псевдо-Fv высвобождается с поверхности и, следовательно, позволяет

«настоящим» переменным тяжелым и переменным легким доменам ассоциироваться межмолекулярно (например, две расщепленные конструкции соединяются вместе), тем самым вызывая активное связывание CD3 и результирующую противоопухолевую эффективность. Данные конструкции обобщенно упоминаются в данном документе как кондициональные биспецифические конструкции перенаправляемой активации, или «COBRA™» (англ. «COnditional Bispecific Redirected Activation constructs»). Стабильность внутримолекулярной сборки продемонстрирована кондициональными экспериментами, описанными в данном документе, при этом в отсутствие протеазы нерасщепленные конструкции не обладают активностью (например, не образуется активный CD3-связывающий домен).

[00127] Интересно, что для простоты описания, хотя все эти конструкции упоминаются в данном документе как «ограниченные», дополнительная работа показывает, что внутримолекулярная сборка предпочтительна, даже если один из доменов Fv не ограничен, например, один из доменов может иметь более длинный, гибкий линкер. То есть, как показано на фиг. 37-39, внутримолекулярная сборка все еще происходит (например, нерасщепленные конструкции неактивны в отсутствие расщепления протеазой), если ограничен только один из доменов Fv - либо тот, который имеет активные VL и VH, либо домен псевдо-Fv. Однако в представленных системах, когда оба линкера ограничены, белок имеет лучшую экспрессию. Однако, как будет понятно специалистам в данной области техники, любая из конструкций формата 1, формата 2 или формата 4, представленных в данном документе, может иметь один из данных доменов Fv с «неограниченным» или «гибким» линкером. Для удобства представления конструкции показаны с обоими доменами Fv в ограниченном формате.

[00128] Конструкции и форматы согласно данному изобретению являются вариациями по сравнению с вариантами осуществления, описанными в WO2017/156178, WO2019/051102, WO2020/181140, US2019/0076524 и US2020/0347132, и настоящим они явным образом включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте. Как показано на фиг. 17-21 из WO2017/156178, в графических материалах из WO2019/051102 и в графических материалах из WO2020/181140, предшествующие конструкции обладали способностью к изомеризации вследствие наличия 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 достичь равновесия с изоформой диатела. Поскольку одноцепочечное диатело обладает способностью связываться с CD3 в отсутствие расщепления протеазой, полезность такой конструкции снижается.

[00129] Чтобы решить данную проблему, в данном изобретении представлены четыре отдельных типа конструкций для выполнения данной кондициональной активации. Активация пролекарства может происходить одним из четырех основных способов, как в целом показано в графических материалах. На фиг. 1 показан механизм «формата 1». В данном варианте осуществления конструкция пролекарства имеет два

сайта расщепления: один - между доменами VH и vI ограниченного Fv, следовательно, высвобождая два переменных домена для ассоциации, и второй - на сайте, который высвобождает домен псевдо-Fv из конструкции пролекарства, оставляя две молекулы, которые ассоциируются вследствие изначальной способности к самосборке переменного тяжелого и переменного легкого доменов, каждый из которых имеет также антигенсвязывающий домен против опухолевого антигена, что позволяет рекрутировать Т-клетки в опухолевой участок.

[00130] В альтернативном варианте осуществления конструкция пролекарства показана на фиг. 2 - механизм «формата 2». В данном варианте осуществления доменный линкер между активной переменной тяжелой и активной легкой цепями является ограниченным, но нерасщепляемым линкером («CNCL»). В формате пролекарства неактивные VH и VL ограниченного домена псевдо-Fv ассоциируются с VH и VL ограниченного домена Fv, так что связывание CD3 отсутствует. Однако после расщепления в опухолевой среде, два разных активированных белка, каждый из которых содержит активный переменный тяжелый и легкий домен, связываются, образуя два домена связывания против CD3. Данный формат 2 имеет два домена, связывающих целевые опухолевые антигены («TTA-ABD»), которые, как более полно описано ниже, могут быть либо идентичными (например, «homo-COBRA»), либо разными (например, «hetero-COBRA»). Если они разные, каждый из них может быть направлен на другой опухолевый антиген, или они могут быть направлены на один и тот же опухолевый антиген, но на разные эпитопы, как более полно описано ниже.

[00131] В дополнение к форматам «одноцепочечного белка» COBRA, рассмотренным выше, где все компоненты содержатся в одной аминокислотной последовательности, существуют также конструкции, которые основаны на двух белках «hemi-COBRA», которые действуют парами, как показано на фиг. 3. В данном варианте осуществления каждый белок имеет один активный и один инертный переменный домены, разделенные сайтом расщепления протеазой. Каждая молекула содержит TTA-связывающий домен, так что, когда молекулы связываются с TTA и подвергаются воздействию опухолевой протеазы, инертные домены отщепляются, и два активных переменных домена самособираются, образуя домен связывания против CD3.

[00132] В дополнение к этому, в данном изобретении также представлены конструкции «формата 4», как показано на фиг. 4. Они подобны конструкциям «формата 2», за исключением того, что используется один ABD против TTA, так что после расщепления две молекулы пролекарства теперь образуют четырехвалентную биспецифическую конструкцию, содержащую два активных домена против CD3, как дополнительно описано ниже.

[00133] Соответственно, форматы и конструкции согласно данному изобретению находят применение при лечении заболеваний.

Определения

[00134] Для того чтобы данная заявка могла быть понята более полно, ниже

приводятся несколько определений. Такие определения предназначены для охвата грамматических эквивалентов.

[00135] При употреблении в контексте данного документа «аминокислота» и «идентичность аминокислоты» означают одну из 20 встречающихся в природе аминокислот или любые не встречающиеся в природе аналоги, которые могут присутствовать в определенном положении. Во многих вариантах осуществления «аминокислота» означает одну из 20 встречающихся в природе аминокислот. Под «белком» в данном документе подразумеваются по меньшей мере две ковалентно соединенные аминокислоты, включительно с белками, полипептидами, олигопептидами и пептидами.

[00136] Под «аминокислотной модификацией» в данном документе подразумевается аминокислотное замещение, 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, модификация аминокислоты всегда относится к аминокислоте, кодируемой ДНК, например, к 20 аминокислотам, которые имеют кодоны в ДНК и РНК. В данном документе предпочтительной модификацией аминокислоты является замещение.

[00137] Под «аминокислотным замещением» или «замещением» в данном документе подразумевается замещение аминокислоты в конкретном положении в последовательности исходного полипептида другой аминокислотой. В частности, в некоторых вариантах осуществления замещение представляет собой аминокислоту, которая не встречается в природе в конкретном положении, либо не встречается в природе в указанном организме или в любом организме. Для ясности, белок, который был сконструирован с изменением кодирующей нуклеотидной последовательности, но не с изменением исходной аминокислоты (например, замещение CGG (кодирующего аргинин) на CGA (также кодирует аргинин), для повышения уровней экспрессии в организме хозяина), не является «аминокислотным замещением»; то есть, несмотря на создание нового гена, кодирующего такой же белок, если белок имеет такую же аминокислоту в конкретном положении, которая была в нем изначально, это не является аминокислотной заменой.

[00138] При употреблении в контексте данного документа «вставка аминокислоты» или «вставка» означает добавление аминокислотной последовательности в конкретное положение в родительской полипептидной последовательности.

[00139] При употреблении в контексте данного документа «аминокислотная делеция» или «делеция» означает удаление аминокислотной последовательности в конкретном положении в родительской полипептидной последовательности.

[00140] Полипептиды согласно данному изобретению специфически связываются с CD3 с целевыми опухолевыми антигенами (ТТА), такими как рецепторы целевых клеток, как представлено в данном документе. «Специфическое связывание», или «специфически

связывается», или «специфический в отношении» конкретного антигена или эпитопа означает связывание, которое заметно отличается от неспецифического взаимодействия. Специфическое связывание может быть измерено, например, путем определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая в общем случае представляет собой молекулу сходной структуры, которая не обладает активностью связывания. Например, специфическое связывание может быть определено путем конкуренции с контрольной молекулой, сходной с мишенью.

[00141] Специфическое связывание для конкретного антигена или эпитопа может проявляться, например, антителом, имеющим показатель KD в отношении данного антигена или эпитопа, равный по меньшей мере около 10^{-4} M, по меньшей мере около 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, в качестве альтернативы - по меньшей мере около 10^{-10} M, по меньшей мере около 10^{-11} M, по меньшей мере около 10^{-12} M или больше, где KD означает скорость диссоциации конкретного взаимодействия антитело - антиген. Как правило, антитело, которое специфически связывает антиген, будет иметь показатель KD, который в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 или в большее число раз больше для контрольной молекулы по отношению к антигену или эпитопу.

[00142] Также специфическое связывание с конкретным антигеном или эпитопом может проявляться, например, антителом, имеющим показатель KA или Ka в отношении данного антигена или эпитопа, который по меньшей мере в 20, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 или в большее число раз больше в отношении данного эпитопа относительно контроля, где KA или Ka означает скорость ассоциации конкретного взаимодействия антитело - антиген. Аффинность связывания, как правило, измеряют с использованием анализа Biacore или Octet, как известно в данной области техники.

[00143] При употреблении в контексте данного документа «родительский полипептид» или «полипептид-предшественник» (включительно с родительским Fc или предшественниками Fc) означает полипептид, который впоследствии модифицируют для получения варианта. Указанный родительский полипептид может представлять собой встречающийся в природе полипептид, или вариант либо сконструированную версию встречающегося в природе полипептида. Родительский полипептид может относиться к самому полипептиду, композициям, которые содержат родительский полипептид, или к аминокислотной последовательности, которая его кодирует. Соответственно, при употреблении в контексте данного документа «родительский полипептид Fc» означает немодифицированный полипептид Fc, который модифицируют для получения варианта, а «родительское антитело» при употреблении в контексте данного документа означает немодифицированное антитело, которое модифицируют для получения варианта антитела.

[00144] При употреблении в контексте данного документа «положение» означает местоположение в последовательности белка. Положения могут быть пронумерованы последовательно или в соответствии с установленным форматом, например, индексом EU для нумерации антител.

[00145] В контексте данного документа термин «целевой антиген» означает молекулу, которая специфически связана с переменной областью данного антитела. Целевой антиген может представлять собой белок, углевод, липид или другое химическое соединение. В данном документе описан ряд подходящих иллюстративных целевых антигенов.

[00146] При употреблении в контексте данного документа «целевая клетка» означает клетку, которая экспрессирует целевой антиген. Как правило, для целей данного изобретения, целевые клетки представляют собой либо опухолевые клетки, экспрессирующие ТТА, либо Т-клетки, экспрессирующие антиген CD3.

[00147] При употреблении в контексте данного документа «Fv», или «домен Fv», или «область Fv» означает полипептид, который содержит домены VL и VH антигенсвязывающего домена, как правило - из антитела. Домены Fv, как правило, образуют «антигенсвязывающий домен» или «ABD», как обсуждается в данном документе, если они содержат активные домены VH и VL (хотя в некоторых случаях используется Fv, содержащий ограниченный линкер, так что активный ABD не образуется до расщепления). Как обсуждается ниже, домены Fv в данном изобретении могут быть организованы несколькими способами и могут быть «активными» или «неактивными», такими как в формате scFv, ограниченном формате Fv, формате псевдо-Fv и т. д. Следует понимать, что в данном изобретении в некоторых случаях домен Fv образован из доменов VH и VL на одной полипептидной цепи, как показано на фиг. 1 и фиг. 2, но с ограниченным линкером, так что внутримолекулярный ABD образоваться не может. В данных вариантах осуществления именно после расщепления образуются два активных ABD. В некоторых случаях домен Fv состоит из домена VH и домена VL, один из которых является инертным, так что только после расщепления образуется межмолекулярный ABD. Как обсуждается ниже, домены Fv в данном изобретении могут быть организованы несколькими способами и могут быть «активными» или «неактивными», такими как в формате scFv, ограниченном формате Fv, формате псевдо-Fv и т. д. В дополнение к этому, как обсуждается в данном документе, домены Fv, содержащие VH и VL, могут быть получены из ABD, и другие домены, которые не содержат доменов VH и VL, могут быть сформированы с использованием sdABD.

[00148] При употреблении в контексте данного документа «переменный домен» означает область иммуноглобулина, которая содержит один или большее число доменов Ig, по существу кодируемых любым из генов V_κ, V_λ и/или VH, которые составляют генетические локусы иммуноглобулина каппа, лямбда и тяжелой цепи, соответственно. В некоторых случаях может использоваться одиночный переменный домен, такой как sdFv (также обозначаемый в данном документе как sdABD).

[00149] В вариантах осуществления, в которых используются как переменные тяжелые (VH), так и переменные легкие (VL) домены, каждый VH и VL состоит из трех гиперпеременных областей («областей, определяющих комплементарность» - «CDR») и четырех «каркасных областей», или «FR», расположенных от аминоконца к карбокси-

концу в следующем порядке: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Следовательно, 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, области vhFR и области vlFR самоорганизуются, образуя домены Fv. В целом, в форматах пролекарств согласно данному изобретению существуют «ограниченные домены Fv», в которых домены VH и VL не могут самоассоциироваться, и «домены псевдо-Fv», для которых CDR не образуют антигенсвязывающие домены при самоассоциации.

[00150] Гипервариабельные области придают специфичность связывания с антигеном и, как правило, охватывают аминокислотные остатки из около 24-34 аминокислотных остатков (LCDR1; «L» обозначает легкую цепь), 50-56 (LCDR2) и 89-97 (LCDR3) в вариабельной области легкой цепи и из около 31-35В (HCDR1; «H» обозначает тяжелую цепь), 50-65 (HCDR2) и 95-102 (HCDR3) в вариабельной области 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 те остатки, которые образуют гипервариабельную петлю (например, остатки 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) и 91-96 (LCDR3) в вариабельной области легкой цепи и 26-32 (HCDR1), 53-55 (HCDR2) и 96-101 (HCDR3) в вариабельной области тяжелой цепи (Chothia and Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917)). Конкретные CDR согласно данному изобретению описаны ниже.

[00151] Как будет понятно специалистам в данной области техники, точная нумерация и размещение CDR могут различаться в разных системах нумерации. Однако следует понимать, что раскрытие последовательности вариабельной тяжелой и/или вариабельной легкой цепи включает раскрытие связанных (характерных) CDR. Соответственно, раскрытие каждой вариабельной области тяжелой цепи является раскрытием vhCDR (например, vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3), и раскрытие каждой вариабельной области легкой цепи является раскрытием vlCDR (например, vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3).

[00152] Полезное сравнение нумерации CDR приведено ниже, см. Lafranc et al., Dev. Comp. Immunol. 27 (1): 55-77 (2003):

ТАБЛИЦА 1

	По Кабату+ (Kabat+) По Чотиа	IMGT	По Кабату	AbM	По Чотиа	По контакту
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

vICDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
vICDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

[00153] В данном описании система нумерации по Кабату, как правило, используется для обозначения остатка в варибельном домене (приблизительно, остатки 1-107 варибельной области легкой цепи и остатки 1-113 варибельной области тяжелой цепи), а система нумерации EU - для области Fc (например, Kabat et al., выше (1991)).

[00154] В данном изобретении представлено большое число различных наборов CDR. В данном случае «полный набор CDR» в контексте компонента против CD3 содержит три варибельных легких и три варибельных тяжелых CDR, например, vICDR1, vICDR2, vICDR3, vHCDR1, vHCDR2 и vHCDR3. Как будет понятно специалистам в данной области техники, каждый набор CDR, VH и VL CDR, может связываться с антигенами, как по отдельности, так и в качестве набора. Например, в ограниченных доменах Fv, vHCDR могут связываться, например, с CD3, а vICDR могут связываться с CD3, но в ограниченном формате они не могут связываться с CD3.

[00155] В контексте однодоменного ABD («sdABD»), которые обычно используются в данном документе для связывания с целевыми опухолевыми антигенами (ТТА), набор CDR представляет собой всего три CDR; в данной области техники они иногда также называются доменами «VHH».

[00156] Эти CDR могут быть частью более крупной варибельной легкой или варибельной тяжелой области, соответственно. В дополнение к этому, как более полно описано в данном документе, варибельные тяжелые и варибельные легкие домены могут находиться на отдельных полипептидных цепях или на одной полипептидной цепи в случае последовательностей scFv, в зависимости от формата и конфигурации фрагментов, представленных в данном документе.

[00157] CDR способствуют образованию антигенсвязывающих или, более конкретно, эпитопсвязывающих сайтов. «Эпитоп» означает детерминанту, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом в варибельных областях, известным как паратоп. Эпитопы представляют собой группы молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи сахара, и обычно имеют специфические структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Один антиген может иметь больше чем один эпитоп.

[00158] 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 пределах области, характеризующей специфический антигенсвязывающий пептид.

[00159] Эпитопы могут быть конформационными или линейными. Конформационный эпитоп образуется пространственно соединенными аминокислотами

из разных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп представляет собой эпитоп, образуемый смежными аминокислотными остатками в полипептидной цепи. Конформационные и неконформационные эпитопы могут различаться тем, что связывание с первым, но не со вторым, теряется в присутствии денатурирующих растворителей.

[00160] Обычно эпитоп 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, можно подтвердить с помощью простого иммуноанализа, показывающего способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с целевым антигеном, например, «биннинг». Как описано ниже, данное изобретение включает не только перечисленные в данном документе антигенсвязывающие домены и антитела, но и те, которые конкурируют за связывание с эпитопами, связываемыми перечисленными антигенсвязывающими доменами.

[00161] Вариабельные тяжелые и вариабельные легкие домены согласно данному изобретению могут быть «активными» или «неактивными».

[00162] При употреблении в контексте данного документа «неактивный VH» («iVH») и «неактивный VL» («iVL») относятся к компонентам домена псевдо-Fv, которые, когда сопряжены со своими родственными партнерами VL или VH, соответственно, образуют результирующую пару VH/VL, которая специфически не связывается с антигеном, с которым связывался бы «активный» VH или «активный» VL, если бы он был связан с аналогичным VL или VH, который не был «неактивным». Иллюстративные домены «неактивный VH» и «неактивный VL» образованы мутацией последовательности VH или VL дикого типа, как более полно описано ниже. Иллюстративные мутации находятся в пределах CDR1, CDR2 или CDR3 из VH или VL. Иллюстративная мутация включает размещение доменного линкера внутри CDR2, тем самым формируя домен «неактивный VH» или «неактивный VL». Напротив, «активный VH» или «активный VL» - это тот, который при образовании пары со своим «активным» родственным партнером, т. е. VL или VH, соответственно, способен специфически связываться со своим целевым антигеном. Следовательно, следует понимать, что псевдо-Fv может быть парой VH/iVL, парой iVH/VL или парой iVH/iVL.

[00163] Напротив, при употреблении в контексте данного документа термин «активный» относится к CD3-связывающему домену, который способен специфически связываться с CD3. Данный термин употребляется в двух контекстах: (а) когда речь идет об одном элементе пары, связывающей Fv (т. е. VH или VL), который имеет последовательность, способную образовывать пару со своим родственным партнером и специфически связываться с CD3; и (б) пара родственных (т. е. VH и VL) последовательностей, способных специфически связываться с CD-. Иллюстративная «активная» пара VH, VL или VH/VL представляет собой последовательность дикого типа или родительскую последовательность.

[00164] «CD-x» относится к белку - кластеру дифференциации (CD). В

иллюстративных вариантах осуществления CD-х выбирают из тех белков CD, которые играют роль в рекрутировании или активации Т-клеток у субъекта, которому вводили полипептидную конструкцию согласно данному изобретению. В иллюстративном варианте осуществления CD-х представляет собой CD3, последовательность которого показана на фиг. 7.

[00165] Термин «связывающий домен» характеризует, в связи с данным изобретением, домен, который (специфически) связывается/взаимодействует с/распознает данный целевой эпитоп или данный целевой сайт на целевых молекулах (антигенах), например: EGFR и CD3, соответственно. Структура и функция домена, связывающего целевой антиген (распознающего EGFR), и, предпочтительно, также структура и/или функция CD3-связывающего домена (распознающего CD3), основаны на структуре и/или функции антитела, например, полноразмерной или цельной молекулы иммуноглобулина, включительно с sdABD. Согласно данному изобретению целевой антигенсвязывающий домен, как правило, характеризуется наличием трех CDR, которые связывают целевой опухолевый антиген (в целом упоминаемые в данной области техники как переменные тяжелые домены, хотя соответствующие CDR легкой цепи отсутствуют). В качестве альтернативы, ABD против ТТА могут содержать по меньшей мере три CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 области VL) и/или три CDR тяжелой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 области VH). Предпочтительно, CD3-связывающий домен также имеет по меньшей мере минимальные структурные требования антитела, которые обеспечивают связывание с целевой молекулой. Более предпочтительно, CD3-связывающий домен содержит по меньшей мере три CDR легкой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 области VL) и/или три CDR тяжелой цепи (т. е. CDR1, CDR2 и CDR3 области VH). Предусмотрено, что в иллюстративных вариантах осуществления целевой антиген и/или CD3-связывающий домен продуцируется или может быть получен способами фагового дисплея или скрининга библиотек.

[00166] При употреблении в контексте данного документа «домен» означает последовательность белка с функцией, как описано в данном документе. Домены согласно данному изобретению включают домены, связывающие целевой опухолевый антиген (домены ТТА), переменные тяжелые домены, переменные легкие домены, домены scFv, доменные линкеры и домены продления периода полужизни.

[00167] При употреблении в контексте данного документа «доменный линкер» означает аминокислотную последовательность, которая соединяет два домена, как описано в данном документе. Доменные линкеры могут быть расщепляемыми линкерами, ограниченными расщепляемыми линкерами, нерасщепляемыми линкерами, ограниченными нерасщепляемыми линкерами, линкерами scFv и т. д.

[00168] При употреблении в контексте данного документа «расщепляемый линкер» («CL») означает аминокислотную последовательность, которая может быть расщеплена протеазой, предпочтительно - протеазой человека, в ткани, пораженной заболеванием, как описано в данном документе. Расщепляемые линкеры, как правило, имеют длину не

меньше чем 3 аминокислоты, при этом в данном изобретении находят применение от 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или большее число аминокислот, в зависимости от требуемой гибкости. Ряд последовательностей расщепляемых линкеров представлен на фиг. 6 и фиг. 7.

[00169] При употреблении в контексте данного документа «нерасщепляемый линкер» («NCL») означает аминокислотную последовательность, которая не может быть расщеплена протеазой человека в нормальных физиологических условиях.

[00170] При употреблении в контексте данного документа «ограниченный расщепляемый линкер» («CCL») означает короткий полипептид, который содержит сайт расщепления протеазой (как определено в данном документе), который соединяет два домена, как описано в данном документе, так, что два домена не могут существенно взаимодействовать друг с другом до тех пор, пока они не окажутся на разных полипептидных цепях, например, после расщепления. Когда CCL присоединяется к доменам VH и VL, как определено в данном документе, VH и VL не могут внутримолекулярным способом самособираться с образованием функционального Fv до расщепления из-за стерических ограничений (хотя они могут собираться в домены псевдо-Fv межмолекулярным способом). При расщеплении соответствующей протеазой VH и VL могут собираться с образованием активного антигенсвязывающего домена межмолекулярным способом. В общем, CCL имеют длину меньше чем 10 аминокислот, при этом в данном изобретении находят применение 9, 8, 7, 6, 5 и 4 аминокислоты. В общем, сайты расщепления протеазой, как правило, имеют длину по меньшей мере 4+ аминокислот для придания достаточной специфичности, как показано на фиг. 6.

[00171] При употреблении в контексте данного документа «ограниченный нерасщепляемый линкер» («CNCL») означает короткий полипептид, который соединяет два домена, как описано в данном документе, так, что два домена не могут существенно взаимодействовать друг с другом, и который существенно не расщепляется протеазой человека в физиологических условиях.

[00172] При употреблении в контексте данного документа «ограниченный домен Fv» означает домен Fv, который содержит активный переменный тяжелый домен и активный переменный легкий домен, ковалентно связанные с ограниченным линкером, как описано в данном документе, так, что активные тяжелые и легкие переменные домены не могут внутримолекулярно взаимодействовать с образованием активного Fv, который будет связывать антиген, такой как CD3. Следовательно, ограниченный домен Fv - это домен, который подобен scFv, но не способен связывать антиген из-за присутствия ограниченного линкера (хотя они могут собираться межмолекулярно с инертными переменными доменами, образуя домены псевдо-Fv).

[00173] При употреблении в контексте данного документа «домен псевдо-Fv» означает домен, который содержит псевдо- или неактивный переменный тяжелый домен или псевдо- или неактивный переменный легкий домен, или оба, связанные с помощью доменного линкера (который может быть расщепляемым, ограниченным,

нерасщепляемым, неограниченным и т. д.). Домены iVH и iVL домена псевдо-Fv не связываются с антигеном человека, когда они либо ассоциированы друг с другом (iVH/iVL), либо когда они ассоциированы с активным VH или VL; следовательно, домены Fv iVH/iVL, iVH/VL и iVL/VH не связываются с белком человека сколь-либо значительным образом, так что данные домены инертны в организме человека.

[00174] При употреблении в контексте данного документа «одноцепочечный Fv», или «scFv», означает переменный тяжелый (VH) домен, ковалентно присоединенный к переменному легкому (VL) домену, как правило - с использованием доменного линкера, как обсуждается в данном документе, для образования scFv или домена scFv. Домен scFv может находиться в любой ориентации от N-конца к C-концу (VH-линкер-VL или VL-линкер-VH).

[00175] При употреблении в контексте данного документа «однодоменный Fv», «sdFv» или «sdABD» означает антигенсвязывающий домен, который имеет только три CDR, как правило, основанный на технологии антител верблюдовых. См.: Protein Engineering 9 (7): 1129-35 (1994); Rev Mol Biotech 74: 277-302 (2001); Ann Rev Biochem 82: 775-97 (2013). Как представлено в данном документе, в данном изобретении используются два общих типа sdABD: sdABD, которые связываются с TTA и аннотируются как таковые (sdABD-TTA для обобщенного термина или sdABD-EGFR для того, который связывается с EGFR, sdABD-FOLR1 для того, который связывается с FOLR1 и т. д.) и sdABD, которые связываются с HSA («sdABD-HSA» или «sdABD(1/2)»).

[00176] «Сайт расщепления протеазой» относится к аминокислотной последовательности, распознаваемой и расщепляемой протеазой. Подходящие сайты расщепления протеазой описаны ниже и показаны на фиг. 7 и фиг. 6.

[00177] При употреблении в контексте данного документа «домен расщепления протеазой» относится к пептидной последовательности, содержащей «сайт расщепления протеазой» и любые линкеры между отдельными сайтами расщепления протеазой, и между сайтом (сайтами) расщепления протеазой и другими функциональными компонентами конструкций согласно данному изобретению (например, V_H, V_L, iVH, iVL, целевой (-ые) антигенсвязывающий (-ие) домен (-ы), домен продления периода полужизни и т. д.). Как описано в данном документе, домен расщепления протеазой может также включать дополнительные аминокислоты, если это необходимо, например, для придания гибкости.

[00178] Термины «COBRA™» и «кондициональная биспецифическая перенаправляемая активация» относятся к биспецифическому кондиционально эффективному белку, который имеет ряд функциональных белковых доменов. В некоторых вариантах осуществления один из функциональных доменов представляет собой антигенсвязывающий домен (ABD), который связывает целевой опухолевый антиген (TTA). В определенных вариантах осуществления другой домен представляет собой ABD, который связывается с Т-клеточным антигеном при определенных условиях. Т-клеточный антиген включает, но не ограничивается им, CD3. Термин «hemi-COBRA™»

обносится к кондиционально эффективному белку, который может связывать Т-клеточный антиген, когда переменная тяжелая цепь hemi-COBRA может ассоциироваться с переменной легкой цепью другой hemi-COBRA™ (комплементарной hemi-COBRA™) благодаря свойственной ей самосборке при концентрации на поверхности клетки, экспрессирующей целевую молекулу.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Слитые белки согласно данному изобретению

[00179] Слитые белки согласно данному изобретению имеют ряд различных компонентов, как правило, называемых в данном документе доменами, которые связаны друг с другом различными способами. Некоторые из доменов являются связывающими доменами, каждый из которых связывается с целевым антигеном (например, TTA или CD3, например). Поскольку они связываются с больше чем одним антигеном, они упоминаются в данном документе как «мультиспецифические»; например, конструкция пролекарства согласно данному изобретению может связываться с TTA и CD3, и, следовательно, является «биспецифической». Белок может также обладать более высокой специфичностью; например, если первый α TTA связывается с EGFR, второй - с EpcAM, и присутствует домен связывания против CD3, то образуется «триспецифическая» молекула. Подобным образом, добавление к данной конструкции домена связывания против HSA приведет к образованию «тетраспецифической» молекулы, как показано на фиг. 3В.

[00180] Как будет понятно специалистам в данной области техники, белки согласно данному изобретению могут иметь различную валентность, а также быть мультиспецифическими. То есть белки согласно данному изобретению могут связывать целевую молекулу больше чем с одним сайтом связывания; например, Pro186 является бивалентным в отношении EGFR.

[00181] Белки согласно данному изобретению могут включать домены, связывающие антиген CD3, расположенные различными способами, как описано в данном документе, домены, связывающие целевой опухолевый антиген, домены продления периода полужизни, линкеры и т. д.

Домены, связывающие антиген CD3

[00182] Специфичность ответа Т-клеток опосредована распознаванием антигена (представляемого в контексте основного комплекса гистосовместимости - ГКГ) Т-клеточным рецепторным комплексом. Как часть Т-клеточного рецепторного комплекса CD3 представляет собой белковый комплекс, который включает цепь CD3 γ (гамма), цепь CD3 δ (дельта), две цепи CD3 ϵ (эпсилон) и две цепи CD3 ζ (дзета), которые присутствуют на клеточной поверхности. Молекулы CD3 ассоциируются с α (альфа) и β (бета) цепями Т-клеточного рецептора (ТКР), образуя комплекс ТКР. Кластеризация CD3 на Т-клетках, например, посредством доменов F ν , которые связываются с CD3, приводит к активации Т-клеток, аналогичной вовлечению Т-клеточного рецептора, но независимой от его клонально-типичной специфичности.

[00183] Однако, как известно в данной области техники, активация CD3 может вызывать ряд токсических побочных эффектов, и, соответственно, данное изобретение направлено на обеспечение активного связывания CD3 полипептидами согласно данному изобретению только в присутствии опухолевых клеток, где обнаружены специфические протеазы, которые затем расщепляют полипептиды-пролекарства согласно данному изобретению, для обеспечения активного CD3-связывающего домена. Следовательно, в данном изобретении связывание домена Fv против CD3 с CD3 регулируется доменом расщепления протеазой, который ограничивает связывание домена Fv CD3 с CD3 связыванием только в микроокружении пораженной клетки или ткани с повышенными уровнями протеаз, например, в микроокружении опухоли, как описано в данном документе.

[00184] Соответственно, в данном изобретении представлены два набора доменов VH и VL: активный набор (VH и VL) и неактивный набор (неактивный VH и неактивный VL; также называемые «iVH» и «iVL», соответственно), при этом все четыре присутствуют в конструкции пролекарства. Конструкция сконфигурирована так, что набор VH и VL не может самоассоциироваться, а скорее ассоциируется с неактивным партнером, например, iVH и VL, а также iVL и VH, как показано в данном документе.

1. Активные переменные тяжелые и переменные легкие домены против CD3

[00185] Существует ряд подходящих наборов активных CDR и/или доменов VH и VL, которые известны в данной области техники и которые находят применение в данном изобретении. Например, домены CDR и/или VH и VL получены из известных антител против CD3, таких как, например, муромонаб-CD3 (ОКТ3), отеликсизумаб (TRX4), теплизумаб (MGA031), визилизумаб (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.

[00186] В одном варианте осуществления последовательности VH и VL, которые образуют активный домен Fv, который связывается с CD3 человека, показаны на фиг. 7A-7B. Как показано в данном документе, эти активные домены VH («aVH») и активный домен VL («aVL») могут использоваться в различных конфигурациях и в форматах 1, 2, 3 и 4.

2. Неактивные переменные тяжелые и переменные легкие домены против CD3

[00187] Неактивные домены iVH и iVL содержат «обычные» каркасные области (FR), которые допускают ассоциацию, так что неактивный переменный домен будет ассоциироваться с активным переменным доменом, делая данную пару неактивной, например, неспособной связывать CD3.

[00188] Как будет понятно специалистам в данной области техники, существует ряд «неактивных» переменных доменов, которые находят применение в данном изобретении. В принципе, можно использовать любой переменный домен с каркасными областями человека, допускающий самосборку с другим переменным доменом,

независимо от того, какие аминокислоты находятся в местоположении CDR в вариабельной области. Для ясности: говорят, что неактивные домены включают CDR, хотя технически неактивные вариабельные домены не придают способности к связыванию.

[00189] Как будет понятно из данной области техники, генерировать неактивные домены VH или VL, как правило, просто, и это может быть сделано различными способами. В некоторых вариантах осуществления получение неактивных вариабельных доменов, как правило, выполняется путем изменения одного или большего числа CDR активного F_v, включительно с внесением изменений в один или большее число из трех CDR активного вариабельного домена. Это может быть сделано путем выполнения одного или большего числа аминокислотных замещений в функционально важных остатках в одном или большем числе CDR, замены некоторых или всех остатков CDR случайными последовательностями, замены одного или большего числа CDR последовательностями tag или flag и/или замены CDR и/или вариабельных областей таковыми из нерелевантного антитела (например, такового, направленного на белок другого организма).

[00190] В некоторых случаях только один из CDR в вариабельной области может быть изменен, чтобы сделать его неактивным, хотя другие варианты осуществления включают изменения в одном, двух, трех, четырех, пяти или шести CDR.

[00191] В некоторых случаях неактивные домены могут быть сконструированы так, чтобы способствовать селективному связыванию в формате пролекарства, чтобы стимулировать образование внутримолекулярных доменов iVH-VL и VH-iVL перед расщеплением (например, с преимуществом над образованием межмолекулярных пар). См. в качестве примера работу Igawa et al., *Protein Eng. Des. Selection* 23 (8): 667-677 (2010), которая настоящим включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте и, в частности, касательно аминокислотных замещений остатков поверхности взаимодействия.

[00192] В определенных вариантах осуществления CD3-связывающий домен полипептидных конструкций, описанных в данном документе, проявляет не только сильную CD3-связывающую аффинность с CD3 человека, но также демонстрирует превосходную перекрестную реактивность с соответствующими белками CD3 яванской макаки. В некоторых случаях CD3-связывающий домен полипептидных конструкций перекрестно реагирует с CD3 от яванской макаки. В некоторых случаях соотношение показателей KD человека:яванской макаки для CD3 составляет между 5 и 0,2.

[00193] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка может быть любым доменом, который связывается с CD3, включительно со следующими доменами, но не ограничиваясь ими: из моноклонального антитела, поликлонального антитела, рекомбинантного антитела, человеческого антитела, гуманизированного антитела. В некоторых случаях преимущественно, чтобы CD3-связывающий домен был получен из того же вида, в котором в конечном итоге будет применяться антигенсвязывающий белок. Например, для применения у людей может быть

преимущественно, чтобы CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка содержал человеческие или гуманизированные остатки из антигенсвязывающего домена антитела или фрагмента антитела.

[00194] Следовательно, в одном аспекте антигенсвязывающий домен содержит гуманизированный или человеческий домен связывания. В одном варианте осуществления гуманизированный или человеческий домен связывания против CD3 содержит одну или большее число (например, все три) из области, определяющей комплементарность, легкой цепи 1 (LC CDR1), области, определяющей комплементарность, легкой цепи 2 (LC CDR2) и области, определяющей комплементарность, легкой цепи 3 (LC CDR3) гуманизированного или человеческого домена связывания против CD3, описанного в данном документе, и/или одну или большее число (например, все три) из области, определяющей комплементарность, тяжелой цепи 1 (HC CDR1), области, определяющей комплементарность, тяжелой цепи 2 (HC CDR2) и области, определяющей комплементарность, тяжелой цепи 3 (HC CDR3) гуманизированного или человеческого домена связывания против CD3, описанного в данном документе, например, гуманизированный или человеческий домен связывания против CD3, содержащий одну или большее число, например, все три LC CDR и одну или большее число, например, все три HC CDR.

[00195] В некоторых вариантах осуществления гуманизированный или человеческий домен связывания против CD3 содержит гуманизированную или человеческую вариабельную область легкой цепи, специфичную в отношении CD3, при этом вариабельная область легкой цепи, специфичная в отношении CD3, содержит CDR легкой цепи человека или не человека в каркасной области легкой цепи человека. В определенных случаях каркасная область легкой цепи представляет собой каркас легкой цепи λ (лямбда). В других случаях каркасная область легкой цепи представляет собой каркас легкой цепи κ (каппа).

[00196] В некоторых вариантах осуществления один или большее число CD3-связывающих доменов являются гуманизированными или полностью человеческими. В некоторых вариантах осуществления один или большее число активированных CD3-связывающих доменов имеют показатель KD связывания с CD3 на CD3-экспрессирующих клетках, составляющий 1000 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления один или большее число активированных CD3-связывающих доменов имеют показатель KD связывания с CD3 на CD3-экспрессирующих клетках, составляющий 100 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления один или большее число активированных CD3-связывающих доменов имеют показатель KD связывания с CD3 на CD3-экспрессирующих клетках, составляющий 10 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления один или большее число CD3-связывающих доменов имеют перекрестную реактивность с CD3 яванской макаки. В некоторых вариантах осуществления один или большее число CD3-связывающих доменов содержат аминокислотную последовательность, представленную в данном документе.

[00197] В некоторых вариантах осуществления гуманизированный или человеческий домен связывания против CD3 содержит гуманизованную или человеческую переменную область тяжелой цепи, специфичную в отношении CD3, при этом переменная область тяжелой цепи, специфичная в отношении CD3, содержит CDR тяжелой цепи человека или не человека в каркасной области тяжелой цепи человека.

[00198] В одном варианте осуществления домен связывания против CD3 представляет собой F_v, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь с аминокислотной последовательностью, представленной в данном документе. В одном варианте осуществления домен связывания против CD3 содержит: переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере одну, две или три модификации (например, замещения), но не больше чем 30, 20 или 10 модификаций (например, замещений) аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи, представленной в данном документе, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности, представленной в данном документе; и/или переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере одну, две или три модификации (например, замещения), но не больше чем 30, 20 или 10 модификаций (например, замещений) аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи, представленной в данном документе, или последовательность, которая на 95-99% идентична аминокислотной последовательности, представленной в данном документе. В одном варианте осуществления гуманизированный или человеческий домен связывания против CD3 представляет собой scFv, и переменная область легкой цепи, содержащая аминокислотную последовательность, описанную в данном документе, присоединена к переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, описанную в данном документе, через линкер scFv. Переменная область легкой цепи и переменная область тяжелой цепи scFv могут быть, например, в любой из следующих ориентаций: переменная область легкой цепи - линкер scFv - переменная область тяжелой цепи или переменная область тяжелой цепи - линкер scFv - переменная область легкой цепи.

[00199] В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка имеет аффинность к CD3 на CD3-экспрессирующих клетках, характеризующуюся показателем KD, составляющим 1000 нМ или меньше, 100 нМ или меньше, 50 нМ или меньше, 20 нМ или меньше, 10 нМ или меньше, 5 нМ или меньше, 1 нМ или меньше, или 0,5 нМ или меньше. В некоторых вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка имеет аффинность к CD3ε, характеризующуюся показателем KD, составляющим 1000 нМ или меньше, 100 нМ или меньше, 50 нМ или меньше, 20 нМ или меньше, 10 нМ или меньше, 5 нМ или меньше, 1 нМ или меньше, или 0,5 нМ или меньше. В дополнительных вариантах осуществления CD3-связывающий домен антигенсвязывающего белка имеет низкую аффинность к CD3, т. е. около 100 нМ или больше.

[00200] Аффинность связывания с CD3 можно определить, например, по способности самого антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена связываться с CD3, нанесенный на планшет для анализа; выраженный на поверхности микробной клетки; в растворе; и т. д., как известно в данной области техники, как правило - с использованием анализов по технологии Biacore или Octet. Активность связывания самого антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена согласно данному изобретению с CD3 можно анализировать путем иммобилизации лиганда (например, CD3) или самого антигенсвязывающего белка или его CD3-связывающего домена на грануле, субстрате, клетке и т. д. Агенты можно добавлять в соответствующий буфер, а партнеров по связыванию - инкубировать в течение периода времени при заданной температуре. После промывок для удаления несвязанного материала связанный белок можно высвободить, например, с помощью ДСН, буферов с высоким рН и т. п., и проанализировать, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР).

[00201] Во многих вариантах осуществления предпочтительными активными и инертными доменами связывания являются те, которые показаны на фиг. 7. На фиг. 7 представлены один активный VH и VL и три неактивных VHi, и три неактивных VLi, которые были инактивированы различными способами.

[00202] Как показано на фиг. 7, особенно предпочтительная пара активных доменов VL и VH против CD3 имеет VL с vLCDR1 с SEQ ID NO:255, vLCDR2 с SEQ ID NO:256 и vLCDR3 с SEQ ID NO:257, и VH с vHCDR1 с SEQ ID NO:271, vHCDR2 с SEQ ID NO:272 и vHCDR3 с SEQ ID NO:273.

[00203] Как показано на фиг. 7, особенно предпочтительная пара активных доменов VL и VH против CD3 имеет VL с SEQ ID NO:254 и VH с SEQ ID NO:270.

Антигенсвязывающие домены к целевым опухолевым антигенам

[00204] В дополнение к описанным доменам CD3 и доменам продления периода полужизни, полипептидные конструкции, описанные в данном документе, также содержат целевые домены, которые связываются с одним или большим числом целевых антигенов или с одной или большим числом областей на одном целевом антигене. В данном документе предусмотрено, что полипептидная конструкция согласно данному изобретению расщепляется, например, в специфичном для заболевания микроокружении или в крови субъекта, по месту домена расщепления протеазой, и что каждый целевой антигенсвязывающий домен будет связываться с целевым антигеном на целевой клетке, тем самым активируя CD3-связывающий домен для связывания Т-клетки. В общем, ТТА-связывающие домены могут связываться со своими целевыми молекулами до расщепления протеазой, поэтому они могут «ждать» активации целевой клетки как агенты, вовлекающие Т-клетки. По меньшей мере один целевой антиген вовлечен в заболевание, нарушение или патологическое состояние, и/или ассоциирован с ними. Иллюстративные целевые антигены включают антигены, связанные с пролиферативным заболеванием, опухолевым заболеванием, воспалительным заболеванием, иммунологическим нарушением, аутоиммунным заболеванием, инфекционным

заболеванием, вирусным заболеванием, аллергической реакцией, паразитарной реакцией, реакцией «трансплантат против хозяина» или реакцией «хозяин против трансплантата». В некоторых вариантах осуществления целевой антиген представляет собой опухолевый антиген, экспрессируемый на опухолевой клетке. В качестве альтернативы, в некоторых вариантах осуществления целевой антиген ассоциирован с патогеном, таким как вирус или бактерия. По меньшей мере один целевой антиген также может быть направлен против здоровой ткани.

[00205] В некоторых вариантах осуществления целевой антиген представляет собой молекулу клеточной поверхности, такую как белок, липид или полисахарид. В некоторых вариантах осуществления целевой антиген находится на опухолевой клетке, инфицированной вирусом клетке, инфицированной бактерией клетке, поврежденном эритроците, клетке артериальной бляшки или клетке фиброзной ткани.

[00206] В предпочтительных вариантах осуществления данного изобретения используются sdABD в качестве целевых доменов. Они предпочтительнее ABD scFv, поскольку добавление других доменов VH и VL в конструкцию согласно данному изобретению может усложнить формирование доменов псевдо-Fv.

[00207] В некоторых вариантах осуществления в конструкциях пролекарства согласно данному изобретению используется один TTA-связывающий домен, такой как обобщенно представленный на фиг. 3A, как пары sdABD-TTA, и на фиг. 4, как конфигурация «формата 4». На фиг. 4 показано использование одного ABD против EGFR, хотя могут быть использованы и другие TTA-связывающие домены.

[00208] В некоторых вариантах осуществления, в частности, в конструкциях формата 1 и формата 2, в конструкциях пролекарства согласно данному изобретению используются два ABD TTA, опять же предпочтительно в формате sdABD-TTA. Когда используются домены двойного нацеливания, они могут связываться с одним и тем же эпитопом одного и того же TTA. Например, как обсуждается в данном документе, во многих из представленных в данном документе конструкций используются два идентичных домена нацеливания. В некоторых вариантах осуществления могут использоваться два домена нацеливания, которые связываются с разными эпитопами одного и того же TTA: например, как показано на фиг. 7, два sdABD EGFR связываются с разными эпитопами в EGFR человека. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с разными TTA, как более полно описано ниже.

[00209] Полипептидные конструкции, рассматриваемые в данном документе, включают по меньшей мере один антигенсвязывающий домен, при этом антигенсвязывающий домен связывается с по меньшей мере одним целевым антигеном. В некоторых вариантах осуществления целевые антигенсвязывающие домены специфически связываются с молекулой клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления целевые антигенсвязывающие домены специфически связываются с опухолевым антигеном. В некоторых вариантах осуществления целевые антигенсвязывающие домены специфически и независимо связываются с целевым опухолевым антигеном («TTA»),

выбранным из по меньшей мере одного из EpCAM, EGFR, HER-2, LypD3, V7H3, CA9, Trop2 и FOLR1. Как обсуждается ниже, они могут комбинироваться различными способами.

sdABD EGFR

[00210] Как показано на фиг. 5A, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с EGFR человека, обозначаемых в данном документе как «αEGFR», «aEGFR», «sdABD-EGFR», «EGFR sdABD», «EGFR sdAb», «EGFR ABD» или «EGFRABD».

[00211] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EGFR (например, sdABD-αEGFR1) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:2, sdCDR2 с SEQ ID NO:3 и sdCDR3 с SEQ ID NO:4. В некоторых случаях sdABD-EGFR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:1, как представлено на фиг. 5A.

[00212] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EGFR (например, sdABD-αEGFR2) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:6, sdCDR2 с SEQ ID NO:7 и sdCDR3 с SEQ ID NO:8. В некоторых случаях sdABD-EGFR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:5, как представлено на фиг. 5A.

[00213] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EGFR (например, sdABD-hαEGFR1) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:10, sdCDR2 с SEQ ID NO:11 и sdCDR3 с SEQ ID NO:12. В некоторых случаях sdABD-EGFR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, как представлено на фиг. 5A.

[00214] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EGFR (например, sdABD-aEGFR2a) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:14, sdCDR2 с SEQ ID NO:15 и sdCDR3 с SEQ ID NO:16. В некоторых случаях sdABD-EGFR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, как представлено на фиг. 5A.

[00215] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EGFR (например, sdABD-hαEGFR2d) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:18, sdCDR2 с SEQ ID NO:19 и sdCDR3 с SEQ ID NO:20. В некоторых случаях sdABD-EGFR имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, как представлено на фиг. 5A.

sdABD EpCAM

[00216] Как показано на фиг. 5D-5E, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с EpCAM человека, обозначаемых в данном документе как «αEpCAM», «aEpCAM», «sdABD-EpCAM», «EpCAM sdABD», «EpCAM sdAb», «EpCAM ABD» или «EpCAMABD».

[00217] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EpCAM (например, sdABD-EpCAM h13) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:62, sdCDR2 с SEQ ID NO:63, sdCDR3 с SEQ ID NO:64. В некоторых случаях sdABD-EpCAM имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, как представлено на фиг. 5D.

[00218] В некоторых вариантах осуществления sdABD-EpCAM (например, sdABD-EpCAM h23) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:66, sdCDR2 с SEQ ID NO:67, sdCDR3 с SEQ ID NO:68. В некоторых случаях sdABD-EpCAM имеет аминокислотную последовательность

SEQ ID NO:65, как представлено на фиг. 5D.

[00219] В некоторых вариантах осуществления sdABD-ЕрСАМ (например, sdABD-ЕрСАМ hVIB665) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:70, sdCDR2 с SEQ ID NO:71, sdCDR3 с SEQ ID NO:72. В некоторых случаях sdABD-ЕрСАМ имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, как представлено на фиг. 5Е. Следует отметить, что в отличие от sdABD ЕрСАМ h13 и h23, hVIB665 (также обозначаемый как «асЕрСАМ hVIB665») связывается как с расщепленной, так и с нерасщепленной формами ЕрСАМ (который, как известно, проходит расщепление *in vivo*).

[00220] В некоторых вариантах осуществления sdABD-ЕрСАМ (например, sdABD-ЕрСАМ hVIB666) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:74, sdCDR2 с SEQ ID NO:75, sdCDR3 с SEQ ID NO:76. В некоторых случаях sdABD-ЕрСАМ имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:73, как представлено на фиг. 5Е. Следует отметить, что в отличие от sdABD ЕрСАМ h13 и h23, hVIB666 (также обозначаемый как «асЕрСАМ hVIB666») связывается как с расщепленной, так и с нерасщепленной формами ЕрСАМ (который, как известно, проходит расщепление *in vivo*).

[00221] В некоторых вариантах осуществления sdABD-ЕрСАМ (например, гуманизованное sdAb ЕрСАМ) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:496, sdCDR2 с SEQ ID NO:497, sdCDR3 с SEQ ID NO:498. В некоторых случаях sdABD-ЕрСАМ имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:495, как представлено на фиг. 75.

sdABD B7H3

[00222] Как показано на фиг. 5B-5D, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с B7H3 человека, обозначаемых в данном документе как «αB7H3», «αB7H3», «sdABD-B7H3», «B7H3 sdAb», «B7H3 ABD», «B7H3ABD» или «B7H3-ABD».

[00223] В одном полезном варианте осуществления sdABD-B7H3 (например, sdABD-B7H3 hF7) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:34, sdCDR2 с SEQ ID NO:35, sdCDR3 с SEQ ID NO:36. В некоторых случаях sdABD-B7H3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:33, как представлено на фиг. 5B.

[00224] В одном полезном варианте осуществления sdABD-B7H3 (например, sdABD-B7H3 hF12) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:38, sdCDR2 с SEQ ID NO:39, sdCDR3 с SEQ ID NO:40. В некоторых случаях sdABD-B7H3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:37, как представлено на фиг. 5C.

[00225] В одном полезном варианте осуществления sdABD-B7H3 (например, sdABD-B7H3 hF12 (N57Q)) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:42, sdCDR2 с SEQ ID NO:43, sdCDR3 с SEQ ID NO:44. В некоторых случаях sdABD-B7H3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:41, как представлено на фиг. 5C. В отличие от sdABD B7H3 hF7 и hF12, аминокислотное замещение N57Q удаляет сайт гликозилирования.

[00226] В одном полезном варианте осуществления sdABD-B7H3 (например, sdABD-B7H3 HF12 (N57E)) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:46, sdCDR2 с SEQ ID NO:47 и sdCDR3 с SEQ ID NO:48. В некоторых случаях sdABD-B7H3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:45, как представлено на фиг. 5C. В отличие от sdABD

B7H3 hF7 и hF12, аминокислотное замещение N57E удаляет сайт гликозилирования.

[00227] В одном полезном варианте осуществления sdABD-B7H3 (например, sdABD-B7H3 hF12 (N57D)) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:50, sdCDR2 с SEQ ID NO:51, sdCDR3 с SEQ ID NO:52. В некоторых случаях sdABD-B7H3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:49, как представлено на фиг. 5B. В отличие от sdABD B7H3 hF7 и hF12, аминокислотное замещение N57D удаляет сайт гликозилирования.

[00228] В одном полезном варианте осуществления sdABD-B7H3 (например, sdABD-B7H3 hF12(S59A)) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:54, sdCDR2 с SEQ ID NO:55, sdCDR3 с SEQ ID NO:56. В некоторых случаях sdABD-B7H3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:53, как представлено на фиг. 5D. В отличие от sdABD B7H3 hF7 и hF12, аминокислотное замещение S59A удаляет сайт гликозилирования.

[00229] В одном полезном варианте осуществления sdABD-B7H3 (например, sdABD-B7H3 hF12 (S59Y)) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:58, sdCDR2 с SEQ ID NO:59, sdCDR3 с SEQ ID NO:60. В некоторых случаях sdABD-B7H3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:57, как представлено на фиг. 5D. В отличие от sdABD B7H3 hF7 и hF12, аминокислотное замещение NS59Y удаляет сайт гликозилирования.

sdABD FOLR1

[00230] Как показано на фиг. 5B, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с FOLR1 человека, обозначаемых в данном документе как «αFOLR1», «aFOLR1», «sdABD-FOLR1», «FOLR1 sdAb», «sdABD FOLR1», «FOLR1 ABD», «FOLR1ABD» или «FOLR1-ABD».

[00231] В одном полезном варианте осуществления sdABD-FOLR1 (например, sdABD-FOLR1 h77-2) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:22, sdCDR2 с SEQ ID NO:23, sdCDR3 с SEQ ID NO:24. В некоторых случаях sdABD-FOLR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21, как представлено на фиг. 5B.

[00232] В одном полезном варианте осуществления sdABD-FOLR1 (например, sdABD-FOLR1 h59.3) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:26, sdCDR2 с SEQ ID NO:27, sdCDR3 с SEQ ID NO:28. В некоторых случаях sdABD-FOLR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:25, как представлено на фиг. 5B.

[00233] В одном полезном варианте осуществления sdABD-FOLR1 (например, sdABD-FOLR1 h22-4) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:30, sdCDR2 с SEQ ID NO:31, sdCDR3 с SEQ ID NO:32. В некоторых случаях sdABD-FOLR1 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:29, как представлено на фиг. 5B.

sdABD Trop2

[00234] Как показано на фиг. 5E, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с Trop2 человека, обозначаемых в данном документе как «αTrop2», «aTrop2», «sdABD-Trop2», «sdABD Trop2», «Trop2 sdAb», «Trop2ABD» или «Trop2-ABD».

[00235] В одном полезном варианте осуществления sdABD-Trop2 (например, sdABD-Trop2 hVIB557) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:78, sdCDR2 с SEQ ID NO:79, sdCDR3 с SEQ ID NO:80. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:77, как представлено на фиг. 5E.

[00236] В некоторых вариантах осуществления sdABD-Trop2 (например, sdABD-Trop2 hVIB565) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:82, sdCDR2 с SEQ ID NO:83, sdCDR3 с SEQ ID NO:84. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:81, как представлено на фиг. 5E.

[00237] В некоторых вариантах осуществления sdABD-Trop2 (например, sdABD-Trop2 hVIB575) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:86, sdCDR2 с SEQ ID NO:87, sdCDR3 с SEQ ID NO:88. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:85, как представлено на фиг. 5F.

[00238] В некоторых вариантах осуществления sdABD-Trop2 (например, sdABD-Trop2 hVIB578) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:90, sdCDR2 с SEQ ID NO:91, sdCDR3 с SEQ ID NO:92. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:89, как представлено на фиг. 5F.

[00239] В некоторых вариантах осуществления sdABD-Trop2 (например, sdABD-Trop2 hVIB609) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:94, sdCDR2 с SEQ ID NO:95, sdCDR3 с SEQ ID NO:96. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:93, как представлено на фиг. 5F.

[00240] В некоторых вариантах осуществления sdABD-Trop2 (например, sdABD-Trop2 hVIB619) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:98, sdCDR2 с SEQ ID NO:99, sdCDR3 с SEQ ID NO:100. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:97, как представлено на фиг. 5F.

sdABD CA9

[00241] Как показано на фиг. 5F-5G, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с CA9 человека, обозначаемых в данном документе как «αCA9», «аCA9», «sdABD-CA9», «sdABD CA9», «CA9 sdAb», «CA9 ABD» или «CA9-ABD».

[00242] В некоторых вариантах осуществления sdABD-CA9 (например, sdABD-CA9 hVIB456) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:102, sdCDR2 с SEQ ID NO:103, sdCDR3 с SEQ ID NO:104. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:101, как представлено на фиг. 5F.

[00243] В некоторых вариантах осуществления sdABD-CA9 (например, sdABD-CA9 hVIB476) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:106, sdCDR2 с SEQ ID NO:107, sdCDR3 с SEQ ID NO:108. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:105, как представлено на фиг. 5G.

[00244] В некоторых вариантах осуществления sdABD-CA9 (например, sdABD-CA9 hVIB407) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:110, sdCDR2 с SEQ ID NO:111, sdCDR3 с SEQ ID NO:112. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:109, как представлено на фиг. 5G.

[00245] В некоторых вариантах осуществления sdABD-CA9 (например, sdABD-CA9 hVIB445) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:114, sdCDR2 с SEQ ID NO:115, sdCDR3 с SEQ ID NO:116. В некоторых случаях sdABD-Trop2 имеет аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:113, как представлено на фиг. 5G.

sdABD LyPD3

[00246] Как показано на фиг. 5G-5H, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с LyPD3 человека, обозначаемых в данном документе как «αLyPD3», «sdABD-LyPD3», «sdABD LyPD3», «LyPD3 sdAb», «LyPD3 ABD», «LyPD3ABD» или «LyPD3-ABD».

[00247] В одном полезном варианте осуществления sdABD-LyPD3 (например, sdABD-LyPD3 h787) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:118, sdCDR2 с SEQ ID NO:119, sdCDR3 с SEQ ID NO:120. В некоторых случаях sdABD-LyPD3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:117, как представлено на фиг. 5G.

[00248] В одном полезном варианте осуществления sdABD-LyPD3 (например, sdABD-LyPD3 h790) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:122, sdCDR2 с SEQ ID NO:123, sdCDR3 с SEQ ID NO:124. В некоторых случаях sdABD-LyPD3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:121, как представлено на фиг. 5G.

[00249] В одном полезном варианте осуществления sdABD-LyPD3 (например, sdABD-LyPD3 H804) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:126, sdCDR2 с SEQ ID NO:127, sdCDR3 с SEQ ID NO:128. В некоторых случаях sdABD-LyPD3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:125, как представлено на фиг. 5H.

[00250] В одном полезном варианте осуществления sdABD-LyPD3 (например, sdABD-LyPD3 h773) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:130, sdCDR2 с SEQ ID NO:131, sdCDR3 с SEQ ID NO:132. В некоторых случаях sdABD-LyPD3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:129, как представлено на фиг. 5H.

[00251] В одном полезном варианте осуществления sdABD-LyPD3 (например, sdABD-LyPD3 h840) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:134, sdCDR2 с SEQ ID NO:135, sdCDR3 с SEQ ID NO:136. В некоторых случаях sdABD-LyPD3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:133, как представлено на фиг. 5H.

[00252] В одном полезном варианте осуществления sdABD-LyPD3 (например, sdABD-LyPD3 h885) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:138, sdCDR2 с SEQ ID NO:139, sdCDR3 с SEQ ID NO:140. В некоторых случаях sdABD-LyPD3 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:137, как представлено на фиг. 5H.

sdABD HER2

[00253] Как показано на фиг. 5H-5M, существует ряд особенно полезных sdABD, которые связываются с HER2 человека, обозначаемых в данном документе как «αHER2», «aHER2», «sdABD-HER2», «sdABD HER2», «HER2 sdAb», «HER2 ABD», «HER2ABD» или «HER2-ABD».

[00254] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1054) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:142, sdCDR2 с SEQ ID NO:143, sdCDR3 с SEQ ID NO:144. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:141, как представлено на фиг. 5H.

[00255] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-

HER2 1055) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:146, sdCDR2 с SEQ ID NO:147, sdCDR3 с SEQ ID NO:148. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:145, как представлено на фиг. 5I.

[00256] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1058) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:150, sdCDR2 с SEQ ID NO:151, sdCDR3 с SEQ ID NO:153. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:149, как представлено на фиг. 5I.

[00257] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1059) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:154, sdCDR2 с SEQ ID NO:155, sdCDR3 с SEQ ID NO:156. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:153, как представлено на фиг. 5I.

[00258] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1065) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:158, sdCDR2 с SEQ ID NO:159, sdCDR3 с SEQ ID NO:160. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:157, как представлено на фиг. 5I.

[00259] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1090) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:162, sdCDR2 с SEQ ID NO:163, sdCDR3 с SEQ ID NO:164. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:161, как представлено на фиг. 5I.

[00260] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1191) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:166, sdCDR2 с SEQ ID NO:167, sdCDR3 с SEQ ID NO:168. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:165, как представлено на фиг. 5J.

[00261] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1092) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:170, sdCDR2 с SEQ ID NO:171, sdCDR3 с SEQ ID NO:172. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:169, как представлено на фиг. 5J.

[00262] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1097) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:174, sdCDR2 с SEQ ID NO:175, sdCDR3 с SEQ ID NO:176. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:173, как представлено на фиг. 5J.

[00263] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1118) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:178, sdCDR2 с SEQ ID NO:179, sdCDR3 с SEQ ID NO:180. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:177, как представлено на фиг. 5J.

[00264] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1121) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:182, sdCDR2 с SEQ ID NO:183, sdCDR3 с SEQ ID NO:184. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:181, как представлено на фиг. 5J.

[00265] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-

HER2 1134) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:186, sdCDR2 с SEQ ID NO:187, sdCDR3 с SEQ ID NO:188. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:185, как представлено на фиг. 5К.

[00266] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1138) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:190, sdCDR2 с SEQ ID NO:191, sdCDR3 с SEQ ID NO:192. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:189, как представлено на фиг. 5К.

[00267] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1139) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195, sdCDR3 с SEQ ID NO:196. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:193, как представлено на фиг. 5К.

[00268] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1140) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:198, sdCDR2 с SEQ ID NO:199, sdCDR3 с SEQ ID NO:200. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:197, как представлено на фиг. 5К.

[00269] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1145) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:202, sdCDR2 с SEQ ID NO:203, sdCDR3 с SEQ ID NO:204. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:201, как представлено на фиг. 5К.

[00270] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1146) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:206, sdCDR2 с SEQ ID NO:207, sdCDR3 с SEQ ID NO:203. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:205, как представлено на фиг. 5Л.

[00271] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1149) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:210, sdCDR2 с SEQ ID NO:211, sdCDR3 с SEQ ID NO:212. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:209, как представлено на фиг. 5Л.

[00272] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1150) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:214, sdCDR2 с SEQ ID NO:215, sdCDR3 с SEQ ID NO:216. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:213, как представлено на фиг. 5Л.

[00273] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1156) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219, sdCDR3 с SEQ ID NO:220. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:217, как представлено на фиг. 5Л.

[00274] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1158) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:222, sdCDR2 с SEQ ID NO:223, sdCDR3 с SEQ ID NO:224. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:221, как представлено на фиг. 5Л.

[00275] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-

HER2 1159) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227, sdCDR3 с SEQ ID NO:228. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:225, как представлено на фиг. 5M.

[00276] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1160) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:230, sdCDR2 с SEQ ID NO:231, sdCDR3 с SEQ ID NO:232. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:229, как представлено на фиг. 5M.

[00277] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1161) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:234, sdCDR2 с SEQ ID NO:235, sdCDR3 с SEQ ID NO:236. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:233, как представлено на фиг. 5M.

[00278] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1162) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239, sdCDR3 с SEQ ID NO:240. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:237, как представлено на фиг. 5M.

[00279] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, sdABD-HER2 1163) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:242, sdCDR2 с SEQ ID NO:243, sdCDR3 с SEQ ID NO:244. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:241, как представлено на фиг. 5M.

[00280] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, гуманизованное aHER2 sdAb h1130) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:500, sdCDR2 с SEQ ID NO:501, sdCDR3 с SEQ ID NO:502. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:499, как представлено на фиг. 75.

[00281] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, гуманизованное aHER2 sdAb h1156) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:504, sdCDR2 с SEQ ID NO:505, sdCDR3 с SEQ ID NO:506. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:503, как представлено на фиг. 75. Картирование эпитопов выявило, что гуманизованное aHER2 sdAb h1156 связывается с аминокислотной последовательностью WK в аминокислотных положениях 147-148, аминокислотной последовательностью LALTL (SEQ ID NO:515) в аминокислотных положениях 157-161 и аминокислотной последовательностью TRTVC (SEQ ID NO:516) в аминокислотных положениях 194-198 белка HER2 (фиг. 36).

[00282] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, гуманизованное aHER2 sdAb h1159) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:508, sdCDR2 с SEQ ID NO:509, sdCDR3 с SEQ ID NO:510. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:507, как представлено на фиг. 75.

[00283] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HER2 (например, гуманизованное aHER2 sdAb h1162) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:512, sdCDR2 с SEQ ID NO:513, sdCDR3 с SEQ ID NO:514. В некоторых случаях sdABD-HER2 имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO:511, как представлено на фиг. 75.

Картирование эпитопов выявило, что гуманизованное aHER2 sdAb h1162 связывается с аминокислотной последовательностью QLTFRNPHQALL в аминокислотных положениях 462-472 белка HER2 (фиг. 36).

[00284] В некоторых вариантах осуществления белок расщепляемого протеазой домена до расщепления имеет массу меньше чем 100 кДа. В некоторых вариантах осуществления белок расщепляемого протеазой домена после расщепления имеет массу от около 25 до около 75 кДа. В некоторых вариантах осуществления белок до расщепления протеазой имеет размер, который превышает почечный порог для клиренса первого прохождения. В некоторых вариантах осуществления белок до расщепления протеазой имеет период полувыведения, составляющий по меньшей мере 50 часов. В некоторых вариантах осуществления белок до расщепления протеазой имеет период полувыведения, составляющий по меньшей мере 100 часов. В некоторых вариантах осуществления белок до расщепления протеазой имеет повышенную проникающую способность в ткани по сравнению с IgG против того же целевого антигена. В некоторых вариантах осуществления белок до расщепления протеазой имеет увеличенное распределение в тканях по сравнению с IgG против того же целевого антигена.

Домены продления периода полужизни

[00285] МКЭ-белки согласно данному изобретению (опять же, также обозначаемые как белки или конструкции «COBRA™») необязательно включают домены продления периода полужизни. Предусмотрено, что такие домены включают, но не ограничиваются ими, HSA-связывающие домены, домены Fc, малые молекулы и другие домены продления периода полужизни, известные в данной области техники.

[00286] Альбумин сыворотки крови человека (HSA) (молекулярная масса ~ 67 кДа) является наиболее распространенным белком в плазме крови, присутствует в концентрации около 50 мг/мл (600 мкМ) и имеет период полужизни у человека около 20 суток. HSA служит для поддержания pH плазмы крови, способствует коллоидному кровяному давлению, функционирует как переносчик многих метаболитов и жирных кислот и служит основным транспортным белком лекарственных препаратов в плазме крови.

[00287] Нековалентная ассоциация с альбумином увеличивает период полужизни короткоживущих белков. Например, рекомбинантное слияние домена, связывающего альбумин, с фрагментом Fab привело к снижению клиренса *in vivo* в 25 и 58 раз, и к увеличению периода полужизни в 26 и 37 раз при внутривенном введении мышам и кроликам, соответственно, по сравнению с введением только фрагмента Fab. В другом примере, когда инсулин ацилировали жирными кислотами для содействия ассоциации с альбумином, наблюдался продленный эффект при подкожном введении кроликам или свиньям. В совокупности данные исследования демонстрируют связь между связыванием альбумина и пролонгированным действием.

[00288] Во многих вариантах осуществления домен продления периода полужизни представляет собой однодоменный антигенсвязывающий домен из однодоменного

антитела, который связывается с HSA. Данный домен, как правило, упоминается в данном документе как «sdABD» против HSA человека (sdABD-HSA), или, в качестве альтернативы, «sdABD($\frac{1}{2}$)», чтобы различить данные домены связывания от sdABD против ТТА. Особенно полезный sdABD($\frac{1}{2}$) показан на фиг. 6.

[00289] В некоторых вариантах осуществления sdABD-HSA (например, sdABD-HSA (10GE)) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:246, sdCDR2 с SEQ ID NO:247, sdCDR3 с SEQ ID NO:248. В некоторых вариантах осуществления sdABD-HSA имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 245. В определенных вариантах осуществления sdABD-HSA (например, sdABD-HSA с гистидиновой (His) меткой) имеет sdCDR1 с SEQ ID NO:250, sdCDR2 с SEQ ID NO:251, sdCDR3 с SEQ ID NO:252. В некоторых вариантах осуществления sdABD-HSA имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 249.

[00290] Домен продления периода полужизни антигенсвязывающего белка обеспечивает изменение фармакодинамики и фармакокинетики самого антигенсвязывающего белка. Как указано выше, домен продления периода полужизни увеличивает период полувыведения. Домен продления периода полужизни также изменяет фармакодинамические свойства, включительно с изменением распределения в тканях, проникновения и диффузии антигенсвязывающего белка. В некоторых вариантах осуществления домен продления периода полужизни обеспечивает улучшенное нацеливание на ткани (включительно с опухолью), проникновение в ткани, распределение в ткани, диффузию внутри ткани и повышенную эффективность по сравнению с белком без связывающего домена продления периода полужизни. В одном варианте осуществления в терапевтических способах эффективно используется уменьшенное количество антигенсвязывающего белка, что приводит к уменьшению побочных эффектов, такому как снижение цитотоксичности в отношении неопухолевых клеток.

[00291] Кроме того, характеристики домена продления периода полужизни, например, HSA-связывающего домена, включают аффинность связывания HSA-связывающего домена с HSA. Аффинность HSA-связывающего домена можно выбрать так, чтобы обеспечить нацеливание на определенный период полувыведения в конкретной полипептидной конструкции. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления HSA-связывающий домен имеет высокую аффинность связывания. В других вариантах осуществления HSA-связывающий домен имеет среднюю аффинность связывания. В еще других вариантах осуществления HSA-связывающий домен имеет низкую или пограничную аффинность связывания. Иллюстративные аффинности связывания включают концентрации KD, составляющие 10 нМ или меньше (высокие), от 10 нМ до 100 нМ (средние) и больше чем 100 нМ (низкие). Как указано выше, аффинности связывания с HSA определяются известными способами, такими как поверхностный плазмонный резонанс (ППР).

Сайты расщепления протеазами

[00292] Композиции белков согласно данному изобретению, и, в частности, конструкций пролекарств, включают один или большее число сайтов расщепления

протеазами, как правило, расположенных в расщепляемых линкерах, как описано в данном документе.

[00293] Как описано в данном документе, конструкции пролекарства согласно данному изобретению включают по меньшей мере один сайт расщепления протеазой, содержащий аминокислотную последовательность, которая расщепляется по меньшей мере одной протеазой. В некоторых случаях МКЭ-белки, описанные в данном документе, содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или большее число сайтов расщепления протеазой, которые расщепляются по меньшей мере одной протеазой. Как более полно обсуждается в данном документе, когда в конструкции пролекарства используется больше чем один сайт расщепления протеазой, они могут быть одинаковыми (например, множество сайтов, которые расщепляются одной протеазой) или разными (два или большее число сайтов расщепления расщепляются по меньшей мере двумя различными протеазами). Как будет понятно специалистам в данной области техники, в конструкциях, содержащих три или большее число сайтов расщепления протеазой, могут использоваться один, два, три и т. д.; например, в некоторых конструкциях могут использоваться три сайта для двух разных протеаз и т. д.

[00294] Аминокислотная последовательность сайта расщепления протеазой будет зависеть от протеазы, на которую она нацелена. Как известно в данной области техники, существует ряд протеаз человека, которые обнаруживаются в организме и могут быть связаны с состояниями заболеваний.

[00295] Известно, что протеазы секретируются некоторыми пораженными клетками и тканями, например, опухолевыми или раковыми клетками, создавая микроокружение, богатое протеазами, или обогащенное протеазами микроокружение. В некоторых случаях кровь субъекта богата протеазами. В некоторых случаях клетки, окружающие опухоль, секретируют протеазы в микроокружение опухоли. Клетки, окружающие опухоль, секретирующие протеазы, включают, но не ограничиваются ими, опухолевые стромальные клетки, миофибробласты, клетки крови, тучные клетки, В-клетки, НК-клетки, регуляторные Т-клетки, макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, дендритные клетки, мезенхимальные стволовые клетки, полиморфноядерные клетки и другие клетки. В некоторых случаях протеазы присутствуют в крови субъекта, например, протеазы, которые нацелены на аминокислотные последовательности, обнаруживаемые в микробных пептидах. Данная особенность позволяет нацеленным терапевтическим агентам, таким как антигенсвязывающие белки, обладать дополнительной специфичностью, поскольку Т-клетки не будут связываться антигенсвязывающим белком, за исключением богатого протеазами микроокружения целевых клеток или ткани.

[00296] Протеазы представляют собой белки, которые расщепляют белки, в некоторых случаях, специфичным для последовательности образом. Протеазы включают, но не ограничиваются ими, сериновые протеазы, цистеиновые протеазы, аспаратпротеазы, треониновые протеазы, протеазы глутаминовой кислоты, металлопротеазы, аспарагиновые пептидазы, сывороточные протеазы, катепсины

(например, катепсин В, катепсин С, катепсин D, катепсин Е, катепсин К, катепсин L, катепсин S и т. д.), калликреины, hK1, hK10, hK15, KLK7, гранзим В, плазмин, коллагеназу, коллагеназу типа IV, стромелизин, фактор ХА, химотрипсиноподобную протеазу, трипсиноподобную протеазу, эластазоподобную протеазу, субтилизиноподобную протеазу, актинидаин, бромелаин, кальпаин, каспазы (например каспазу-3), Mir1-CP, папаин, протеазу ВИЧ-1, протеазу ВПГ, протеазу ЦМВ, химозин, ренин, пепсин, матриптазу, легумаин, плазмепсин, непентезин, металлоэкзопептидазы, металлоэндопептидазы, матриксные металлопротеазы (MMP), MMP1, MMP2, MMP3, MMP8, MMP9, MMP13, MMP11, MMP14, меприн, урокиназный активатор плазминогена (uPA), энтерокиназу, простатспецифический антиген (PSA, hK3), интерлейкин-1 β -конвертирующий фермент, тромбин, FAP (FAP- α), дипептидилпептидазу и дипептидилпептидазу IV (DPPIV/CD26).

[00297] Некоторые подходящие протеазы и последовательности расщепления протеазами показаны на фиг. 8A-8D. В некоторых вариантах осуществления любой из слитых белков, описанных в данном документе, содержит расщепляемый линкер, содержащий последовательность домена расщепления протеазой, указанную в любой из SEQ ID NO:339-408 и 532-535.

Линкеры

[00298] Как обсуждается в данном документе, различные домены согласно данному изобретению, как правило, связаны вместе с использованием аминокислотных линкеров, которые также могут придавать функциональность, включительно с гибкостью или негибкостью (например, стерическое ограничение), а также способность расщепляться протеазой *in situ*. Данные линкеры можно классифицировать несколькими способами.

[00299] В данном изобретении представлены «доменные линкеры», которые используются для соединения двух или большего числа доменов (например, VH и VL, домена, связывающего целевой опухолевый антиген (TTABD, который иногда также обозначается в данном документе как « α ТТА») (для обозначения «против ТТА»), с VH или VL, домена продления периода полужизни с другим компонентом, т. д.). Доменные линкеры могут быть, например, нерасщепляемыми («NCL»), расщепляемыми («CL»), ограниченными и расщепляемыми («CCL») и ограниченными и нерасщепляемыми («CNCL»).

1. Нерасщепляемые линкеры

[00300] В некоторых вариантах осуществления доменный линкер является нерасщепляемым. Как правило, они могут быть одного из двух типов: нерасщепляемые и гибкие, позволяющие компонентам «выше» и «ниже» положения линкера в конструкциях внутримолекулярно самособираться определенным образом; или нерасщепляемые и ограниченные, когда два компонента, разделенные линкером, не способны внутримолекулярно самособираться. Следует, однако, отметить, что в последнем случае, в то время как двухкомпонентные домены, которые разделены нерасщепляемым

ограниченным линкером, не самособираются внутримолекулярно, другие внутримолекулярные компоненты будут самособираться с образованием доменов псевдо-Fv.

Нерасщепляемые, но гибкие линкеры

[00301] В данном варианте осуществления линкер используется для соединения доменов для сохранения функциональности доменов, как правило, с помощью более длинных, гибких доменов, которые не расщепляются протеазами *in situ* у пациента. Примеры внутренних, не расщепляемых линкеров, подходящих для связывания доменов в полипептидах согласно данному изобретению, включают, но не ограничиваются ими, (GS)_n, (GGS)_n, (GGGS)_n [SEQ ID NO:518], (GGSG)_n [SEQ ID NO:519], (GGSGG)_n [SEQ ID NO:520] или (GGGGS)_n [SEQ ID NO:521], где n равно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления длина линкера может составлять около 15 аминокислот.

Нерасщепляемые и ограниченные линкеры

[00302] В некоторых случаях линкеры не содержат сайт расщепления, а также являются слишком короткими, чтобы позволить белковым доменам, разделенным линкером, внутримолекулярно самособираться, и являются «ограниченными нерасщепляемыми линкерами», или «CNCL». Например, в Pro186, активный VH и активный VL разделены 8 аминокислотами («8-мером» или «8-мерным фрагментом»), что не позволяет VH и VL самособираться в активный антигенсвязывающий домен. В некоторых вариантах осуществления линкер по-прежнему является гибким; например, (GGGS)_n, где n=2. В других вариантах осуществления, хотя, как правило, менее предпочтительных, могут использоваться более жесткие линкеры, такие как те, которые включают пролин или громоздкие аминокислоты.

2. Расщепляемые линкеры

[00303] Все конструкции пролекарства, представленные в данном документе, включают по меньшей мере один расщепляемый линкер. Следовательно, в одном варианте осуществления доменный линкер является расщепляемым (CL), иногда упоминаемым в данном документе как «домен расщепления протеазой» («PCD»). В данном варианте осуществления CL содержит сайт расщепления протеазой, как описано в данном документе и как показано на фиг. 8A-8D. В некоторых случаях CL содержит только сайт расщепления протеазой. Необязательно, в зависимости от длины сайта распознавания расщепления, могут дополнительно присутствовать несколько связывающих аминокислот на одном или обоих N- или C-концах CL; например, может присутствовать от 1, 2, 3, 4 или 5, или большее число аминокислот на одном или обоих N- и C-концах сайта расщепления. Следовательно, расщепляемые линкеры могут также быть ограниченными (например, 8-мерами) или гибкими.

[00304] Особый интерес в данном изобретении представляют MMP9-расщепляемые линкеры и меприн-расщепляемые линкеры, в частности, ограниченные MMP9-расщепляемые линкеры и ограниченные меприн-расщепляемые линкеры.

Домены согласно данному изобретению

[00305] В данном изобретении представлен ряд различных форматов для полипептидов-пролекарств согласно данному изобретению. В данном изобретении представлены ограниченные домены Fv и ограниченные домены псевдо-Fv. В качестве дополнения, в данном изобретении представлены мультивалентные кондиционально эффективные (МКЭ) белки, которые содержат два домена Fv, но являются неизомеризующимися конструкциями. Как описано в данном документе, это могут быть неизомеризующиеся расщепляемые форматы или неизомеризующиеся нерасщепляющиеся форматы, хотя каждая конструкция содержит по меньшей мере один домен расщепления протеазой.

[00306] Важно отметить, что хотя оба этих домена (домены Fv и домены псевдо-Fv) упоминаются в данном документе как «ограниченные», что означает, что, как обсуждалось выше и показано на фиг. 1-5, только один из них должен быть ограничен, как правило, когда оба линкера ограничены, белок имеет лучшую экспрессию.

[00307] Специалистам в данной области техники будет понятно, что для форматов 1, 2 и 4 существуют четыре возможности для порядка ограниченных доменов и доменов псевдо-Fv согласно данному изобретению, от N-конца к С-концу (без указания линкеров): 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 обладают активностью, хотя первый порядок, aVH-aVL и iVL-iVH, демонстрирует лучшую экспрессию, чем три других. Следовательно, хотя описание в данном документе, как правило, представлено в данном формате - aVH-aVL и iVL-iVH, все описание в данном документе также включает другие порядки расположения для данных доменов.

[00308] Обратите внимание, что, как правило, порядок соединений для полноразмерных конструкций согласно данному изобретению от N-конца к С-концу основан на ориентации aVH-aVL и iVL-iVH.

[00309] В дополнение к этому, в данной области техники известно, что у человека может наблюдаться иммуногенность, обусловленная С-концевыми последовательностями определенных ABD. Соответственно, в целом, особенно когда С-конец конструкций заканчивается в sdABD (например, домены sdABD-HSA многих конструкций), может использоваться гистидиновая метка (либо His6, либо His10). Многие или большинство последовательностей, описанных в данном документе, были сгенерированы с использованием С-концевых меток His6 из соображений очистки, но данные последовательности также могут использоваться для снижения иммуногенности у человека, как показано в работе Holland et al., DOI 10.1007/s10875-013-9915-0, и в WO2013/024059.

Ограниченные домены Fv

[00310] В данном изобретении представлены ограниченные домены Fv, которые содержат активный домен VH и активный домен VL, которые ковалентно присоединены с использованием ограниченного линкера (который, как описано в данном документе,

может быть расщепляемым (формат 1) или нерасщепляемым (форматы 2 и 4)). Ограниченный линкер предотвращает внутримолекулярную ассоциацию между aVH и aVL при отсутствии расщепления. Следовательно, ограниченный домен Fv, как правило, содержит набор из шести CDR, содержащихся в переменных доменах, где vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3 из VH связывают CD3 человека, и vlCDR1, vCDR2 и vlCDR3 из VL связывают CD3 человека, но в формате пролекарства (например, нерасщепленного), VH и VL неспособны к стерической ассоциации с образованием активного связывающего домена, предпочитая вместо этого внутримолекулярно объединяться в пару с псевдо-Fv.

[00311] Ограниченные домены Fv могут содержать активный VH и активный VL (aVH и aVL) или неактивные VH и VL (iVH и iVL, в данном случае это ограниченный домен псевдо-Fv), или их комбинации, как описано в данном документе.

[00312] Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL в ограниченном домене Fv может быть любым из двух (от N-конца к C-концу): VH-линкер-VL или VL-линкер-VH.

[00313] Как описано в данном документе, для конструкций формата 1 ограниченные домены Fv могут содержать VH и VL, связанные с помощью расщепляемого линкера, в случаях, подобных показанным на фиг. 1. В данном варианте осуществления ограниченный домен Fv имеет следующую структуру (от N-конца к C-концу): vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4-CCL-vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4. Как правило, ограниченный домен Fv содержит активные домены VH и VL (например, в ассоциированном виде способные связывать CD3) и, следовательно, имеет следующую структуру (от N-конца к C-концу): vhFR1-avhCDR1-vhFR2-avhCDR2-vhFR3-avhCDR3-vhFR4-CCL-vlFR1-avlCDR1-vlFR2-avlCDR2-vlFR3-avlCDR3-vlFR4.

[00314] Как описано в данном документе, для конструкций формата 2 ограниченные домены Fv могут содержать VH и VL, связанные с помощью нерасщепляемого линкера. В данном варианте осуществления ограниченный домен Fv имеет следующую структуру (от N-конца к C-концу): vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4-CNCL-vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4. Как правило, ограниченный домен Fv содержит активные домены VH и VL (например, в ассоциированном виде способен связывать CD3), и, следовательно, имеет следующую структуру (от N-конца к C-концу): vhFR1-avhCDR1-vhFR2-avhCDR2-vhFR3-avhCDR3-vhFR4-CNCL-vlFR1-avlCDR1-vlFR2-avlCDR2-vlFR3-avlCDR3-vlFR4.

[00315] Особенное применение в данном изобретении имеют ограниченные нерасщепляемые домены Fv, имеющие aVH, имеющий SEQ ID NO:270, aVL, имеющий SEQ ID NO:254, и доменный линкер, имеющий SEQ ID NO:287.

Ограниченные домены псевдо-Fv

[00316] В данном изобретении представлены ограниченные домены псевдо-Fv, содержащие неактивные или псевдо-домены iVH и iVL, которые ковалентно соединены с помощью ограниченного линкера (который, как описано в данном документе, может быть

расщепляемым или нерасщепляемым). Ограниченный линкер предотвращает внутримолекулярную ассоциацию между iVH и iVL при отсутствии расщепления. Следовательно, ограниченный домен псевдо-Fv, как правило, содержит iVH и iVL с каркасными областями, которые допускают ассоциацию (когда в неограниченном формате) iVH и iVL, хотя результирующий домен псевдо-Fv не связывается с белком человека. Домены iVH могут объединяться с доменами aVL и домены iVL могут объединяться с доменами aVH, хотя результирующие структуры не связываются с CD3.

[00317] Ограниченные домены псевдо-Fv содержат неактивные VH и VL (iVH и iVL).

[00318] Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL в ограниченном домене псевдо-Fv может быть любым из двух (от N-конца к C-концу): VH-линкер-VL или VL-линкер-VH.

[00319] Как описано в данном документе, ограниченные домены псевдо-Fv могут содержать iVH и iVL, связанные с помощью нерасщепляемого линкера, как показано в форматах 1, 2 и 4, или с помощью расщепляемых линкеров, как показано в формате 3.

[00320] Как правило, ограниченный домен Fv содержит инертные домены VH и VL (например, в ассоциированном виде способен связывать CD3), и, следовательно, имеет следующую структуру (от N-конца к C-концу): vhFR1-ivlCDR1-vhFR2-ivlCDR2-vhFR3-ivlCDR3-vhFR4-CNCL-vlFR1-ivhCDR1-vlFR2-ivhCDR2-vlFR3-ivhCDR3-vlFR4.

[00321] Особенное применение в данном изобретении находят ограниченные нерасщепляемые домены псевдо-Fv, имеющие: (i) iVH, имеющий SEQ ID NO:274 (α CD3 VHi), SEQ ID NO:278 (α CD3 VHi2) или SEQ ID NO:282 (α CD3 VHiGL4), (ii) iVL, имеющий SEQ ID NO:258 (α CD3 VLi), SEQ ID NO:262 (α CD3 VLi2) или SEQ ID NO:266 (α CD3 VLiGL), и (iii) доменный линкер, имеющий SEQ ID NO:287. В некоторых вариантах осуществления ограниченный нерасщепляемый домен псевдо-Fv содержит: (i) iVH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:274 (α CD3 VHi), (ii) iVL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:258 (α CD3 VLi), и (iii) доменный линкер, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:287. В некоторых вариантах осуществления ограниченный нерасщепляемый домен псевдо-Fv содержит: (i) iVH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:278 (α CD3 VHi2), (ii) iVL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:262 (α CD3 VLi2), и (iii) доменный линкер, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:287. В некоторых вариантах осуществления ограниченный нерасщепляемый домен псевдо-Fv содержит: (i) iVH, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:282 (α CD3 VHi2GL4), (ii) iVL, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:266 (α CD3 VLi2GL), и (iii) доменный линкер, имеющий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:287.

Форматы согласно данному изобретению

[00322] Как обсуждается в данном документе, конструкции пролекарств согласно данному изобретению могут принимать ряд различных форматов, включительно с

расщепляемыми форматами с двойными ТТА-связывающими доменами, нерасщепляемыми форматами с двойными ТТА-связывающими доменами (любой из которых может иметь одинаковые или разные ТТА-связывающие домены) и нерасщепляемыми форматами с одним нацеливающим доменом.

Конструкции «формата 2»

[00323] Как показано на фиг. 2, в данном изобретении представлены неизомеризующиеся нерасщепляемые форматы. Следует понимать, что в данном варианте осуществления «нерасщепляемый» относится только к связыванию ограниченного домена Fv, поскольку в конструкции пролекарства имеется активирующий сайт расщепления. В данном варианте осуществления ограниченный домен Fv содержит домены VH и VL, которые связаны с использованием ограниченных нерасщепляемых линкеров, и в ограниченном домене псевдо-Fv используются ограниченные нерасщепляемые линкеры.

[00324] Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном домене Fv, либо в ограниченном домене псевдо-Fv, может быть любым из двух (от N-конца к C-концу): VH-линкер-VL или VL-линкер-VH.

[00325] В данном изобретении представлены белки-пролекарства, содержащие, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-ограниченный домен Fv-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-расщепляемый линкер-ограниченный домен псевдо-Fv-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00326] Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном домене Fv, либо в ограниченном домене псевдо-Fv, может быть любым из двух (от N-конца к C-концу): VH-линкер-VL или VL-линкер-VH.

[00327] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00328] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVH-CNCL-iVL-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00329] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVL-CNCL-aVH-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00330] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVL-CNCL-aVH-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVH-CNCL-iVL-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00331] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство, описанный в данном документе, представлен в графических материалах, включительно с фиг. 9C-9V, и соответствующие последовательности указаны как SEQ ID NO:413-452, которые отображают иллюстративные белки Pro225, Pro226, Pro233, Pro311, Pro312, Pro313, Pro246, Pro256, Pro420, Pro421, Pro393, Pro394, Pro395, Pro396, Pro429, Pro430, Pro431, Pro258, Pro221, Pro222, Pro223, Pro224, Pro254, Pro255, Pro262, Pro356, Pro359, Pro364,

Pro388, Pro429, Pro430, Pro431, Pro432, Pro448, Pro449, Pro450, Pro451, Pro479, Pro480 и Pro495. В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство, описанный в данном документе, представлен в графических материалах, включительно с: (i) фиг. 10A-10EE, и соответствующие последовательности указаны как SEQ ID NO: 288-290, 291-302, 304-334, 336, 338 и 522-530, которые отображают иллюстративные белки Pro601, Pro602, V3, V4, Pro664, Pro665, Pro667, Pro694, Pro695, Pro565, Pro566, Pro567, Pro727, Pro728, Pro729, Pro730, Pro731, Pro676, Pro677, Pro678, Pro679, Pro808, Pro819, Pro621, Pro622, Pro640, Pro641, Pro642, Pro643, Pro744, Pro746, Pro108, Pro109, Pro396, Pro476, Pro706, Pro709, Pro470, Pro471, Pro551, Pro552, Pro623, Pro624, Pro698, Pro655, Pro656, Pro657, Pro658, Pro516, Pro517, Pro518, Pro519, Pro513, Pro186, Pro225 и Pro817, (ii) фиг. 12A-12Q, и соответствующие последовательности указаны как SEQ ID NO:453-486, которые отображают иллюстративные белки aLyPD3 h787 COBRA, aLyPD3 h790 COBRA, aLyPD3 h804 COBRA, aLyPD3 h773 COBRA, aLyPD3 h840 COBRA, aLyPD3 h885 COBRA, aHER2 1054 COBRA, aHER2 1055 COBRA, aHER2 1058 COBRA, aHER2 1059 COBRA, aHER2 1065 COBRA, aHER2 1090 COBRA, aHER2 1091 COBRA, aHER2 1092 COBRA, aHER2 1097 COBRA, aHER2 1118 COBRA, aHER2 1121 COBRA, aHER2 1134 COBRA, aHER2 1138 COBRA, aHER2 1139 COBRA, aHER2 1140 COBRA, aHER2 1145 COBRA, aHER2 1146, aHER2 1149 COBRA, aHER2 1150 COBRA, aHER2 1156 COBRA, aHER2 1158 COBRA, aHER2 1159 COBRA, aHER2 1160 COBRA, aHER2 1161 COBRA, aHER2 1162 COBRA, aHER2 1163 COBRA, Pro824 и Pro826, (iii) фиг. 71-74, и соответствующие последовательности указаны как SEQ ID NO:487-494, которые отображают иллюстративные белки Pro751, Pro752, Pro824, Pro826, Pro1109, Pro1111, Pro1117 и Pro1118.

1. Однонацеленные конструкции формата 2: «моноспецифические COBRA»

[00332] В некоторых вариантах осуществления оба домена α ТТА связывают один и тот же целевой опухолевый антиген (ТТА). Соответственно, в некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7A-7B. В данном варианте осуществления два домена нацеливания связываются с одним и тем же ТТА, который может представлять собой EGFR, EpCAM, FOLR1, Trop2, CA9, B7H3, LyPD3 или HER2, последовательности которых изображены на фиг. 5A-5M.

[00333] В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 и sdABD-ТТА2 связывают один и тот же целевой антиген. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 и sdABD-ТТА2

связывают один и тот же целевой антиген, но в разных местоположениях. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 и sdABD-ТТА2 связывают один и тот же целевой антиген, но в одном и том же местоположении. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 и sdABD-ТТА2 имеют одну и ту же аминокислотную последовательность. Любая последовательность sdABD, описанная в данном документе, может быть последовательностью sdABD-ТТА1, sdABD-ТТА2 или обеих. В некоторых вариантах осуществления sdCDR1, sdCDR2 и sdCDR3 в sdABD-ТТА1 являются такими же, как sdCDR1, sdCDR2 и sdCDR3 в sdABD-ТТА2, соответственно.

[00334] В некоторых вариантах осуществления иллюстративные моноспецифические COBRA (также обозначаемые как COBRA, нацеленные на один опухолевый антиген) связываются с целевым опухолевым антигеном, выбранным из группы, состоящей из B7H3, CA9, EGFR, EpCAM, FOLR1, HER2, LyPD3 и Trop2. В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA содержит любую из последовательностей sdABD, представленных в данном документе, включительно с фигурами и формальным перечнем последовательностей. В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с B7H3 (например, B7H3 человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 9C, такой как Pro225 (SEQ ID NO:413) и Pro226 (SEQ ID NO:414); фиг. 10A-10E, такой как Pro601 (SEQ ID NO:522), Pro602 (SEQ ID NO:523), V3 (SEQ ID NO:524), V4 (SEQ ID NO:525), Pro664 (SEQ ID NO:526), Pro665 (SEQ ID NO:527), Pro667 (SEQ ID NO:528), Pro694 (SEQ ID NO:529) и Pro695 (SEQ ID NO:530); фиг. 10O-10Q, такой как Pro640 (SEQ ID NO:306), Pro641 (SEQ ID NO:307), Pro642 (SEQ ID NO:308), Pro643 (SEQ ID NO:309), Pro774 (SEQ ID NO:310) и Pro746 (SEQ ID NO:311); и фиг. 10DD-10EE, такой как Pro225 (SEQ ID NO:336) и Pro817 (SEQ ID NO:338).

[00335] В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с CA9 (например, CA9 человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 10Z-10BB, такой как Pro516 (SEQ ID NO:329), Pro517 (SEQ ID NO:330), Pro518 (SEQ ID NO:331) и Pro519 (SEQ ID NO:332).

[00336] В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с EGFR (например, EGFR человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 10S-10T, такой как Pro396 (SEQ ID NO:314), Pro476 (SEQ ID NO:315), Pro706 (SEQ ID NO:316) и Pro709 (SEQ ID NO:317).

[00337] В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с EpCAM (например, EpCAM человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 10F-10J, такой как Pro565 (SEQ ID NO:288), Pro566 (SEQ ID NO:289), Pro567 (SEQ ID NO:290), Pro727 (SEQ ID NO:292), Pro728 (SEQ ID NO:293), Pro729 (SEQ ID NO:294), Pro730 (SEQ ID NO:295) и Pro731 (SEQ ID NO:296).

[00338] В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с FOLR1 (например, FOLR1 человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 9D и 9E, такой как Pro311 (SEQ ID NO:416), Pro312 (SEQ

ID NO:417) и Pro313 (SEQ ID NO:418).

[00339] В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с HER2 (например, HER2 человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 12D-12P, например, любой из SEQ ID NO: 459-484; и на фиг. 73 и 74, такой как Pro1109 (SEQ ID NO:491), Pro1111 (SEQ ID NO:492), Pro1117 (SEQ ID NO:493) и Pro1118 (SEQ ID NO:494).

[00340] В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с LyPD3 (например, LyPD3 человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 12A-12C, например, любой из SEQ ID NO: 453-458.

[00341] В некоторых вариантах осуществления моноспецифическая COBRA, которая связывается с Trop2 (например, Trop2 человека), включает любой из слитых белков, представленных на фиг. 10J-10M, такой как Pro676 (SEQ ID NO:297), Pro677 (SEQ ID NO:298), Pro678 (SEQ ID NO:299), Pro679 (SEQ ID NO:300), Pro808 (SEQ ID NO:301) и Pro819 (SEQ ID NO:302).

2. Конструкции формата 2 с двойным нацеливанием: «HeteroCOBRA»

[00342] В некоторых вариантах осуществления каждый из доменов α ТТА связывает различную опухолевую мишень. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 5A-5B. В данном варианте осуществления два домена нацеливания связываются с разными ТТА.

[00343] В формате 2 предпочтительные конструкции с двойным нацеливанием на опухолевые антигены (иногда обозначаемые в данном документе как «гетероспецифические COBRA», или «hetero-COBRA») включают комбинации, которые нацелены на EGFR и EpCAM, EGFR и Trop2, EGFR и FOLR1, EGFR и B7H3, EGFR и LyPD3, EGFR и HER2, EpCAM и FOLR1, EpCAM и B7H3, EpCAM и Trop2, EpCAM и LyPD3, EpCAM и HER2, FOLR1 и B7H3, FOLR1 и HER2, FOLR1 и Trop2, FOLR1 и LyPD3, B7H3 и HER2, B7H3 и Trop2, B7H3 и LyPD3, HER2 и Trop2, HER2 и LyPD3, и Trop2 и LyPD3. Они иногда обсуждаются в данном документе как конструкции «EGFR X EpCAM» и т. д.

[00344] В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 и sdABD-ТТА2 связывают разные целевые антигены.

[00345] В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-B7H3 и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-CA9, sdABD-EGFR,

sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-CA9 и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-EGFR и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EpCAM, s sdABD-FOLR1, dABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-EpCAM и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-FOLR1 и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-pCAM, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-HER2 и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-LyPD3 и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2 и sdABD-Trop2. В некоторых вариантах осуществления sdABD-ТТА1 представляет собой sdABD-Trop2 и sdABD-ТТА2 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2 и sdABD-LyPD3. В конструкции формата 2 с двойным нацеливанием или в hetero-COBRA может использоваться любая последовательность sdABD-ТТА, описанная в данном документе, например, такие как sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2.

[00346] Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-B7H3. Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-CA9. Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-EGFR. Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-EpCAM. Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-FOLR1. Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-

B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-HER2. Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, dABD-HER2 и sdABD-Trop2, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-LyPD3. Во многих вариантах осуществления sdABD-ТТА1 выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2 и sdABD-LyPD3, и sdABD-ТТА2 представляет собой sdABD-Trop2. В таких конструкциях формата 2 с двойным нацеливанием или в конструкциях hetero-COBRA может использоваться любая последовательность sdABD-ТТА, описанная в данном документе, например, такие как sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2.

EGFR X EpCAM

[00347] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7A-7B. В данном варианте осуществления два домена нацеливания связываются с EGFR и EpCAM, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5A, 5D, 5E и 75, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации EGFR sdABD и EpCAM sdABD включают:

скрещивание	EGFR1	hEGFR1	EGFR2	EGFR2a	EGFR2d
EpCAM h13	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
EpCAM h23	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
EpCAM hVIB665	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
EpCAM hVIB666	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
EpCAM h664	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00348] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо EpCAM sdABD является N-концевым относительно EGFR sdABD, либо EpCAM sdABD является С-концевым относительно него.

EGFR X FOLR1

[00349] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с EGFR и FOLR1, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5А-5В, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В некоторых вариантах осуществления некоторые комбинации EGFR sdAb и FOLR1 sdAb включают:

скрещивание	EGFR1	hEGFR1	EGFR2	EGFR2a	EGFR 2d
FOLR1 h77-2	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
FOLR1 h59.3	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
FOLR h22-4	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00350] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо FOLR1 sdABD является N-концевым относительно EGFR sdABD, либо FOLR1 sdABD является С-концевым относительно него.

EGFR X B7H3

[00351] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с EGFR и B7H3, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5А-5D, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В некоторых вариантах осуществления некоторые комбинации EGFR sdABD и B7H3 sdABD включают:

скрещивание	EGFR1	hEGFR1	EGFR2	EGFR2a	EGFR2d
B7H3 hF7	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

B7H3 (N57Q)	hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 (N57E)	hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 (N57D)	hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 (S59A)	hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 (S59Y)	hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00352] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо B7H3 sdABD является N-концевым относительно EGFR sdABD, либо B7H3 sdABD является C-концевым относительно него.

EGFR X Trop2

[00353] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-TTA1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-TTA2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с EGFR и Trop2, и sdABD-TTA имеют последовательности, представленные на фиг. 5A, 5E и 5F, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данных вариантах осуществления некоторые комбинации EGFR sdABD и Trop2 sdABD включают:

скрещивание	EGFR1	hEGFR1	EGFR2	EGFR2a	EGFR2d
aTrop2 hVIB557	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB565	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB575	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB578	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

hVIB609	ориентаций	ориентаций	ориентаций	ориентаций	ориентаций
aTrop2 hVIB619	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00354] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо Trop2 sdABD является N-концевым относительно EGFR sdABD, либо Trop2 sdABD является C-концевым относительно него.

EGFR X LyPD3

[00355] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-TTA1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-TTA2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7A-7B. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с EGFR и LyPD3, и sdABD-TTA имеют последовательности, представленные на фиг. 5A, 5G и 5H, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации EGFR sdABD и Trop2 sdABD включают:

скрещивание	EGFR1	hEGFR1	EGFR2	EGFR2a	EGFR2d
aLyPD3 h790	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h804	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h773	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h840	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h885	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h787	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00356] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо Trop2 sdABD является N-концевым относительно EGFR sdABD, либо Trop2 sdABD является C-концевым относительно него.

EGFR X HER2

[00357] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от

N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некотором варианте осуществления два домена нацеливания связываются с EGFR и HER2, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5А, 5Н-5М и 75, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации EGFR sdABD и HER2 sdABD включают:

Скрещивание	EGFR1	hEGFR1	EGFR2	EGFR2a	EGFR2d
aHER2 1054	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1055	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1058	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1059	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1065	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1090	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1091	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1092	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1097	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1118	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1121	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1134	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

	ориентаций	ориентаций	ориентаций	ориентаций	ориентаций
aHER2 h1156	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1159	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1162	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00358] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению HER2 sdABD является либо N-концевым относительно EGFR sdABD, либо C-концевым относительно него.

ЕpCAM X FOLR1

[00359] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7A-7B. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с ЕpCAM и FOLR1, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5B, 5D, 5E и 75, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации ЕpCAM sdABD и FOLR1 sdABD включают:

скрещивание	FOLR1h77-2	FOLR1 h59.3	FOLR h22-4
ЕpCAM h13	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
ЕpCAM h23	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
ЕpCAM hVIB665	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
ЕpCAM hVIB666	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
ЕpCAM h664	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00360] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо ЕpCAM sdABD является N-концевым относительно FOLR1 sdABD, либо ЕpCAM sdABD является C-концевым относительно него.

ЕpCAM X B7H3

[00361] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от

N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с ЕрСАМ и В7Н3, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5В-5Е и 75, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации ЕрСАМ sdABD и В7Н3 sdABD включают:

скрещивание	ЕрСАМ h13	ЕрСАМ h23	ЕрСАМ hVIB665	ЕрСАМ hVIB666	ЕрСАМ h664
В7Н3 hF7	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
В7Н3 hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
В7Н3 hF12 (N57Q)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
В7Н3 hF12 (N57E)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
В7Н3 hF12 (N57D)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
В7Н3 hF12 (S59A)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
В7Н3 hF12 (S59Y)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00362] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо В7Н3 sdABD является N-концевым относительно ЕрСАМ sdABD, либо В7Н3 sdABD является С-концевым относительно него.

ЕрСАМ X Троп2

[00363] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с ЕрСАМ и Троп2, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5D, 5E, 5F и 75, и представленные на них последовательности

соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления предпочтительные комбинации EpCAM sdABD и Trop2 sdABD включают:

скрещивание	EpCAM h13	EpCAM h23	EpCAM hVIB665	EpCAM hVIB666	EpCAM h664
aTrop2 hVIB557	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB565	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB575	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB578	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB609	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB619	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00364] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо Trop2 sdABD является N-концевым относительно EpCAM sdABD, либо Trop2 sdABD является C-концевым относительно него.

EpCAM X LyPD3

[00365] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-TTA1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-TTA2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7A-7B. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с EpCAM и LyPD3, и sdABD-TTA имеют последовательности, представленные на фиг. 5D, 5E, 5H и 75, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации LyPD3 sdABD и EpCAM sdABD включают:

[00366]

скрещивание	EpCAM h13	EpCAM h23	EpCAM hVIB665	EpCAM hVIB666	EpCAM h664
aLyPD3 h790	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

aLyPD3 h804	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h773	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h840	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h885	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h787	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00367] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению LyPD3 sdABD является либо N-концевым относительно EpCAM sdABD, либо C-концевым относительно него.

EpCAM X HER2

[00368] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7A-7B. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с HER2 и EpCAM, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5D, 5E, 5H-5M и 75, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации HER2 sdABD и EpCAM sdABD включают :

скрещивание	EpCAM h13	EpCAM h23	EpCAM hVIB665	EpCAM hVIB666	EpCAM h664
aHER2 1054	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1055	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1058	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1059	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

aHER2 1156	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1158	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1159	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1160	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1161	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1162	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1163	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1139	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1156	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1159	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1162	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00369] В данном случае «ЛО» обозначает «любая из ориентаций», что означает, что в конструкциях согласно данному изобретению LyPD3 sdABD является либо N-концевым относительно EpCAM sdABD, либо C-концевым относительно него.

FOLR1 X B7H3

[00370] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с FOLR1 и B7H3, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5В-5D, и представленные на них последовательности

соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации FOLR1 sdABD и B7H3 sdABD включают:

скрещивание	FOLR1h77-2	FOLR1 h59.3	FOLR h22-4
B7H3 hF7	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 hF12	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 hF12 (N57Q)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 hF12 (N57E)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 hF12 (N57D)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 hF12 (S59A)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
B7H3 hF12 (S59Y)	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00371] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению B7H3 sdABD является либо N-концевым относительно FOLR1 sdABD, либо C-концевым относительно него.

FOLR1 X HER2

[00372] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с FOLR1 и HER2, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5В, 5Н-5М и 75, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации FOLR1 sdABD и HER2 sdABD включают:

Скрещивание	FOLR1h77-2	FOLR1 h59.3	FOLR h22-4
aHER2 1054	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1055	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

aHER2 1149	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1150	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1156	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1158	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1159	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1160	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1161	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1162	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 1163	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1139	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1156	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1159	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aHER2 h1162	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00373] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо HER2 sdABD является N-концевым относительно FOLR1 sdABD, либо HER2 sdABD является C-концевым относительно него.

FOLR1 X Trop2

[00374] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от

N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с FOLR1 и Trop2, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5В, 5Е и 5F, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления предпочтительные комбинации FOLR1 sdABD и Trop2 sdABD включают :

скречивание	FOLR1h77-2	FOLR1 h59.3	FOLR h22-4
aTrop2 hVIB557	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB565	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB575	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB578	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aTrop2 hVIB609	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

[00375] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо Trop2 sdABD является N-концевым относительно FOLR1 sdABD, либо Trop2 sdABD является С-концевым относительно него.

FOLR1 X LyPD3

[00376] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с FOLR1 и LyPD3, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5В, 5G и 5H, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации FOLR1sdABDs и LyPD3 sdABD включают:

Скречивание	FOLR1h77-2	FOLR1 h59.3	FOLR h22-4
aLyPD3 h790	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций
aLyPD3 h804	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций	В любой из ориентаций

B7H3 hF12	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
B7H3 hF12 (N57Q)	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
B7H3 hF12 (N57E)	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
B7H3 hF12 (N57D)	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
B7H3 hF12 (S59A)	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
B7H3 hF12 (S59Y)	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й

[00381] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо Trop2 sdABD является N-концевым относительно B7H3 sdABD, либо Trop2 sdABD является C-концевым относительно него.

B7H3 X LyPD3

[00382] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-TTA1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-TTA2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7A-7B. В некотором варианте осуществления два домена нацеливания связываются с B7H3 и LyPD3, и sdABD-TTA имеют последовательности,

	ориентаци й	ориентаци й	ориентаци й	ориентаци й	ориентаци й	ориентаци й
aHER2 h1159	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
aHER2 h1162	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й

[00387] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению HER2 sdABD является либо N-концевым относительно Trop2 sdABD, либо C-концевым относительно него.

Trop2 X LyPD3

[00388] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В некоторых вариантах осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с Trop2 и LyPD3, и sdABD-ТТА имеют последовательности, представленные на фиг. 5Е-5G и 5Н, и представленные на них последовательности соответствуют перечню последовательностей. В данном варианте осуществления некоторые комбинации Trop2 sdABD и LyPD3 sdABD включают:

скрещиван ие	aTrop2 hVIB557	aTrop2 hVIB565	aTrop2 hVIB575	aTrop2 hVIB578	aTrop2 hVIB609	aTrop2 hVIB619
aLyPD3 h787	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
aLyPD3 h790	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
aLyPD3	В любой	В любой	В любой	В любой	В любой	В любой

h804	из ориентаци й	из ориентаци й	из ориентаци й	из ориентаци й	из ориентаци й	из ориентаци й
aLyPD3 h773	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
aLyPD3 h840	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й
aLyPD3 h885	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й	В любой из ориентаци й

[00389] В данном случае «любая из ориентаций» означает, что в конструкциях согласно данному изобретению либо Trop2 sdABD является N-концевым относительно LyPD3 sdABD, либо Trop2 sdABD является C-концевым относительно него.

[00390] В некоторых вариантах осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В некоторых вариантах осуществления два домена нацеливания связываются с одним и тем же ТТА, который может представлять собой EGFR, FOLR1, B7H3, CA9, Trop2, LyPD3, HER2 или EpCAM, последовательности которых представлены на фиг. 5А-М и 75, и CCL и CL выбраны из линкера, который расщепляется MMP9 или меприном, и sdABD(1/2) имеет последовательность SEQ ID NO:249.

[00391] В формате 2 предпочтительный линкер представляет собой SEQ ID NO:287 (что также служит предпочтительным ограниченным нерасщепляемым линкером).

Расщепляемые форматы с двойным нацеливанием

[00392] В данном изобретении представлены неизомеризующиеся расщепляемые форматы типа «формат 1» на фиг. 1. В данном варианте осуществления ограниченный домен Fv содержит домены VH и VL, которые связаны с использованием ограниченных расщепляемых линкеров, а в ограниченном домене псевдо-Fv используются ограниченные нерасщепляемые линкеры. Для простоты обсуждения оба они упоминаются в данном документе как «ограниченные», но, как обсуждалось выше и показано на фиг. 37, фиг. 38

и фиг. 39 из WO2019/051102, только один из них должен быть ограничен, хотя, как правило, когда оба линкера ограничены, белок имеет лучшую экспрессию.

[00393] Все конструкции в формате 1 (а также в других форматах) также имеют расщепляемый линкер (CL), который расщепляется протеазой опухоли человека.

[00394] В данном изобретении представлены белки-пролекарства, содержащие, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-ограниченный домен Fv-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-ограниченный домен псевдо-Fv-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00395] Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном домене Fv, либо в ограниченном домене псевдо-Fv, может быть любым из двух (от N-конца к С-концу): VH-линкер-VL или VL-линкер-VH.

[00396] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00397] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVH-CCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVH-CCL-iVL-доменный линкер-sdABD-HSA.

[00398] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVL-CCL-aVH-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVL-CCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00399] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к С-концу: (sdABD-ТТА1)-доменный линкер-aVL-CCL-aVH-доменный линкер-(sdABD-ТТА2)-CL-iVH-CCL-iVL-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00400] В некоторых вариантах осуществления конструкция пролекарства содержит sdABD(ТТА1)-доменный линкер-aVH-CCL-aVL-доменный линкер-sdABD(ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-NCL-sdABD(1/2). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH и iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В.

[00401] В некоторых вариантах осуществления конструкция пролекарства содержит sdABD(ТТА1)-доменный линкер-aVH-CCL-aVL-доменный линкер-sdABD(ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-sdABD(1/2). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В данном варианте осуществления два домена нацеливания связываются с одним и тем же ТТА, который может представлять собой EGFR, EpCAM, FOLR1, Trop2, CA9, LuPD3, HER2 или V7H3, последовательности которых изображены на фиг. 5А-5М и 75.

[00402] В некоторых вариантах осуществления конструкция пролекарства содержит sdABD(ТТА1)-доменный линкер-aVH-CCL-aVL-доменный линкер-sdABD(ТТА2)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-sdABD(1/2). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В данном варианте осуществления два домена нацеливания связываются с разными ТТА.

В данном варианте осуществления два домена нацеливания связываются с одним и тем же ТТА, который может представлять собой EGFR, FOLR1, B7H3, Trop2, CA9, LyPD3, HER2 или EpCAM, последовательности которых представлены на фиг. 5, и CCL и CL выбраны из линкера, который расщепляется MMP9 или меприном, и sdABD($\frac{1}{2}$) имеет последовательность SEQ ID NO:245 или SEQ ID NO:249.

[00410] В формате 1 предпочтительный линкер представляет собой SEQ ID NO:287 (что также служит предпочтительным ограниченным нерасщепляемым линкером).

Конструкции с одним ТТА

[00411] Как показано на фиг. 4, в композиции согласно данному изобретению также включены конструкции «формата 4», которые подобны конструкциям формата 2, но без второго ТТА ABD. Следует понимать, что в данном варианте осуществления «нерасщепляемый» относится только к связыванию ограниченного домена Fv, поскольку в конструкции пролекарства имеется активирующий сайт расщепления. В данном варианте осуществления ограниченный домен Fv содержит домены VH и VL, которые связаны с использованием ограниченных нерасщепляемых линкеров, и в ограниченном домене псевдо-Fv используются ограниченные нерасщепляемые линкеры.

[00412] Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном домене Fv, либо в ограниченном домене псевдо-Fv, может быть любым из двух (от N-конца к C-концу): VH-линкер-VL или VL-линкер-VH.

[00413] В данном изобретении представлены белки-пролекарства, содержащие, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА)-доменный линкер-ограниченный домен Fv-расщепляемый линкер-(sdABD-HSA)-ограниченный домен псевдо-Fv. Обратите внимание, что для всех конструкций данного формата sdABD-HSA, как правило, не имеет метку His6, хотя ее можно включить в них.

[00414] Как будет понятно специалистам в данной области техники, порядок VH и VL либо в ограниченном домене Fv, либо в ограниченном домене псевдо-Fv, может быть любым из двух (от N-конца к C-концу): VH-линкер-VL или VL-линкер-VH.

[00415] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-CL-(sdABD-HSA)-доменный линкер-iVL-CNCL-iVH.

[00416] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-CL-(sdABD-HSA)-доменный линкер-iVH-CNCL-iVL.

[00417] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА)-доменный линкер-aVL-CNCL-aVH-CL-(sdABD-HSA)-доменный линкер-iVH-CNCL-iVL.

[00418] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА)-доменный линкер-aVL-CNCL-aVH-CL-(sdABD-HSA)-доменный линкер-iVL-CNCL-iVH.

[00419] Следовательно, в одном варианте осуществления белок-пролекарство

содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-ТТА)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-CL-(sdABD-HSA)-доменный линкер-iVL-CNCL-iVH. В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL имеют последовательности, представленные на фиг. 7А-7В. В данном варианте осуществления домен нацеливания связывается с ТТА, который может представлять собой EGFR, EpCAM, FOLR1, Trop2, CA9, LyPD3, HER2 или V7H3, последовательности которых изображены на фиг. 5А-5М и 75.

Двухбелковые композиции

[00420] В некоторых вариантах осуществления композиции согласно данному изобретению содержат две разные молекулы, иногда упоминаемые как «hemi-COBRA™» или «полуконструкции», которые в отсутствие расщепления внутримолекулярно ассоциируются с образованием псевдо-Fv. В присутствии протеазы сайты расщепления расщепляются, высвобождая инертные переменные домены, и затем пара белков образует активный антигенсвязывающий домен против CD3, как обобщенно показано на фиг. 3.

[00421] Что важно при конструировании полуконструкций, так это то, что активный переменный домен и sdABD-ТТА остаются вместе после расщепления, так что две отщепленные части удерживаются вместе рецептором опухолевого антигена на поверхности опухоли и затем могут образовывать активный связывающий домен против CD3.

[00422] Существуют две разные конструкции общего формата 3: те, в которых каждый элемент пары имеет один sdABD-ТТА (фиг. 3А), и те, в которых есть два разных sdABD-ТТА, каждый - к другому ТТА (фиг. 3В).

1. Конструкции Hemi-COBRA™ с одним ТТА-связывающим доменом (формат 3А)

[00423] В некоторых вариантах осуществления первая hemi-COBRA™ содержит, от N-конца к C-концу: sdABD(ТТА1)-доменный линкер-aVH-CL-iVL-доменный линкер-sdABD(1/2), и вторая содержит sdABD(1/2)-доменный линкер-iVH-CL-aVL-доменный линкер-sdABD(ТТА2). В данном варианте осуществления aVH, aVL, iVH, iVL и sdABD(1/2) имеют последовательности, представленные на фиг. 6 и 7, и sdABD-ТТАa связывается с EGFR, EpCAM, Trop2, CA9, LyPD3, HER2, FOLR1 и/или V7H3 человека, и имеет последовательность, представленную на фиг. 5А-5М и 75.

2. Конструкции Hemi-COBRA™ с двойными ABD против ТТА

[00424] В некоторых вариантах осуществления парные конструкции пролекарства могут иметь по два домена связывания sdABD-ТТА на конструкцию, как показано на фиг. 3В. В данных вариантах осуществления первый элемент пары содержит, от N-конца к C-концу: sdABD-ТТА1-доменный линкер-sdABD-ТТА2-доменный линкер-aVH-CL-iVL-доменный линкер-sdABD(HAS), и второй элемент пары содержит, от N-конца к C-концу: sdABD-ТТА1-доменный линкер-sdABD-ТТА2-aVL-CL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00425] Два sdABD-ТТА на каждом элементе пары являются разными, но, как правило, оба элемента пары (hemi-COBRA™) имеют два одинаковых sdABD-ТТА,

например, оба имеют EGFR и FOLR1, или EGFR и V7H3, и т. д.

[00426] В некоторых вариантах осуществления два sdABD-ТТА выбраны из таковых, показанных на фиг. 5А-5М и 75.

Способы получения композиций согласно данному изобретению

[00427] Композиции пролекарств согласно данному изобретению получают так, как в целом понятно специалистам в данной области техники и описано ниже.

[00428] В данном изобретении представлены композиции нуклеиновых кислот, которые кодируют композиции пролекарств согласно данному изобретению. Как будет понятно специалистам в данной области техники, композиции нуклеиновых кислот будут зависеть от формата полипептида (-ов) пролекарства. Следовательно, например, когда формат требует две аминокислотные последовательности, например, конструкции «формата 3», две последовательности нуклеиновых кислот для экспрессии могут быть включены в один или большее число векторов экспрессии. Подобным образом, конструкции пролекарств, которые представляют собой один полипептид (форматы 1, 2 и 4), требуют для их получения одну нуклеиновую кислоту в одном векторе экспрессии.

[00429] Как известно в данной области техники, нуклеиновые кислоты, кодирующие компоненты согласно данному изобретению, могут быть включены в векторы экспрессии так, как известно в данной области техники, и в зависимости от клеток-хозяев, используемых для получения композиций пролекарств согласно данному изобретению. Как правило, нуклеиновые кислоты функционально связаны с любым числом регуляторных элементов (промоторов, точек начала репликации, селективируемых маркеров, сайтов связывания рибосом, индукторов и т. д.). Векторы экспрессии могут быть внехромосомными или интегрирующимися векторами.

[00430] Затем нуклеиновые кислоты и/или векторы экспрессии согласно данному изобретению трансформируют в любое число различных типов клеток-хозяев, хорошо известных в данной области техники, включительно с клетками млекопитающих, бактерий, дрожжей, насекомых и/или грибов, при этом клетки млекопитающих (например, клетки СНО, клетки 293) находят применение во многих вариантах осуществления.

[00431] Композиции пролекарства согласно данному изобретению получают путем культивирования клеток-хозяев, содержащих вектор (векторы) экспрессии, как хорошо известно в данной области техники. После получения выполняют традиционные стадии очистки антител, включительно со стадией аффинной хроматографии белка А и/или стадией ионообменной хроматографии.

Составление и введение композиций пролекарств

[00432] Составы композиций пролекарств, применяемых в данном изобретении, готовят для хранения путем смешивания пролекарств (одиночных белков в случае форматов 1, 2 и 4, и двух белков в случае формата 3), имеющих желаемую степень чистоты, с необязательными фармацевтически приемлемыми носителями, эксципиентами или стабилизаторами (как в целом описано в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]), в виде лиофилизированных составов или водных растворов.

[00433] Композиции пролекарств согласно данному изобретению вводят субъекту в соответствии с известными способами, такими как внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение периода времени.

[00434] Композиции пролекарств согласно данному изобретению полезны в лечении онкологического заболевания. В данном изобретении представлены способы лечения онкологического заболевания у пациента, включающие любую из композиций пролекарства, описанных в данном документе. В данном документе описана композиция пролекарства для применения в качестве медицинского препарата. Представлена фармацевтическая композиция для лечения онкологического заболевания, содержащая любую из композиций пролекарства, описанных в данном документе. Представлена фармацевтическая композиция, содержащая любую из композиций пролекарства, описанных в данном документе, для лечения онкологического заболевания у пациента, нуждающегося в этом. Представлена композиция пролекарства, как описано в данном документе, для лечения или для применения в способе лечения онкологического заболевания. Представлена композиция пролекарства, описанного в данном документе, для лечения онкологического заболевания у пациента, нуждающегося в этом. Представлено применение композиции пролекарства в производстве медицинского препарата для лечения онкологического заболевания.

Иллюстративные варианты осуществления

[00435] В данном изобретении представлен ряд различных белковых композиций для лечения онкологического заболевания. Соответственно, в одном аспекте данного изобретения представлены белки «формата 2», содержащие, от N-конца к C-концу: первый однодоменный антигенсвязывающий домен (sdABD), который связывается с целевым опухолевым антигеном человека (ТТА) (sdABD-ТТА); b) доменный линкер; c) ограниченный домен Fv, содержащий: i) вариабельный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и iii) вариабельный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; d) второй доменный линкер; e) второй sdABD-ТТА; f) расщепляемый линкер (CL); g) ограниченный домен псевдо-Fv, содержащий: i) псевдовариабельный легкий домен; ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и iii) псевдовариабельный тяжелый домен; h) третий доменный линкер; и i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека; при этом вариабельный тяжелый домен и вариабельный легкий домен способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен Fv не связывает CD3; вариабельный тяжелый домен и псевдовариабельный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и вариабельный легкий домен и псевдовариабельный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv. В некоторых вариантах осуществления целевой опухолевым антиген человека представляет собой B7H3.

[00436] В дополнительном аспекте данного изобретения представлены белки, содержащие, от N-конца к C-концу: первый однодоменный антигенсвязывающий домен

(sdABD), который связывается с целевым опухолевым антигеном человека (ТТА) (sdABD-ТТА), содержащий sdFR1-sdCDR1-sdFR2-sdCDR2-sdFR3-sdCDR3-sdFR4; b) первый доменный линкер; c) ограниченный домен F_v, содержащий: i) переменный тяжелый домен, содержащий vhFR1-vhCDR1-vhFR2-vhCDR2-vhFR3-vhCDR3-vhFR4; ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и iii) переменный легкий домен, содержащий vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4; d) второй доменный линкер; e) второй sdABD-ТТА; f) расщепляемый линкер (CL); g) ограниченный домен псевдо-F_v, содержащий: i) псевдопеременный легкий домен, содержащий sdFR1-sdCDR1-sdFR2-sdCDR2-sdFR3-sdCDR3-sdFR4; ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и iii) псевдопеременный тяжелый домен, содержащий vlFR1-vlCDR1-vlFR2-vlCDR2-vlFR3-vlCDR3-vlFR4; h) третий доменный линкер; и i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека, содержащий sdFR1-sdCDR1-sdFR2-sdCDR2-sdFR3-sdCDR3-sdFR4; при этом переменный тяжелый домен и переменный легкий домен способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен F_v не связывает CD3; переменный тяжелый домен и псевдопеременный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного F_v; и переменный легкий домен и псевдопеременный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного F_v. В некоторых вариантах осуществления целевой опухолевой антиген человека представляет собой B7H3.

[00437] В некоторых вариантах осуществления белков формата 2 переменный тяжелый домен является N-концевым относительно переменного легкого домена и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена. В некоторых вариантах осуществления переменный тяжелый домен является N-концевым относительно переменного легкого домена и псевдопеременный легкий домен является C-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена. В некоторых вариантах осуществления переменный тяжелый домен является C-концевым относительно переменного легкого домена и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена. В некоторых вариантах осуществления переменный тяжелый домен является C-концевым относительно переменного легкого домена и псевдопеременный легкий домен является C-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

[00438] В некоторых вариантах осуществления белков формата 2 первый sdABDТТА и второй sdABDТТА являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления первый sdABDТТА и второй sdABDТТА являются разными. В данных вариантах осуществления sdABD-ТТА выбраны из таковых, представленных на фиг. 7, включительно с 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, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:73,77, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:89,

SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:109 и SEQ ID NO:113.

[00439] В некоторых вариантах осуществления белков формата 2 псевдовариабельный тяжелый домен ограниченного домена псевдо-Fv выбран из группы SEQ ID NO:146 (V_{H1}), SEQ ID NO:150 (V_{H12}) и SEQ ID NO:154 (V_{H1GL4}), как показано на фиг. 7. В некоторых вариантах осуществления псевдовариабельный легкий домен ограниченного домена псевдо-Fv выбран из группы SEQ ID NO:130 (V_{L1}), SEQ ID NO:134 (V_{L12}) и SEQ ID NO:138 (V_{L1GL}), как показано на фиг. 7.

[00440] В дополнительном аспекте данного изобретения представлен белок «формата 1», содержащий, от N-конца к C-концу: а) первый sdABD-ТТА; б) первый доменный линкер; (с) ограниченный домен Fv, содержащий: i) первый вариабельный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; ii) ограниченный расщепляемый линкер (CCL); и iii) первый вариабельный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; d) второй доменный линкер; е) второй sdABD-ТТА; f) расщепляемый линкер (CL); g) ограниченный домен псевдо-Fv, содержащий: i) первый псевдовариабельный легкий домен; ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и iii) первый псевдовариабельный тяжелый домен; h) третий доменный линкер; и i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека; при этом первый вариабельный тяжелый домен и первый вариабельный легкий домен способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен Fv не связывает CD3; при этом первый вариабельный тяжелый домен и первый псевдовариабельный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом первый вариабельный легкий домен и первый псевдовариабельный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv. В дополнительном аспекте данного изобретения представлен белок «формата 4», содержащий, от N-конца к C-концу: а) однодоменный антигенсвязывающий домен (sdABD), который связывает целевой опухолевый антиген (ТТА) человека (sdABD-ТТА); б) первый доменный линкер; (с) ограниченный домен Fv, содержащий: i) первый вариабельный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и iii) первый вариабельный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; d) расщепляемый линкер (CL); е) второй sdABD, который связывает альбумин сыворотки крови человека; f) доменный линкер; g) ограниченный домен псевдо-Fv, содержащий: i) первый псевдовариабельный легкий домен; ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и iii) первый псевдовариабельный тяжелый домен; при этом первый вариабельный тяжелый домен и первый вариабельный легкий домен способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен Fv не связывает CD3; при этом первый вариабельный тяжелый домен и первый псевдовариабельный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом первый вариабельный легкий домен и первый псевдовариабельный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

[00441] В дополнительном аспекте, касательно белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

[00442] В дополнительном аспекте, касательно белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена и псевдопеременный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдопеременного легкого домена.

[00443] В дополнительном аспекте, касательно белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

[00444] В дополнительном аспекте, касательно белков формата 1, формата 2 и формата 4, перечисленных выше, первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена и псевдопеременный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдопеременного легкого домена.

[00445] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены белки форматов 1 и 2, в которых первый и второй ТТА являются одинаковыми. В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены белки форматов 1 и 2, в которых первый и второй ТТА являются разными.

[00446] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены белки форматов 1, 2 и 4, в которых первый и второй ТТА выбраны из EGFR, EpCAM, FOLR1, Trop2, са9 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, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:73,77, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:109 и SEQ ID NO:113.

[00447] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены белки форматов 1, 2 и 4, в которых домен продления периода полужизни имеет SEQ ID NO:117 (аHSA (10GE)) и SEQ ID NO:121 (аHSA с меткой His).

[00448] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены белки форматов 1, 2 и 4, в которых расщепляемый линкер расщепляется протеазой человека, выбранной из группы, состоящей из MMP2, MMP9, меприна А, меприна В, катепсина S, катепсина К, катепсина L, гранзима В, uPA, калликреина 7, матриптазы и тромбина, или других, как показано на фиг. 6.

[00449] В дополнительном аспекте данного изобретения представлен белок, выбранный из группы, состоящей из Pro186, Pro225, Pro226, Pro233, Pro262, Pro311, Pro312, Pro313, Pro356, Pro359, Pro364, Pro388, Pro448, Pro449, Pro450, Pro451, Pro495,

Pro246, Pro254, Pro255, Pro256, Pro420, Pro421, Pro432, Pro479, Pro480, Pro187, Pro221, Pro222, Pro223, Pro224, Pro393, Pro394, Pro395, Pro396, Pro429, Pro430, Pro431, Pro601, Pro602, V3 и V4, Pro664, Pro665, Pro667, Pro694, Pro695, Pro565, Pro566, Pro567, Pro727, Pro728, Pro729, Pro730, Pro731, Pro676, Pro677, Pro678, Pro679, Pro808, Pro819, Pro621, Pro622, Pro640, Pro641, Pro642, Pro643, Pro744, Pro746, Pro638, Pro639, Pro396, Pro476, Pro706, Pro709, Pro470, Pro471, Pro551, Pro552, Pro623, Pro624, Pro698, Pro655, Pro656, Pro657, Pro658, Pro516, Pro517, Pro518 и Pro519.

[00450] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены 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 данный белок.

[00451] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены способы получения белков согласно данному изобретению и способы лечения пациентов, нуждающихся в этом.

[00452] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены композиции, содержащие пары «формата 3А» белков пролекарства, содержащие: а) первый белок, содержащий, от N-конца к С-концу: i) первый sdABD-ТТА; ii) первый доменный линкер; iii) домен псевдо-Fv, содержащий, от N-конца к С-концу: 1) переменную тяжелую цепь, содержащую vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; 2) расщепляемый линкер; и 3) первый псевдопеременный легкий домен, содержащий iVLCDR1, iVLCDR2 и iVLCDR3; iv) второй доменный линкер; v) sdABD-HSA; а) второй белок, содержащий, от N-конца к С-концу: i) третий sdABD, который связывается с целевым опухолевым антигеном человека; ii) третий доменный линкер; iii) домен псевдо-Fv, содержащий, от N-конца к С-концу: 1) переменную легкую цепь, содержащую VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3; 2) расщепляемый линкер; и 3) первый псевдопеременный тяжелый домен, содержащий iVHCDR1, iVHCDR2 и iVHCDR3; iv) четвертый доменный линкер; v) sdABD-HSA; при этом первый переменный тяжелый домен и первый переменный легкий домен в ассоциированном виде способны связывать CD3 человека; при этом первый переменный тяжелый домен и первый псевдопеременный легкий домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; при этом первый переменный легкий домен и первый псевдопеременный тяжелый домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом первый и третий sdABD 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, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:73,77, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:109 и SEQ ID NO:113.

[00453] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены композиции, содержащие пары «формата 3В» белков пролекарства, содержащие: а)

первый белок, содержащий, от N-конца к С-концу: i) первый sdABD-ТТА; ii) первый доменный линкер; iii) второй sdABD-ТТА; iv) второй доменный линкер; iii) домен псевдо-Fv, содержащий, от N-конца к С-концу: 1) переменную тяжелую цепь, содержащую vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; 2) расщепляемый линкер; и 3) первый псевдопеременный легкий домен, содержащий iVLCDR1, iVLCDR2 и iVLCDR3; iv) третий доменный линкер; и v) sdABD-HSA; а) второй белок, содержащий, от N-конца к С-концу: i) третий sdABD; ii) четвертый доменный линкер; iii) четвертый sdABD-ТТА; iv) пятый доменный линкер; iii) домен псевдо-Fv, содержащий, от N-конца к С-концу: 1) переменную легкую цепь, содержащую VLCDR1, VLCDR2 и VLCDR3; 2) расщепляемый линкер; и 3) первый псевдопеременный тяжелый домен, содержащий iVHCDR1, iVHCDR2 и iVHCDR3; iv) шестой доменный линкер; v) sdABD-HSA; при этом первый переменный тяжелый домен и первый переменный легкий домен в ассоциированном виде способны связывать CD3 человека; при этом первый переменный тяжелый домен и первый псевдопеременный легкий домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и при этом первый переменный легкий домен и первый псевдопеременный тяжелый домен межмолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

[00454] В дополнительном аспекте белки формата 3А и формата 3В имеют sdABD-HSA, который имеет SEQ ID NO:117 или SEQ ID NO:121. В дополнительном аспекте белки формата 3А и формата 3В имеют sdABD-ТТА, который связывается с ТТА, выбранным из группы, состоящей из EGFR, EpCAM, Trop2, CA9, FOLR1 и B7H3. sdABD-ТТА 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, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:73,77, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:89, SEQ ID NO:93, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:109 и SEQ ID NO:113.

[00455] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены sdABD, которые связываются с Trop2 человека, имеющие последовательность, выбранную из SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:89 и SEQ ID NO:93. В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены sdABD, которые связываются с B7H3 человека, имеющие последовательность, выбранную из SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:53 и SEQ ID NO:57. В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены sdABD, которые связываются с CA9 человека, имеющие последовательность, выбранную из SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:109 и SEQ ID NO:113. В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены sdABD, которые связываются с EpCAM человека, имеющие последовательность, выбранную из SEQ ID NO:69 и SEQ ID NO:73.

[00456] В некоторых аспектах в данном документе представлен слитый белок, содержащий, от N-конца к С-концу: (а) первый sdABD, который связывает целевой опухолевый антиген (sdABD-ТТА); (b) первый доменный линкер; (с) ограниченный домен

F_v, содержащий: (i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; (ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и (iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; (d) второй доменный линкер; (e) второй sdABD-ТТА; (f) расщепляемый линкер (CL); (g) ограниченный домен псевдо-F_v, содержащий: (i) первый псевдопеременный легкий домен; (ii) нерасщепляемый линкер (NCL); и (iii) первый псевдопеременный тяжелый домен; (h) третий доменный линкер; и (i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека (sdABD-HSA); при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый переменный легкий домен способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен F_v не связывает CD3; первый переменный тяжелый домен и первый псевдопеременный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного F_v; и первый sdABD-ТТА и второй sdABD-ТТА связывают один и тот же ТТА, выбранный из группы, состоящей из B7H3, CA9, EGFR, EpCAM, FOLR1, HER2, LyPD3 и Trop2. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй sdABD-ТТА могут быть любыми из sdABD-ТТА, описанных в данном документе.

[00457] В некоторых аспектах в данном документе представлен слитый белок, содержащий, от N-конца к С-концу: (a) первый sdABD, который связывает целевой опухолевый антиген (sdABD-ТТА); (b) первый доменный линкер; (c) ограниченный домен F_v, содержащий: (i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3; (ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и (iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3; (d) второй доменный линкер; (e) второй sdABD-ТТА; (f) расщепляемый линкер (CL); (g) ограниченный домен псевдо-F_v, содержащий: (i) первый псевдопеременный легкий домен; (ii) нерасщепляемый линкер (NCL); и (iii) первый псевдопеременный тяжелый домен; (h) третий доменный линкер; и (i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека (sdABD-HSA); при этом указанный первый переменный тяжелый домен и указанный первый переменный легкий домен способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен F_v не связывает CD3; первый переменный тяжелый домен и первый псевдопеременный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного F_v; и первый sdABD-ТТА связывает ТТА, выбранный из группы, состоящей из B7H3, CA9, EGFR, EpCAM, FOLR1, HER2, LyPD3 и Trop2, и второй sdABD-ТТА связывает другой ТТА, выбранный из группы, состоящей из B7H3, CA9, EGFR, EpCAM, FOLR1, HER2, LyPD3 и Trop2. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй sdABD-ТТА могут быть любыми из sdABD-ТТА, описанных в данном документе.

[00458] Слитый белок, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из любой выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:288 (Pro565), SEQ ID NO:289 (Pro566), SEQ ID NO:290 (Pro567), SEQ ID NO:292 (Pro727), SEQ ID NO:293 (Pro728), SEQ ID NO:294 (Pro729), SEQ ID NO:295 (Pro730), SEQ ID NO:296 (Pro731), SEQ

ID NO:297 (Pro676), SEQ ID NO:298 (Pro677), SEQ ID NO:299 (Pro678), SEQ ID NO:300 (Pro679), SEQ ID NO:301 (Pro808), SEQ ID NO:302 (Pro819), SEQ ID NO:304 (Pro621), SEQ ID NO:305 (Pro622), SEQ ID NO:306 Pro640, SEQ ID NO:307 (Pro641), SEQ ID NO:308 (Pro642), SEQ ID NO:309 (Pro643), SEQ ID NO:310 (Pro744), SEQ ID NO:311 (Pro746), SEQ ID NO:312 (Pro108), SEQ ID NO:313 (Pro109), SEQ ID NO:314 (Pro396,) SEQ ID NO:315 (Pro476), SEQ ID NO:316 (Pro706), SEQ ID NO:317 (Pro709), SEQ ID NO:318 (Pro470), SEQ ID NO:319 (Pro471), SEQ ID NO:320 (Pro551), SEQ ID NO:321 (Pro552), SEQ ID NO:322 (Pro623), SEQ ID NO:323 (Pro624), SEQ ID NO:324 (Pro698), SEQ ID NO:325 (Pro655), SEQ ID NO:326 (Pro656), SEQ ID NO:327 (Pro657), SEQ ID NO:328 (Pro658), SEQ ID NO:329 (Pro516), SEQ ID NO:330 (Pro517), SEQ ID NO:331 (Pro518), SEQ ID NO:332 (Pro519), SEQ ID NO:333 (Pro513), SEQ ID NO:336 (Pro225), SEQ ID NO:338 (Pro817), SEQ ID NO:416 (Pro311), SEQ ID NO:417 (Pro312), SEQ ID NO:418 (Pro313), SEQ ID NO:419 (Pro246), SEQ ID NO:420 (Pro256), SEQ ID NO:421 (Pro420), SEQ ID NO:422 (Pro421), SEQ ID NO:487 (Pro751), SEQ ID NO:488 (Pro752), SEQ ID NO:489 (Pro824) и SEQ ID NO:490 (Pro826) SEQ ID NO:522 (Pro601), SEQ ID NO:523 (Pro602), SEQ ID NO:524 (V3), SEQ ID NO:525 (V4), SEQ ID NO:526 (Pro664), SEQ ID NO:527 (Pro665), SEQ ID NO:528 (Pro667), SEQ ID NO:529 (Pro694), SEQ ID NO:530 (Pro695), и SEQ ID NO:531 (Pro565).

[00459] В дополнительном аспекте в данном изобретении представлены композиции нуклеиновых кислот, содержащие первые нуклеиновые кислоты, которые кодируют первые белковые элементы пары пролекарства, и вторые нуклеиновые кислоты, которые кодируют вторые белковые элементы пар, и векторы экспрессии и клетки-хозяева, содержащие данные нуклеиновые кислоты.

Примеры

Пример 1: предварительное конструирование конструкций и их очистка

[00460] Трансфекции

[00461] Каждый белок (например, отдельные белки для форматов 1, 2 и 4) или пары конструкций (формат 3) экспрессировали из отдельного вектора экспрессии (производное pcdna3.4). Равные количества плазмидной ДНК, кодирующей пару hemi-sobга или одноцепочечные конструкции, смешивали и трансфицировали в клетки Expi293 в соответствии с протоколом трансфекции производителя. Кондиционированную среду собирали через 5 суток после трансфекции путем центрифугирования (6000 об/мин x 25') и фильтрования (фильтр 0,2 мкм). Экспрессию белка подтверждали с помощью электрофореза в ДСН-ПААГ. Конструкции очищали, и конечный буферный состав содержал: 25 мМ цитрата, 75 мМ аргинина, 75 мМ NaCl, 4% сахарозы, pH 7. Конечные препараты хранили при -80°C.

[00462] Активация MMP9

[00463] Рекombинантный человеческий (rh) MMP9 активировали в соответствии со следующим протоколом. Рекombинантный человеческий MMP-9 (R&D # 911-MP-010) имел концентрацию 0,44 мг/мл (4,7 мкМ). Готовили п-аминофенилртуть-ацетат (APMA) (Sigma) в исходной концентрации 100 мМ в ДМСО. Буфер для анализа - 50 мМ Tris, pH

7,5, 10 mM CaCl₂, 150 mM NaCl, 0,05% Brij-35.

[00464] - rhMMP9 разбавляли буфером для анализа до ~100 мкг/мл (25 мкл hMMP9+75 мкл буфера для анализа)

[00465] - п-аминофенилртуть-ацетат (APMA) из 100 mM исходного раствора добавляли в ДМСО до конечной концентрации 1 mM (1 мкл к 100 мкл).

[00466] - Инкубировали при температуре 37°C в течение 24 часов

[00467] - MMP9 разбавляли до 10 нг/мкл (добавляли 900 мкл буфера для анализа к 100 мкл активированного раствора)

[00468] Концентрация активированного rhMMP9 составляла ~100 нМ.

[00469] Расщепление конструкций для анализов ТКЗКЦ

[00470] Для расщепления конструкций к 100 мкл образца белка с концентрацией 1 мг/мл (10,5 мкМ) в буфере для приготовления состава (25 mM лимонной кислоты, 75 mM L-аргинина, 75 mM NaCl, 4% сахарозы) добавляли CaCl₂ до 10 mM. Добавляли активированный rhMMP9 до концентрации 20-35 нМ. Образец инкубировали при комнатной температуре в течение ночи (16-20 часов). Полноту расщепления проверяли с помощью ДСН-ПААГ (10-20% TG, рабочий буфер TG, 200 В, 1 час). Как правило, образцы были расщеплены на 98%.

Пример 2: анализы Т-клеточно-зависимой клеточной цитотоксичности (ТКЗКЦ)

[00471] Клетки HT-29, трансдуцированные люциферазой светлячка, выращивали до около 80% конfluence и отделяли с помощью Versene (0,48 mM EDTA в PBS - Ca - Mg). Клетки центрифугировали и ресуспендировали в среде для ТКЗКЦ (5% термоинактивированной ЭТС в RPMI 1640 с HEPES, GlutaMax, пируватом натрия, незаменимыми аминокислотами и β-меркаптоэтанолом). Очищенные пан-Т-клетки человека размораживали, центрифугировали и ресуспендировали в среде для ТКЗКЦ.

[00472] Совместную культуру клеток HT-29_Luc и Т-клеток добавляли в 384-луночные планшеты для культивирования клеток. Затем в совместную культуру добавляли последовательно разведенные COBRA и инкубировали при 37°C в течение 48 часов. Наконец, в планшеты добавляли такой же объем реагента для анализа люциферазы SteadyGlo и инкубировали в течение 20 минут. Планшеты считывали на Perkin Elmer Envision с временем экспозиции 0,1 сек/луночка. Общую люминесценцию регистрировали и данные анализировали в программе GraphPad Prism 7 или версии 8.3.1 (в зависимости от времени).

Пример 3: общий план протокола модели эффективности адоптивного переноса Т-клеток *in vivo*

[00473] Данные протоколы использовались во многих экспериментах, представленных в графических материалах.

Протокол 1:

[00474] опухолевые клетки имплантировали подкожно (п/к) в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, № по каталогу: 005557) и позволяли им расти до тех пор, пока средний объем развившейся опухоли составил

около 200 мм³. Параллельно с этим культивировали Т-клетки человека в среде для Т-клеток (X-VIVO 15 [Lonza, № по каталогу: 04-418Q], 5% сыворотки крови человека, 1% пенициллина/стрептомицина, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанола) в газопроницаемом сосуде G-Rex100M (Wilson Wolf, № по каталогу: 81100S) с гранулами MACSiBeads из набора реактивов для активации/увеличения числа Т-клеток T Cell Activation/Expansion Kit (Miltenyi, № по каталогу: 130-091-441) в течение около 10 суток и с добавлением рекомбинантного белка ИЛ-2 человека. Рост опухоли у мышей и активацию/увеличение числа Т-клеток человека синхронизировали так, что на 0-е сутки исследования мышей рандомизировали на группы (N=6) в зависимости от размера опухоли; затем каждой вводили внутривенно (в/в) по $2,5 \times 10^6$ культивированных Т-клеток человека и вводили первую дозу COBRA или контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 суток в течение 7 доз (сутки 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем наблюдали их еще 2-3 недели, пока опухоли достигли объема > 2000 мм³ или исследование было прекращено. Объемы опухолей измеряли каждые 3 суток.

[00475] Протокол 2 для модели трансплантата МКПК человека

[00476] Мышам NSG-β2M-/- (Jackson) внутривенно приживляли МКПК человека; через 3 суток после приживления мышам подкожно имплантировали линии опухолевых клеток. Как только устанавливался рост опухоли мышей рандомизировали в зависимости от объема опухоли, и тестируемые препараты вводили внутривенно, как указано. Объем опухоли определяли посредством измерения штангенциркулем. Плазму крови собирали через 4 часа после введения дозы для оценки уровней цитокинов (MesoScale Discovery) и повышения уровня печеночных ферментов.

[00477] Обратите внимание, что ключевое различие между двумя протоколами заключается в том, что Т-клетки человека вводятся одновременно с первой дозой COBRA, в то время как в протоколе 2 МКПК человека вводятся одновременно с опухолевыми клетками, а инъекции COBRA начинаются через около 10 суток.

Пример 4: активность пары Hemi-COBRA EGFR/MMP9 Pro77 и Pro53 in vivo.

[00478] 5×10^6 клеток LoVo или 5×10^6 клеток HT29 имплантировали подкожно в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, № по каталогу: 005557) и позволяли им расти до образования опухолей. Параллельно с этим культивировали Т-клетки человека в среде для Т-клеток (X-VIVO 15 [Lonza, № по каталогу: 04-418Q], 5% сыворотки крови человека, 1% пенициллина/стрептомицина, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанола) в газопроницаемом сосуде G-Rex100M (Wilson Wolf, № по каталогу: No. 81100S) с гранулами MACSiBeads из набора реактивов для активации/увеличения числа Т-клеток T Cell Activation/Expansion Kit (Miltenyi, № по каталогу: 130-091-441) в течение около 10 суток и с добавлением рекомбинантного белка ИЛ-2 человека. Рост опухоли у мышей и активацию/увеличение числа Т-клеток человека синхронизировали так, что на 0-е сутки исследования мышей рандомизировали на группы (N=6) в зависимости от размера опухоли; затем каждой вводили внутривенно (в/в) по $2,5 \times 10^6$ культивированных Т-клеток человека и вводили первую дозу COBRA или

контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 суток в течение 7 доз (сутки 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем наблюдали их до тех пор, пока опухоли достигли объема $> 2000 \text{ мм}^3$ или исследование было прекращено. Группы получали по 0,2 мг/кг (мк) положительного контрольного биспецифического антитела (bsAb) Pro51 против EGFR x CD3, 0,5 мк отрицательного контрольного bsAb Pro98 против лизоцима куриного яйца (HEL) x CD3, по 0,5 мк пары hemi-COBRA Pro77 и Pro53 против EGFR, каждая из которых содержит MMP9-расщепляемый линкер, или по 0,5 мк пары hemi-COBRA Pro74 и Pro72 против EGFR, каждая из которых содержит нерасщепляемый линкер (NCL). Объемы опухолей измеряли каждые 3 суток.

Пример 5: активность *in vivo* с COBRA Pro140 EGFR/MMP9

[00479] 5×10^6 клеток LoVo или 5×10^6 клеток HT29 имплантировали подкожно в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, № по каталогу: 005557) и позволяли им расти до образования опухолей. Параллельно с этим культивировали Т-клетки человека в среде для Т-клеток (X-VIVO 15 [Lonza, № по каталогу: 04-418Q], 5% сыворотки крови человека, 1% пенициллина/стрептомицина, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанола) в газопроницаемом сосуде G-Rex100M (Wilson Wolf, № по каталогу: No. 81100S) с гранулами MACSiBeads из набора реактивов для активации/увеличения числа Т-клеток Т Cell Activation/Expansion Kit (Miltenyi, № по каталогу: 130-091-441) в течение около 10 суток и с добавлением рекомбинантного белка ИЛ-2 человека. Рост опухоли у мышей и активацию/увеличение числа Т-клеток человека синхронизировали так, что на 0-е сутки исследования мышей рандомизировали на группы (N=6) в зависимости от размера опухоли; затем каждой вводили внутривенно (в/в) по $2,5 \times 10^6$ культивированных Т-клеток человека и вводили первую дозу COBRA или контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 суток в течение 7 доз (сутки 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем наблюдали их до тех пор, пока опухоли достигли объема $> 2000 \text{ мм}^3$ или исследование было прекращено. Группы получали по 0,2 мк положительного контрольного биспецифического антитела (bsAb) Pro51 против EGFR x CD3, 0,5 мк отрицательного контрольного bsAb Pro98 против лизоцима куриного яйца (HEL) x CD3 или по 0,5 мк COBRA Pro140 против EGFR, содержащей MMP9-расщепляемый линкер. Объемы опухолей измеряли каждые 3 суток.

Пример 6: Активность *in vivo* с COBRA Pro186 EGFR/MMP9

[00480] 5×10^6 клеток HT29 имплантировали подкожно в правый бок мышей NSG (NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ) (The Jackson Laboratory, № по каталогу: 005557) и позволяли им расти до образования опухолей. Параллельно с этим культивировали Т-клетки человека в среде для Т-клеток (X-VIVO 15 [Lonza, № по каталогу: 04-418Q], 5% сыворотки крови человека, 1% пенициллина/стрептомицина, 0,01 мМ 2-меркаптоэтанола) в газопроницаемом сосуде G-Rex100M (Wilson Wolf, № по каталогу: No. 81100S) с гранулами MACSiBeads из набора реактивов для активации/увеличения числа Т-клеток Т Cell Activation/Expansion Kit (Miltenyi, № по каталогу: 130-091-441) в течение около 10 суток и с добавлением рекомбинантного белка ИЛ-2 человека. Рост опухоли у мышей и

активацию/увеличение числа Т-клеток человека синхронизировали так, что на 0-е сутки исследования мышей рандомизировали на группы (N=6) в зависимости от размера опухоли; затем каждой вводили внутривенно (в/в) по $2,5 \times 10^6$ культивированных Т-клеток человека и вводили первую дозу COBRA или контрольных молекул. Мышам вводили дозу каждые 3 суток в течение 7 доз (сутки 0, 3, 6, 9, 12, 15 и 18), а затем наблюдали их до тех пор, пока опухоли достигли объема $> 2000 \text{ мм}^3$ или исследование было прекращено. Группы получали по 0,1 мг/кг (мк) положительного контрольного биспецифического антитела (bsAb) Pro51 против EGFR x CD3, 0,3 мк контрольной COBRA Pro214 против EGFR, содержащей нерасщепляемый линкер (NCL), 0,1 или 0,3 мк COBRA Pro140 против EGFR, содержащей MMP9-расщепляемый линкер, или 0,1 или 0,3 мк COBRA Pro186 против EGFR, содержащей MMP9-расщепляемый линкер. Объемы опухолей измеряли каждые 3 суток.

Пример 7А: успешная гуманизация последовательностей против EGFR

[00481] Результаты представлены ниже.

Молекула	KD (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

[00482] Данные результаты показывают как то, что гуманизация EGFR-связывающих доменов была успешной, так и то, что существует сильная avidность к целевому EGFR, когда на молекуле находятся два сайта связывания.

Пример 7В: успешная гуманизация EpCAM sdABD

[00483] Результаты представлены ниже.

Клон	Аффинность связывания у человека (нМ)	Аффинность связывания у яванской макаки (нМ)	Перекрестная реактивность человек/ яванская макака
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

[00484] Данные результаты показывают, что гуманизация EpCAM-связывающих доменов была успешной.

Пример 8: COBRA™ - новое кондиционально активное биспецифическое антитело,

которое вызывает регресс развившихся солидных опухолей у мышей - моноспецифические и гетероспецифические COBRA

[00485] Несмотря на клинический успех применения биспецифических антител (bsAb), нацеленных на гематологические злокачественные новообразования (например, блинатумомаб, bsAb CD19xCD3), эффективность при показаниях к солидным опухолям остается серьезной проблемой. Поскольку bsAb, перенаправляющие Т-клетки, настолько активны, даже очень низкие уровни экспрессии целевого антигена на клеточной поверхности в нормальных тканях могут быстро стать проблемой безопасности и серьезно ограничить уровни доз, которые могут быть достигнуты у пациентов. Это ограничивает вероятность достижения эффективных концентраций и снижает терапевтический потенциал этих высокоактивных молекул. В дополнение к этому, идентификация «чистых» целевых антигенов, которые однозначно экспрессируются в опухоли, а не в нормальных тканях, в лучшем случае была очень сложной.

[00486] Чтобы преодолеть эти проблемы, авторы данного изобретения разработали новую рекомбинантную платформу bsAb под названием COBRA™ (кондициональная биспецифическая перенаправляемая активация). COBRA разработаны для обеспечения нацеливания на более широко экспрессируемые и подтвержденные поверхностные антигены опухолевых клеток путем фокусирования вовлечения Т-клеток в микроокружении опухоли. Молекулы COBRA предназначены для связывания с целевым антигеном, который может экспрессироваться как на опухолевых, так и на нормальных клетках, но не вовлекает Т-клетки, если они не подвергаются воздействию протеолитического микроокружения, которое часто встречается в опухолях, но не в нормальных, здоровых тканях. После связывания с целевым опухолевым антигеном протеазо-зависимое расщепление линкера позволяет COBRA преобразовать неактивный scFv против CD3 в активный связывающий домен scFv против CD3. После превращения COBRA затем способны одновременно взаимодействовать с Т-клетками и целевым антигеном, что приводит к активному цитолитическому Т-клеточному ответу против опухолевых клеток. В дополнение к этому, COBRA разработаны с фрагментом продления периода полужизни, который удаляется из активной молекулы при протеолитическом расщеплении. Это обеспечивает устойчивое присутствие неактивной COBRA в циркуляции до связывания с целевой опухолевой молекулой и более быстрый клиренс несвязанных активных молекул COBRA, тем самым уменьшая потенциальную цитотоксическую активность в нормальных тканях.

[00487] В данном документе авторы данного изобретения описали новую конструкцию молекулы COBRA и продемонстрировали ее способность взаимодействовать с CD3 и рецептором эпидермального фактора роста (EGFR), вызывая мощную цитотоксическую активность в культуре Т-клеток и у мышей с опухолями с имплантированными Т-клетками человека. Авторы данного изобретения сообщали об активации Т-клеток и цитотоксичности *in vitro* в условиях от низкокмолярной до субпиколярной концентрации, а также о зависящем от расщепления линкера COBRA Т-

клеточно-опосредованном регрессе развившихся ксенотрансплантатов солидной опухоли у мышей *in vivo*.

[00488] На фиг. 11A-11C проиллюстрирована схема конструкции COBRA и спрогнозированный механизм фолдинга. На фиг. 11A представлено схематическое изображение PRO186 COBRA. На фиг. 11B представлен спрогнозированный механизм фолдинга COBRA. COBRA включает неактивные VH и VL в паре с доменами VH и VL против CD3. Нерасщепленная COBRA PRO186 связывает EGFR, имеет нарушенное связывание CD3 и связывает сывороточный альбумин. На фиг. 11C показана аналитическая хроматограмма исключения по размеру для PRO186. Данные показывают, что нерасщепленный PRO186 складывается в единую структуру.

[00489] На фиг. 11A - фиг. 11D проиллюстрирована схема конструкции COBRA и спрогнозированный механизм фолдинга, со спрогнозированной структурой нерасщепленной молекулы слева, которая все еще связывает опухолевый антиген (EGFR, в случае MVC-101), имеет нарушенное связывание CD3 и связывает альбумин сыворотки крови человека. В середине показаны прогнозируемые продукты расщепления, а слева показан активный димер.

[00490] На фиг. 12A - фиг. 12Q представлены дополнительные последовательности некоторых COBRA согласно данному изобретению.

[00491] На фиг. 13 показано, что конструкции формата 2 согласно данному изобретению после расщепления и димеризации быстро выводятся из организма мышей, которым они вводились посредством инъекции.

[00492] На фиг. 14 представлена кинетика связывания Pro225.

[00493] На фиг. 15A и 15B показано, что конструкции формата 2, в данном случае - Pro225, вызывают регресс развившихся солидных опухолей у мышей.

[00494] На фиг. 16A и 16B показано, что конструкции формата 2 согласно данному изобретению, в данном случае - Pro225, демонстрируют повышенную переносимость по сравнению с изначально активными агентами, вовлекающими Т-клетки. На фиг. 16C и 16D показано, что воздействие конструкцией Pro225 приводит к более низкому высвобождению цитокинов у мышей по сравнению с изначально активной биспецифической конструкцией. Pro 225 не индуцирует ИЛ-2, ФНО-а и ИЛ-10 у приматов, отличных от человека, и ИЛ-6 у мышей по сравнению с изначально активными агентами, вовлекающими Т-клетки.

[00495] На фиг. 17 показана эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе Т-клеточно-зависимой клеточной цитотоксичности (ТКЗКЦ), как описано в примере 2. Pro233 представляет собой конструкцию aEGFR с сайтом расщепления MMP9; Pro565 представляет собой конструкцию aEpcAM (h664) с сайтом расщепления MMP9; Pro566 представляет собой конструкцию aEpcAM (h665) с сайтом расщепления MMP9; Pro623 представляет собой heteroCOBRA из aEGFR и aEpcAM (h664) с сайтом MMP9; и Pro624 представляет собой heteroCOBRA из aEGFR и aEpcAM (h665) с сайтом MMP9.

[00496] На фиг. 18 показана эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2. Pro233 представляет собой конструкцию aEGFR с сайтом расщепления MMP9; Pro311 представляет собой конструкцию aFOLR1 с сайтом расщепления MMP9; и Pro421 представляет собой heteroCOBRA из aEGFR и aFOLR1 с сайтом MMP9.

[00497] На фиг. 19 показана эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2. Pro225 представляет собой конструкцию aB7H3 с сайтом расщепления MMP9; Pro566 представляет собой конструкцию aErCAM с сайтом расщепления MMP9; Pro656 представляет собой heteroCOBRA из aB7H3 и aErCAM с сайтом MMP9; и Pro658 представляет собой heteroCOBRA из aErCAM и aB7H3 с сайтом MMP9.

[00498] На фиг. 20 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на двух разных клеточных линиях. Pro225 представляет собой конструкцию aB7H3 с сайтом расщепления MMP9; Pro566 представляет собой конструкцию aErCAM с сайтом расщепления MMP9; и Pro656 представляет собой heteroCOBRA из aB7H3 и aErCAM с сайтом MMP9. HT29 представляет собой эпителиальную клеточную линию, которая, в отличие от клеточных линий Raji, образует качественные ксенотрансплантаты у мышей. HT29 экспрессирует оба целевых гена (B7H3 и ErCAM), и в данном случае экспрессия B7H3 была отключена посредством нокаута с помощью CRISPR. Следовательно, heteroCOBRA и однонацеленная COBRA ErCAM уничтожили оба, в то время как однонацеленная COBRA B7H3 этого не осуществила.

[00499] На фиг. 21 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на клеточной линии HT29, которая имеет высокую экспрессию ErCAM и низкую экспрессию Trop2. Pro824 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 (с линкером MMP9). Pro825 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro826 представляет собой HeteroCOBRA aTrop2 X aErCAM с линкером MMP9. Pro827 представляет собой HeteroCOBRA aTrop2 X aErCAM с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro677 представляет собой COBRA aTrop2/MMP9 и Pro566 представляет собой COBRA aErCAM/MMP9. Поскольку уровни двух антигенов различаются, heteroCOBRA поддерживают высокий уровень уничтожения, в то время как уничтожение моноспецифическими COBRA варьирует. Моноспецифические COBRA не уничтожают так же хорошо, когда уровень экспрессии их специфического антигена падает (в данном случае - Trop2); это же верно для фиг. 22 и 23.

[00500] На фиг. 22 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на клеточной линии HT116, которая имеет высокую экспрессию ErCAM и очень низкую экспрессию Trop2. Pro824 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 (с линкером MMP9). Pro825 представляет собой heteroCOBRA aErCAM X aTrop2 с NCL (нерасщепляемый

контроль). Pro826 представляет собой HeteroCOBRA aTrop2 X aEpCAM с линкером MMP9. Pro827 представляет собой HeteroCOBRA aTrop2 X aEpCAM с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro677 представляет собой COBRA aTrop2/MMP9 и Pro566 представляет собой COBRA aEpCAM/MMP9.

[00501] На фиг. 23 представлена эффективность ряда конструкций формата 2 согласно данному изобретению в анализе ТКЗКЦ, как описано в примере 2, на клеточной линии VxPC3, которая имеет среднюю экспрессию EpCAM и высокую экспрессию Trop2. Pro824 представляет собой heteroCOBRA aEpCAM X aTrop2 (с линкером MMP9). Pro825 представляет собой heteroCOBRA aEpCAM X aTrop2 с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro826 представляет собой HeteroCOBRA aTrop2 X aEpCAM с линкером MMP9. Pro827 представляет собой HeteroCOBRA aTrop2 X aEpCAM с NCL (нерасщепляемый контроль). Pro677 представляет собой COBRA aTrop2/MMP9 и Pro566 представляет собой COBRA aEpCAM/MMP9.

[00502] На фиг. 24 показана эффективность *in vivo* для COBRA aEpCAM с сайтом расщепления MMP9 при использовании протокола 2 из примера 3. Pro566 проявил эффективность на опухолях LoVo, а также на опухолевых ксенотрансплантатах HT29, VxPC3 и SW403.

[00503] На фиг. 25 показана эффективность *in vivo* для COBRA aTrop2 с сайтом расщепления MMP9 при использовании протокола 2 из примера 3. Pro677 проявил эффективность на опухолях VxPC3, а также на опухолевых ксенотрансплантатах HCC827.

[00504] На фиг. 26 показана эффективность *in vivo* для COBRA aV7H3 с сайтом расщепления MMP9 при использовании протокола 3 из примера 3. Pro225 проявил эффективность на опухолях A549.

[00505] Выводы: авторы данного изобретения разработали мультивалентное слитое sdAb-диатело, которое после протеолитического воздействия превращается в высокоактивный биспецифически направленный Т-клеточный терапевтический агент. Анализ *in vitro* продемонстрировал, что протеазо-зависимое расщепление линкера увеличивает активность Т-клеточно-опосредованного уничтожения в 200 раз, приводя к получению терапевтического агента с субпиколярной активностью. Введение PRO186 (Pro186) мышам с развившимися ксенотрансплантатами привело к зависящему от расщепления протеазой Т-клеточно-опосредованному регрессу опухоли, на множественных моделях опухолей. PRO186 проявлял: (1) увеличенный период полужизни *in vivo* после введения и (2) быстрый клиренс после протеолитической активации, тем самым демонстрируя, что PRO186 является терапевтическим агентом с улучшенным профилем безопасности по сравнению с обычными биспецифическими агентами, перенаправленными на Т-клетки.

Пример 9: моноспецифические COBRA против HER2 кондиционально уничтожают опухолевые клеточные линии в экспериментах ТКЗКЦ

[00506] На клетках HER2-Raji человека, клетках HER2-Raji яванской макаки, клетках SKOV3 (клетки с низкой экспрессией HER2), родительских клетках Raji, клетках

HT29 (клетки с высокой экспрессией HER2) тестировали различные слитые белки: Pro1123 NCL, Pro1117 MMP9, Pro 1117 MMP9cl, Pro1060 Pro51 и Pro1069 AD (фиг. 27A-27E); Pro1110 NCL, Pro1109 MMP9, Pro 1109 MMP9cl, Pro 1062 Pro51 и Pro1071 AD (фиг. 28A-28E); Pro1112 NCL, Pro1111 MMP9, Pro 1111 MMP9cl, Pro1064 Pro51 и Pro1073 AD (фиг. 29A-29E); Pro1124 NCL, Pro1118 MMP9, Pro 1118 MMP9cl, Pro1061 Pro51 и Pro1069 AD (фиг. 30A-30E). Данные результаты демонстрируют, что моноспецифические COBRA, содержащие sdABD aHER2 (aHer2 h1139, h1159, h1162 и h1156), проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии кондиционально в экспериментах по ТКЗКЦ.

[00507] Слитые белки aHER2 в формате Pro51 и содержащие один sdABD aHER2, такие как VIB1139 HER2 sdABD, VIB1156 HER2 sdABD, VIB1159 HER2 sdABD или VIB1162 HER2 sdABD, продемонстрировали хорошую активность против человека и перекрестную реактивность с яванской макакой в экспериментах по ТКЗКЦ (фиг. 31A-31C). В качестве дополнения, моноспецифические COBRA aHER2 формата 2, содержащие MMP9-расщепляемый линкер (COBRA HER2/MMP9), проявили способность вызывать регресс развившихся опухолевых ксенотрансплантатов (фиг. 32), в частности, мышам вводили Pro1118 в дозе 100 мкг/кг. На фиг. 33 представлен график, показывающий данные ФК для моноспецифической COBRA HER2, содержащей MMP9-расщепляемый линкер, у мыши. Данные результаты показывают, что активность Pro1111 согласуется со связыванием HER2 у мыши.

[00508] Эксперименты по биннингу эпитопов различных sdAb HER2 выполняли так, как понятно специалистам в данной области техники. Конкурирующие антитела при 100 нМ тестировали с насыщающими антителами при 333 нМ. Тестируемые конкурирующие антитела были следующими: Pro1118, Pro1111, трастузумаб и пертузумаб. Тестируемые насыщающие антитела были следующими: VIB1121 HER2 sdABD, VIB1139 HER2 sdABD, VIB1058 HER2 sdABD, VIB1097 HER2 sdABD, трастузумаб, VIB1156 HER2 sdABD, VIB1160 HER2 sdABD, VIB1159 HER2 sdABD и VIB1162 HER2 sdABD (фиг. 34).

[00509] Эксперименты по биннингу эпитопов различных sdAb HER2 выполняли так, как понятно специалистам в данной области техники. Конкурирующие антитела при 100 нМ тестировали с насыщающими антителами при 333 нМ. Тестируемые антитела были следующими: Pro1118, Pro1111, трастузумаб и пертузумаб. «B» обозначает связывание конкурирующего антитела, а «NB» обозначает отсутствие связывания конкурирующего антитела (фиг. 35).

[00510] Аминокислотные местоположения и последовательности из анализа по картированию эпитопов HER2 sdAb h1156 (Pro1061) и HER2 sdAb h1162 (Pro1064) идентифицировали с помощью HDX (водород-дейтериевый обмен), выполненного так, как понимают специалисты в данной области техники (фиг. 36).

[00511] Определяли аффинности связывания sdAb HER2 в формате Pro51. Различные комбинации sdAb и слитых белков исследовали с целевыми молекулами от человека, яванской макаки и мыши. Комбинации были следующими: 1055 и Pro1036; 1058

и Pro1037; 1059 и Pro1038; 1091 и Pro1039; 1092 и Pro1040; 1097 и Pro1041; 1121 и Pro1042; 1139 и Pro1043; 1156 и Pro1044; 1159 и Pro1045; 1160 и Pro1046; 1162 и Pro1047; h1058 и Pro1056; h1092 и Pro1057; h1097 и Pro1058; h1121 и Pro1059; h1139 и Pro1060; h1156 и Pro1061; h1159 и Pro1062; h1160 и Pro1063; и h1162 и Pro1064 (фиг. 37).

Пример 10: моноспецифические COBRA против CA9 кондиционально уничтожают опухолевые клеточные линии в экспериментах ТКЗКЦ

[00512] На клетках CA9-Raji человека, клетках CA9-Raji яванской макаки и родительских клетках HT29 тестировали различные слитые белки: Pro514 NCL, Pro518 MMP9, Pro518 MMP9cl, Pro511 Pro51 и Pro521 AD (фиг. 38A-38C). Моноспецифические COBRA, нацеленные на CA9, такие как те, которые содержат aCA9 sdABD (aCA9 h407), проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки, кондиционально.

[00513] На клетках Raji-CA9 человека, клетках Raji-CA9 яванской макаки и родительских клетках HT29 тестировали различные слитые белки: Pro515 NCL, Pro519 MMP9, Pro519 MMP9cl и Pro512 Pro51. Моноспецифические COBRA, нацеленные на CA9, такие как те, которые содержат aCA9 sdABD (aCA9 h445), проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки, кондиционально (фиг. 39A-39C).

[00514] На клетках Raji-CA9 человека, клетках Raji-CA9 яванской макаки и родительских клетках HT29 тестировали различные слитые белки: Pro1095 NCL, Pro516 MMP9, Pro516 MMP9cl и Pro509 Pro51. Моноспецифические COBRA, нацеленные на CA9, такие как те, которые содержат aCA9 sdABD (aCA9 h456), проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки, кондиционально (фиг. 40A-40C).

[00515] На клетках Raji-CA9 человека, клетках Raji-CA9 яванской макаки и родительских клетках HT29 тестировали различные слитые белки: Pro513 NCL, Pro517 MMP9, Pro517 MMP9cl, Pro520 AD и Pro510 Pro51. Моноспецифические COBRA, нацеленные на CA9, такие как те, которые содержат aCA9 sdABD (aCA9 h4), проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие CA9 человека или яванской макаки, кондиционально (фиг. 41A-41C).

[00516] Фиг. 42 представляет собой таблицу, в которой представлены аффинности связывания CA9 sdAb формата Pro51. Различные sdAb, комбинации sdAb и слитые белки исследовали у человека, яванской макаки и мыши. sdAb были следующими: 407, 445, 456, 472 и 476, а комбинации были следующими: h445 и Pro512; h456 и Pro509; и h476 и Pro510.

[00517] Моноспецифические COBRA CA9 формата 2 и содержащие MMP9-расщепляемый линкер (COBRA CA9/MMP9) проявили способность вызывать регресс прижившихся опухолевых ксенотрансплантатов. Фиг. 43A-43B представляют собой серию графиков, демонстрирующих, что COBRA CA9/MMP9 вызывают регресс в моделях прижившихся опухолевых ксенотрансплантатов. Опухоль SNU-16 в присутствии Pro513,

Pro517 и Pro518, все в дозе 300 мкг/кг. Опухоль 786-О в присутствии Pro513 и Pro517, все в дозе 100 мкг/кг. Фиг. 44 представляет собой график, на котором показаны ФК-данные для COBRA CA9/MMP9 у мыши, которые согласуются со связыванием Pro516 с целевой молекулой мыши. Pro517 и Pro516 применяли в дозе 100 мкг/кг.

Пример 11: Hetero-COBRA EGFR/EpCAM индуцировали ТКЗКЦ клеток, экспрессирующих EGFR и EpCAM

[00518] На родительских клетках Raji (фиг. 45A), клетках Raji-EGFR (фиг. 45B), клетках Raji-EpCAM (фиг. 45C) и клетках Raji-EGFR/EpCAM (фиг. 45D) тестировали моноспецифические COBRA: Pro233 (EGFR/EGFR) и Pro566 (EpCAM/EpCAM), и heteroCOBRA Pro624 (EGFR/EpCAM) и Pro698 (EpCAM/EGFR). Данные результаты демонстрируют, что гетероспецифические COBRA, нацеленные как на EGFR, так и на EpCAM, индуцировали ТКЗКЦ клеток Raji, экспрессирующих один или оба антигена (например, либо только EGFR, только EpCAM, либо как EGFR, так и EpCAM).

[00519] Pro624 содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-EGFR)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-EpCAM)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). Pro698 содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-EpCAM)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-EGFR)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). HeteroCOBRA EGFR/EpCAM также проявили способность индуцировать ТКЗКЦ HT29 клеток, экспрессирующих один или оба антигена.

[00520] HeteroCOBRA EGFR/EpCAM, содержащие aEGFR sdABD (aEGFR hD12) и aEpCAM sdABD (aEpCAM h644), тестировали с Pro623 MMP9, расщепленным Pro623, Pro625 NCL (фиг. 46A). Pro623 содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-EGFR)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-EpCAM)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA).

[00521] HeteroCOBRA EGFR/EpCAM, содержащие aEGFR sdABD (aEGFR hD12) и aEpCAM sdABD (aEpCAM h665), тестировали с Pro698 MMP9, расщепленным Pro698, 699 NCL (фиг. 46B). Pro699 содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-EpCAM)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-EGFR)-NCL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). HeteroCOBRA EGFR/EpCAM, содержащие aEGFR sdABD (aEGFR hD12) и aEpCAM sdABD (aEpCAM h665), тестировали с Pro624 MMP9, расщепленным Pro624, Pro699 NCL (фиг. 46C). HeteroCOBRA EGFR/EpCAM проявили способность индуцировать ТКЗКЦ различных клеток, экспрессирующих один или оба антигена.

Пример 12: HeteroCOBRA EGFR/FOLR1 индуцировали ТКЗКЦ клеток, экспрессирующих EGFR и FOLR1

[00522] На клетках EGFR (фиг. 47A), клетках Raji-FOLR1 (фиг. 47B), клетках Raji-EGFR/FOLR1 (фиг. 47C) тестировали моноспецифические COBRA, нацеленные либо на EGFR, либо на FOLR1: Pro233 (EGFR/EGFR) и Pro311 (FOLR1/ FOLR1), и heteroCOBRA, нацеленные как на EGFR, так и на FOLR1: Pro421 (EGFR/FOLR1) и Pro420

(FOLR1/EGFR). Pro421 содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-EGFR)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-FOLR1)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). Pro420 содержит, от N-конца к C-концу: (sdABD-FOLR1)-доменный линкер-aVH-CNCL-aVL-доменный линкер-(sdABD-EGFR)-CL-iVL-CNCL-iVH-доменный линкер-(sdABD-HSA). Результаты данных экспериментов демонстрируют, что heteroCOBRA EGFR/FOLR1 (такие как Pro421) индуцировали ТКЗКЦ клеток Raji, экспрессирующих один или оба антигена.

[00523] Фиг. 48А: на клетках H292 тестировали Pro214 NCL (EGFR hD12), Pro186 MMP9 (EGFR hD12) и Pro186 MMP9cl (EGFR hD12). Фиг. 48В: на клетках H292 тестировали Pro303 NCL (FOLR1 h59-3), Pro312 MMP9 (FOLR1 h59-3) и Pro312 MMP9cl (FOLR1 h59-3). Фиг. 48С: на клетках H292 тестировали Pro550 NCL (EGFR/FOLR1 h59-3), Pro551 MMP9 (EGFR/FOLR1 h59-3) и Pro551 MMP9cl(EGFR/ FOLR1 h59-3). Результаты данных экспериментов демонстрируют, что aFOLR1(h59-3)/aEGFR (D12) проявила способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие FOLR1 и EGFR, кондиционально.

[00524] Фиг. 49А: на клетках H292 тестировали Pro600 NCL EGFR/EGFR, Pro233 MMP9 EGFR/EGFR, and Pro233 MMP9cl EGFR/EGFR. Фиг. 49В: на клетках H292 тестировали Pro299 NCL FOLR1/ FOLR1, Pro311 MMP9 FOLR1/FOLR1 и Pro311 MMP9cl FOLR1/FOLR1. Фиг. 49С: на клетках H292 тестировали Pro420 MMP9 FOLR1/EGFR и Pro420 MMP9cl FOLR1/EGFR. Фиг. 49D: на клетках H292 тестировали Pro421 MMP9 EGFR/FOLR1 и Pro421 MMP9cl EGFR/FOLR1. Результаты данных экспериментов демонстрируют, что aFOLR1 (h77-2 или h57-3)/aEGFR (hD12) проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие как FOLR1, так и EGFR, кондиционально.

[00525] Исследовали аффинности HeteroCOBRA EGFR/FOLR1 по сравнению с молекулами формата Pro51, и их показатели перечислены на фиг. 50.

Пример 13: HeteroCOBRA Trop2/ErCAM индуцировала ТКЗКЦ клеток, экспрессирующих Trop2 и ErCAM

[00526] На клетках Raji-Trop2 (фиг. 51А), клетках Raji-ErCAM (фиг. 51В), клетках SKOV3 (фиг. 51С) и клетках HT29 (фиг. 51D) тестировали Pro566 и Pro566cl. Данные эксперименты демонстрируют, что Pro566 aErCAM (h664) проявила способность уничтожить клетки Raji, трансфицированные для экспрессии ErCAM, и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие ErCAM, кондиционально.

[00527] На клетках Raji-Trop2 (фиг. 52А), клетках Raji-ErCAM (фиг. 52В), клетках SKOV3 (фиг. 52С) и клетках HT29 (фиг. 52D) тестировали Pro677 и расщепленный Pro677 (Pro677cl). Данные эксперименты демонстрируют, что Pro677 (aTrop2 h557) проявила способность уничтожить клетки Raji, трансфицированные для экспрессии Trop2, и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие Trop2, кондиционально.

[00528] На клетках Raji-Trop2 (фиг. 53А), клетках Raji-ErCAM (фиг. 53В), клетках SKOV3 (фиг. 53С) и клетках HT29 (фиг. 53D) тестировали Pro824 и расщепленный Pro824

(Pro824cl). Данные эксперименты демонстрируют, что Pro824 (aEpCAM h664/aTrop2 h557) проявила способность уничтожить Raji, трансфицированные для экспрессии либо EpCAM, либо Trop2, и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие EpCAM и Trop2, кондиционально.

[00529] На клетках Raji-Trop2 (фиг. 54A), клетках Raji-EpCAM (фиг. 54B), клетках SKOV3 (фиг. 54C) и клетках HT29 (фиг. 54D) тестировали Pro826 и расщепленный Pro826 (Pro826cl). Данные эксперименты демонстрируют, что Pro826 (aTROP2 h557/aEpCAM h664) проявила способность уничтожить Raji, трансфицированные для экспрессии либо Trop2, либо EpCAM, и опухолевые клеточные линии, экспрессирующие как Trop2, так и EpCAM, кондиционально.

[00530] Фиг. 55A: на клетках ВХРС3 (клеточная линия рака поджелудочной железы человека) тестировали Pro569, Pro566 и Pro566cl. Фиг. 55B: на клетках ВХРС3 тестировали Pro681, Pro677 и Pro677cl. Фиг. 55C: на клетках ВХРС3 тестировали Pro825, Pro824 и Pro824cl. Фиг. 55D: на клетках ВХРС3 тестировали Pro827, Pro826 и Pro826cl. Данные эксперименты демонстрируют, что моноспецифические COBRA EpCAM, моноспецифические COBRA Trop2 и гетероспецифические COBRA Trop2/EpCAM все активно и кондиционально уничтожают клетки ВХРС3.

[00531] Фиг. 56A: на клетках НСТ116 (клеточная линия рака толстой кишки человека) тестировали Pro569, Pro566 и Pro566cl. Фиг. 56B: на клетках НСТ116 тестировали Pro681 NCL, Pro677 MMP9 и Pro677MMP9cl. Фиг. 56C: на клетках НСТ116 тестировали Pro825, Pro824 и Pro824cl. Фиг. 56D: на клетках НСТ116 тестировали Pro827, Pro826 и Pro826cl. Данные эксперименты демонстрируют, что моноспецифические COBRA EpCAM, моноспецифические COBRA Trop2 и гетероспецифические COBRA Trop2/EpCAM все активно и кондиционально уничтожают клетки НСТ116.

[00532] Фиг. 57A: на клетках SCC25 (клеточная линия плоскоклеточной карциномы человека) тестировали Pro569, Pro566 и Pro566cl. Фиг. 57B: на клетках SCC25 тестировали Pro681, Pro677 и Pro677cl. Фиг. 57C: на клетках SCC25 тестировали Pro825, Pro824 и Pro824cl. Фиг. 57D: на клетках SCC25 тестировали Pro827, Pro826 и Pro826cl. Данные эксперименты демонстрируют, что моноспецифические COBRA EpCAM, моноспецифические COBRA Trop2 и гетероспецифические COBRA Trop2/EpCAM все активно и кондиционально уничтожают клетки SCC25.

Пример 14: HeteroCOBRA B7H3/EpCAM индуцировали ТКЗКЦ клеток, экспрессирующих B7H3 и EpCAM

[00533] Было показано, что heteroCOBRA B7H3/EpCAM индуцируют ТКЗКЦ клеток, экспрессирующих один или оба антигена. На родительских клетках Raji (фиг. 58A), клетках Raji-B7H3 (фиг. 58B), клетках Raji-EpCAM (фиг. 58C) и клетках Raji-B7H3/EpCAM (фиг. 58D) тестировали моноспецифические COBRA: Pro225 (B7H3/B7H3 и Pro566 (EpCAM/EpCAM), и heteroCOBRA Pro656 (B7H3/EGFR) и Pro658 (EpCAM/B7H3).

[00534] Эксперименты выполняли на линиях с CRISPR-нокаутом: на клетках HT29 (фиг. 59A), клетках HT29-B7H3 КО (фиг. 59B), клетках HT29-EpCAM КО (фиг. 59C) и

клетках HT29-B7H3/EpCAM KO (фиг. 59D) тестировали моноспецифические COBRA (Pro225 B7H3/B7H3 и Pro566 EpCAM/EpCAM) и hetero-COBRA (Pro656 B7H3/EpCAM). Все COBRA предварительно расщепляли.

[00535] Фиг. 60А: на клетках IGROV тестировали Pro295 NCL (B7H3 hF7), Pro225 MMP9 (B7H3 hF7) и Pro225 MMP9cl (B7H3 hF7). Фиг. 60В: на клетках IGROV тестировали Pro568 NCL (EpCAM h664), Pro565 MMP9 (EpCAM h664) и Pro565 MMP9cl (EpCAM h664). Фиг. 60С: на клетках IGROV тестировали Pro659 NCL (B7H3 hF7/EpCAM h664), Pro655 MMP9 (B7H3 hF7/EpCAM h664) и Pro655 MMP9cl (B7H3 hF7/EpCAM h664). Фиг. 60D: на клетках IGROV тестировали Pro661 NCL (EpCAM h664/B7H3 hF7), Pro657 MMP9 (EpCAM h664/B7H3 hF7) Pro657 MMP9cl (EpCAM h664/B7H3 hF7). Полученные результаты демонстрируют, что heteroCOBRA aEpCAM (aEpCAM h664)/aB7H3 (aB7H3 hF7) проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие как EpCAM, так и B7H3, кондиционально.

[00536] Фиг. 61А: на клетках IGROV тестировали Pro295 NCL (B7H3 hF7), Pro225 MMP9 (B7H3 hF7) и Pro225 MMP9cl (B7H3 hF7). Фиг. 61В: на клетках IGROV тестировали Pro569 NCL (EpCAM h665), Pro566 MMP9 (EpCAM h665) и Pro566 MMP9cl (EpCAM h665). Фиг. 61С: на клетках IGROV тестировали Pro660 NCL (B7H3/EpCAM h665), Pro656 MMP9 (B7H3/EpCAM h665) и Pro656 MMP9cl (B7H3/EpCAM h665). Фиг. 61D: на клетках IGROV тестировали Pro662 NCL (EpCAM h665/B7H3), Pro658 MMP9 (EpCAM h665/B7H3) и Pro658 (EpCAM h665/B7H3). Полученные результаты демонстрируют, что aEpCAM (aEpCAM h665)/aB7H3 (aB7H3 hF7) проявила способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие как EpCAM, так и B7H3, кондиционально.

[00537] Фиг. 62А: на клетках H292 тестировали Pro295 NCL (B7H3 hF7), Pro225 MMP9 (B7H3 hF7) и Pro225 MMP9cl (B7H3 hF7). Фиг. 62В: на клетках H292 тестировали Pro568 NCL (EpCAM h664), Pro565 MMP9 (EpCAM h664) и Pro565 MMP9cl (EpCAM h664). Фиг. 62С: На клетках H292 тестировали Pro659 NCL (B7H3/EpCAM h664), Pro655 MMP9 (B7H3/EpCAM h664) и Pro655 MMP9cl (B7H3/EpCAM h664). Фиг. 62D: на клетках H292 тестировали Pro661 NCL (EpCAM h664/B7H3), Pro657 MMP9 (EpCAM h664/B7H3) и Pro657 MMP9cl (EpCAM h664/B7H3). Полученные результаты демонстрируют, что heteroCOBRA aEpCAM (aEpCAM h664)/aB7H3 (aB7H3 hF7) проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие как EpCAM, так и B7H3, кондиционально.

[00538] На клетках H292 тестировали Pro295 NCL (B7H3 hF7), Pro225 MMP9 (B7H3 hF7) и Pro225 MMP9cl (B7H3 hF7) (фиг. 63А); Pro569 NCL (EpCAM h665), Pro566 MMP9 (EpCAM h665) и Pro566 MMP9cl (EpCAM h665) (фиг. 63В); Pro660 NCL (B7H3/EpCAM h665), Pro656 MMP9 (B7H3/EpCAM h665) и Pro656 MMP9cl (B7H3/EpCAM h665) (фиг. 63С); и Pro662 NCL (EpCAM h665/B7H3), Pro658 MMP9 (EpCAM h665/B7H3) и Pro658 MMP9cl (EpCAM h665/B7H3) (фиг. 63D). Полученные результаты демонстрируют, что heteroCOBRA aEpCAM (aEpCAM h665)/aB7H3 (aB7H3

hF7) проявили способность уничтожить опухолевые клеточные линии, экспрессирующие как EpCAM, так и V7H3, кондиционально.

[00539] На клетках HT29 (фиг. 64A), клетках U87-MG (EpCAM-отрицательные) (фиг. 64B), клетках Саран2 (фиг. 64C) и клетках VCAP (фиг. 64D) тестировали моноспецифические COBRA: Pro225 (V7H3/V7H3 и Pro566 (EpCAM/EpCAM), и heteroCOBRA Pro656 (V7H3/EpCAM и Pro658 EpCAM/V7H3), чтобы продемонстрировать эффект ТКЗКЦ на опухолевых клеточных линиях.

[00540] Активацию Т-клеток в присутствии клеток HT29 выявляли с использованием стандартных люциферазных анализов клеток Jurkat, известных специалистам в данной области техники. На клетках HT29 тестировали моноспецифические COBRA: Pro225 (V7H3/V7H3) и Pro566(EpCAM/EpCAM), и heteroCOBRA: Pro656 (V7H3/EpCAM) и Pro658 (EpCAM/V7H3) (фиг. 65).

[00541] Было показано, что активность heteroCOBRA в анализе активации Jurkat менее чувствительна к ингибированию растворимым антигеном, чем при использовании моноспецифических COBRA на клетках HT29. Клетки анализировали с растворимым EpCAM, растворимым V7H3-4Ig и без антигена (контроль) вместе с моноспецифическими COBRA: Pro225 (V7H3/V7H3) (фиг. 66A) и Pro566 (EpCAM/EpCAM) (фиг. 66B), и с heteroCOBRA: Pro656 V7H3/EpCAM (фиг. 66C) и Pro658 EpCAM/V7H3 (фиг. 66D). Предварительно расщепленные COBRA добавляли в концентрации EC₉₀ для каждой COBRA в присутствии различных концентраций растворимого антигена. Более сильное ингибирование активации Jurkat было выявлено с моноспецифическими COBRA.

[00542] Антигены huV7H3-4Ig, huEpCAM и huV7H3-4Ig с huEpCAM анализировали с heteroCOBRA: Pro656 V7H3/EpCAM и Pro658 EpCAM/V7H3, и на фиг. 67 представлен перечень аффинностей для конструкций heteroCOBRA V7H3/EpCAM.

[00543] Фармакокинетика heteroCOBRA V7H3/EpCAM (фиг. 68) выявила, что sdAb EpCAM не связывал V7H3 мыши. Pro566, который включает два sdAb EpCAM (Pro 566 EpCAM/EpCAM), продемонстрировал наиболее высокую концентрацию в циркуляции. sdAb V7H3, связанный с белками V7H3 мыши, и Pro 225, который включает два sdAb V7H3 (Pro225 V7H3/V7H3), продемонстрировали наименьшую экспозицию в циркуляции из-за тканеопосредованного распределения препарата. HeteroCOBRA, которые имеют один sdAb V7H3 и один sdAb EpCAM (Pro656 V7H3/EpCAM и Pro658 EpCAM/V7H3), продемонстрировали уровни экспозиции между таковыми для двух родительских моноспецифических COBRA.

[00544] Активность heteroCOBRA *in vivo* определяли на модели ксенотрансплантата клеточной линии HT29 у мышей. HeteroCOBRA вводили в следующих дозах: Pro660 NCL (V7H3/EpCAM; 0,3 мг/кг), Pro656 MMP9 (V7H3/EpCAM; 0,01 мг/кг), Pro656 MMP9 (V7H3/EpCAM; 0,03 мг/кг) и Pro656 MMP9 (V7H3/EpCAM; 0,1 мг/кг). HeteroCOBRA V7H3/EpCAM были активными у мышей (фиг. 69).

[00545] На модели ксенотрансплантата клеточной линии HT29 тестировали дополнительные heteroCOBRA, которые вводили в следующих дозах: Pro662 NCL

(EрСАМ/В7Н3; 0,1 мг/кг) и Pro658 MMP9 (EрСАМ/В7Н3; 0,1 мг/кг). HeteroCOBRA В7Н3/ЕрСАМ были активными у мышей (фиг. 70).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Слитый белок, содержащий, от N-конца к С-концу:

- a) первый sdABD, который связывает HER2 (sdABD-HER2);
- b) первый доменный линкер;
- c) ограниченный домен Fv, содержащий:
 - i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3;
 - ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и
 - iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3;
- d) второй доменный линкер;
- e) второй sdABD-HER2;
- f) расщепляемый линкер (CL);
- g) ограниченный домен псевдо-Fv, содержащий:
 - i) первый псевдопеременный легкий домен;
 - ii) нерасщепляемый линкер (NCL); и
 - iii) первый псевдопеременный тяжелый домен;
- h) третий доменный линкер; и
- i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека (sdABD-HSA);

при этом первый переменный тяжелый домен и первый переменный легкий домен ограниченного домена Fv способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен псевдо-Fv не связывает CD3;

первый переменный тяжелый домен и первый псевдопеременный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv; и

первый переменный легкий домен и первый псевдопеременный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного Fv.

2. Слитый белок по п. 1, отличающийся тем, что первый и/или второй sdABD-HER2 имеют аминокислотную последовательность, содержащую набор CDR, выбранный из группы, состоящей из:

- a) sdCDR1 с SEQ ID NO:194 и sdCDR2 с SEQ ID NO:195, и sdCDR3 с SEQ ID NO:196;
- b) sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220;
- c) sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228;
- d) sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240;
- e) sdCDR1 с SEQ ID NO:142, sdCDR2 с SEQ ID NO:143 и sdCDR3 с SEQ ID NO:144;
- f) sdCDR1 с SEQ ID NO:146, sdCDR2 с SEQ ID NO:147 и sdCDR3 с SEQ ID NO:148;

- g) sdCDR1 c SEQ ID NO:150, sdCDR2 c SEQ ID NO:151 и sdCDR3 c SEQ ID NO:152;
- h) sdCDR1 c SEQ ID NO:154, sdCDR2 c SEQ ID NO:155 и sdCDR3 c SEQ ID NO:156;
- i) sdCDR1 c SEQ ID NO:158, sdCDR2 c SEQ ID NO:159 и sdCDR3 c SEQ ID NO:160;
- j) sdCDR1 c SEQ ID NO:162, sdCDR2 c SEQ ID NO:163 и sdCDR3 c SEQ ID NO:164;
- k) sdCDR1 c SEQ ID NO:166, sdCDR2 c SEQ ID NO:167 и sdCDR3 c SEQ ID NO:168;
- l) sdCDR1 c SEQ ID NO:170, sdCDR2 c SEQ ID NO:171 и sdCDR3 c SEQ ID NO:172;
- m) sdCDR1 c SEQ ID NO:174, sdCDR2 c SEQ ID NO:175 и sdCDR3 c SEQ ID NO:176;
- n) sdCDR1 c SEQ ID NO:178, sdCDR2 c SEQ ID NO:179 и sdCDR3 c SEQ ID NO:180;
- o) sdCDR1 c SEQ ID NO:182, sdCDR2 c SEQ ID NO:183 и sdCDR3 c SEQ ID NO:184;
- p) sdCDR1 c SEQ ID NO:186, sdCDR2 c SEQ ID NO:187 и sdCDR3 c SEQ ID NO:188;
- q) sdCDR1 c SEQ ID NO:190, sdCDR2 c SEQ ID NO:191 и sdCDR3 c SEQ ID NO:192;
- r) sdCDR1 c SEQ ID NO:194, sdCDR2 c SEQ ID NO:195 и sdCDR3 c SEQ ID NO:196;
- s) sdCDR1 c SEQ ID NO:198, sdCDR2 c SEQ ID NO:199 и sdCDR3 c SEQ ID NO:200;
- t) sdCDR1 c SEQ ID NO:202, sdCDR2 c SEQ ID NO:203 и sdCDR3 c SEQ ID NO:204;
- u) sdCDR1 c SEQ ID NO:206, sdCDR2 c SEQ ID NO:207 и sdCDR3 c SEQ ID NO:203;
- v) sdCDR1 c SEQ ID NO:210, sdCDR2 c SEQ ID NO:211 и sdCDR3 c SEQ ID NO:212;
- w) sdCDR1 c SEQ ID NO:214, sdCDR2 c SEQ ID NO:215 и sdCDR3 c SEQ ID NO:216;
- x) sdCDR1 c SEQ ID NO:218, sdCDR2 c SEQ ID NO:219 и sdCDR3 c SEQ ID NO:220;
- y) sdCDR1 c SEQ ID NO:222, sdCDR2 c SEQ ID NO:223 и sdCDR3 c SEQ ID NO:224;
- z) sdCDR1 c SEQ ID NO:226, sdCDR2 c SEQ ID NO:227 и sdCDR3 c SEQ ID NO:228;
- aa) sdCDR1 c SEQ ID NO:230, sdCDR2 c SEQ ID NO:231 и sdCDR3 c SEQ ID NO:232;
- ab) sdCDR1 c SEQ ID NO:234, sdCDR2 c SEQ ID NO:235 и sdCDR3 c SEQ ID NO:236;
- ac) sdCDR1 c SEQ ID NO:238, sdCDR2 c SEQ ID NO:239 и sdCDR3 c SEQ ID NO:240;

ad) sdCDR1 с SEQ ID NO:242, sdCDR2 с SEQ ID NO:243 и sdCDR3 с SEQ ID NO:244; и

ae) sdCDR1 с SEQ ID NO:500, sdCDR2 с SEQ ID NO:501 и sdCDR3 с SEQ ID NO:502;

af) sdCDR1 с SEQ ID NO:504, sdCDR2 с SEQ ID NO:505 и sdCDR3 с SEQ ID NO:506;

ag) sdCDR1 с SEQ ID NO:508, sdCDR2 с SEQ ID NO:509 и sdCDR3 с SEQ ID NO:510;

ah) sdCDR1 с SEQ ID NO:512, sdCDR2 с SEQ ID NO:513 и sdCDR3 с SEQ ID NO:514.

3. Слитый белок по п. 1, отличающийся тем, что первый и/или второй sdABD-HER2 содержат аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:225, SEQ ID NO:237, SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:149, SEQ ID NO:153, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:229, SEQ ID NO:233, SEQ ID NO:241, SEQ ID NO:499, SEQ ID NO:503, SEQ ID NO:507 и SEQ ID NO:511.

4. Слитый белок по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что первый sdABD-HER2 и второй sdABD-HER2 являются одинаковыми.

5. Слитый белок по п. 1 или п. 3, отличающийся тем, что первый sdABD-HER2 и второй sdABD-HER2 являются разными.

6. Слитый белок по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена, и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

7. Слитый белок по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена, и псевдопеременный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдопеременного легкого домена.

8. Слитый белок по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена, и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

9. Слитый белок по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена, и псевдопеременный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдопеременного легкого домена.

10. Слитый белок по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что третий sdABD, который связывается с HSA (sdABD-HSA), имеет аминокислотную последовательность, содержащую:

(a) набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (i) sdCDR1 с SEQ ID NO:246, sdCDR2 с SEQ ID NO:247 и sdCDR3 с SEQ ID NO:248, и (ii) sdCDR1 с SEQ ID NO:250, sdCDR2 с SEQ ID NO:251 и sdCDR3 с SEQ ID NO:252; или

(b) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:245 и SEQ ID NO:249.

11. Слитый белок по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что расщепляемый линкер содержит последовательность домена расщепления, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:339-408 и 532-535.

12. Слитый белок по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что расщепляемый линкер расщепляется протеазой человека, выбранной из группы, состоящей из MMP2, MMP9, меприна А, меприна В, катепсина S, катепсина К, катепсина L, гранзима В, uPA, калликреина 7, матриптазы и тромбина.

13. Слитый белок по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:459-484 и 491-494.

14. Нуклеиновая кислота, кодирующая слитый белок по любому из пп. 1-13.

15. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 14.

16. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п. 15.

17. Способ получения слитого белка, включающий: (i) культивирование клетки-хозяина по п. 16 в условиях, при которых экспрессируется слитый белок, и (ii) выделение слитого белка.

18. Способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий введение субъекту слитого белка по любому из пп. 1-13.

19. Однодоменный антигенсвязывающий домен (sdABD), который связывает HER2 человека (sdABD-HER2), содержащий:

(i) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:141, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:149, SEQ ID NO:153, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:161, SEQ ID NO:165, SEQ ID NO:169, SEQ ID NO:173, SEQ ID NO:177, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:189, SEQ ID NO:193, SEQ ID NO:197, SEQ ID NO:201, SEQ ID NO:205, SEQ ID NO:209, SEQ ID NO:213, SEQ ID NO:217, SEQ ID NO:221, SEQ ID NO:225, SEQ ID NO:229, SEQ ID NO:233, SEQ ID NO:237, SEQ ID NO:241, SEQ ID NO:499, SEQ ID NO:503, SEQ ID NO:507 и SEQ ID NO:511; или

(ii) аминокислотную последовательность, содержащую набор CDR, выбранный из группы, состоящей из:

a) sdCDR1 с SEQ ID NO:194 и sdCDR2 с SEQ ID NO:195, и sdCDR3 с SEQ ID NO:196;

b) sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220;

c) sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228;

- d) sdCDR1 c SEQ ID NO:238, sdCDR2 c SEQ ID NO:239 и sdCDR3 c SEQ ID NO:240;
- e) sdCDR1 c SEQ ID NO:142, sdCDR2 c SEQ ID NO:143 и sdCDR3 c SEQ ID NO:144;
- f) sdCDR1 c SEQ ID NO:146, sdCDR2 c SEQ ID NO:147 и sdCDR3 c SEQ ID NO:148;
- g) sdCDR1 c SEQ ID NO:150, sdCDR2 c SEQ ID NO:151 и sdCDR3 c SEQ ID NO:152;
- h) sdCDR1 c SEQ ID NO:154, sdCDR2 c SEQ ID NO:155 и sdCDR3 c SEQ ID NO:156;
- i) sdCDR1 c SEQ ID NO:158, sdCDR2 c SEQ ID NO:159 и sdCDR3 c SEQ ID NO:160;
- j) sdCDR1 c SEQ ID NO:162, sdCDR2 c SEQ ID NO:163 и sdCDR3 c SEQ ID NO:164;
- k) sdCDR1 c SEQ ID NO:166, sdCDR2 c SEQ ID NO:167 и sdCDR3 c SEQ ID NO:168;
- l) sdCDR1 c SEQ ID NO:170, sdCDR2 c SEQ ID NO:171 и sdCDR3 c SEQ ID NO:172;
- m) sdCDR1 c SEQ ID NO:174, sdCDR2 c SEQ ID NO:175 и sdCDR3 c SEQ ID NO:176;
- n) sdCDR1 c SEQ ID NO:178, sdCDR2 c SEQ ID NO:179 и sdCDR3 c SEQ ID NO:180;
- o) sdCDR1 c SEQ ID NO:182, sdCDR2 c SEQ ID NO:183 и sdCDR3 c SEQ ID NO:184;
- p) sdCDR1 c SEQ ID NO:186, sdCDR2 c SEQ ID NO:187 и sdCDR3 c SEQ ID NO:188;
- q) sdCDR1 c SEQ ID NO:190, sdCDR2 c SEQ ID NO:191 и sdCDR3 c SEQ ID NO:192;
- r) sdCDR1 c SEQ ID NO:194, sdCDR2 c SEQ ID NO:195 и sdCDR3 c SEQ ID NO:196;
- s) sdCDR1 c SEQ ID NO:198, sdCDR2 c SEQ ID NO:199 и sdCDR3 c SEQ ID NO:200;
- t) sdCDR1 c SEQ ID NO:202, sdCDR2 c SEQ ID NO:203 и sdCDR3 c SEQ ID NO:204;
- u) sdCDR1 c SEQ ID NO:206, sdCDR2 c SEQ ID NO:207 и sdCDR3 c SEQ ID NO:203;
- v) sdCDR1 c SEQ ID NO:210, sdCDR2 c SEQ ID NO:211 и sdCDR3 c SEQ ID NO:212;
- w) sdCDR1 c SEQ ID NO:214, sdCDR2 c SEQ ID NO:215 и sdCDR3 c SEQ ID NO:216;
- x) sdCDR1 c SEQ ID NO:218, sdCDR2 c SEQ ID NO:219 и sdCDR3 c SEQ ID NO:220;
- y) sdCDR1 c SEQ ID NO:222, sdCDR2 c SEQ ID NO:223 и sdCDR3 c SEQ ID NO:224;
- z) sdCDR1 c SEQ ID NO:226, sdCDR2 c SEQ ID NO:227 и sdCDR3 c SEQ ID NO:228;
- aa) sdCDR1 c SEQ ID NO:230, sdCDR2 c SEQ ID NO:231 и sdCDR3 c SEQ ID

NO:232;

ab) sdCDR1 с SEQ ID NO:234, sdCDR2 с SEQ ID NO:235 и sdCDR3 с SEQ ID NO:236;

ac) sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240;

ad) sdCDR1 с SEQ ID NO:242, sdCDR2 с SEQ ID NO:243 и sdCDR3 с SEQ ID NO:244;

ae) sdCDR1 с SEQ ID NO:500, sdCDR2 с SEQ ID NO:501 и sdCDR3 с SEQ ID NO:502;

af) sdCDR1 с SEQ ID NO:504, sdCDR2 с SEQ ID NO:505 и sdCDR3 с SEQ ID NO:506;

ag) sdCDR1 с SEQ ID NO:508, sdCDR2 с SEQ ID NO:509 и sdCDR3 с SEQ ID NO:510;

ah) sdCDR1 с SEQ ID NO:512, sdCDR2 с SEQ ID NO:513 и sdCDR3 с SEQ ID NO:514.

20. Слитый белок, содержащий, от N-конца к C-концу:

a) первый sdABD, который связывает целевой опухолевый антиген (sdABD-ТТА);

b) первый доменный линкер;

c) ограниченный домен F_v, содержащий:

i) первый переменный тяжелый домен, содержащий vhCDR1, vhCDR2 и vhCDR3;

ii) ограниченный нерасщепляемый линкер (CNCL); и

iii) первый переменный легкий домен, содержащий vlCDR1, vlCDR2 и vlCDR3;

d) второй доменный линкер;

e) второй sdABD-ТТА;

f) расщепляемый линкер (CL);

g) ограниченный домен псевдо-F_v, содержащий:

i) первый псевдопеременный легкий домен;

ii) нерасщепляемый линкер (NCL); и

iii) первый псевдопеременный тяжелый домен;

h) третий доменный линкер; и

i) третий sdABD, который связывается с альбумином сыворотки крови человека (sdABD-HSA);

при этом первый переменный тяжелый домен и первый переменный легкий домен ограниченного домена F_v способны связывать CD3 человека, но ограниченный домен псевдо-F_v не связывает CD3; первый переменный тяжелый домен и первый псевдопеременный легкий домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного F_v; первый переменный легкий домен и первый псевдопеременный тяжелый домен внутримолекулярно ассоциируются с образованием неактивного F_v, и

при этом либо: (1) первый sdABD-ТТА представляет собой sdABD-HER2 или

sdABD-LyPD3, и второй sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2; или (2) первый sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2, и второй sdABD-ТТА представляет собой sdABD-HER2 или sdABD-LyPD3.

21. Слитый белок по п. 20, отличающийся тем, что первый и второй sdABD-ТТА каждый представляет собой sdABD-LyPD3.

22. Слитый белок по п. 21, отличающийся тем, что первый и второй sdABD-LPYD3 являются одинаковыми.

23. Слитый белок по п. 21, отличающийся тем, что первый и второй sdABD-LPYD3 являются разными.

24. Слитый белок по п. 20, отличающийся тем, что:

(а) первый sdABD-ТТА представляет собой sdABD-HER2 и второй sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2;

(b) первый sdABD-ТТА представляет собой sdABD-LyPD3 и второй sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-HER2 и sdABD-Trop2;

(с) первый sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2; и второй ТТА представляет собой sdABD-HER2; или

(d) первый sdABD-ТТА выбран из группы, состоящей из sdABD-B7H3, sdABD-CA9, sdABD-EGFR, sdABD-EpCAM, sdABD-FOLR1, sdABD-LyPD3 и sdABD-Trop2; и второй ТТА представляет собой sdABD-LyPD3.

25. Слитый белок по п. 20 или п. 24, отличающийся тем, что sdABD-HER2 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(а) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196;

(b) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220;

(с) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228;

(d) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240;

(е) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:142, sdCDR2 с SEQ ID NO:143 и sdCDR3 с SEQ ID NO:144;

(f) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:146, sdCDR2 с SEQ ID NO:147 и sdCDR3 с SEQ ID NO:148;

(g) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:150, sdCDR2 с SEQ ID NO:151

и sdCDR3 с SEQ ID NO:152;

(h) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:154, sdCDR2 с SEQ ID NO:155 и sdCDR3 с SEQ ID NO:156;

(i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:158, sdCDR2 с SEQ ID NO:159 и sdCDR3 с SEQ ID NO:160;

(j) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:162, sdCDR2 с SEQ ID NO:163 и sdCDR3 с SEQ ID NO:164;

(k) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:166, sdCDR2 с SEQ ID NO:167 и sdCDR3 с SEQ ID NO:168;

(l) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:170, sdCDR2 с SEQ ID NO:171 и sdCDR3 с SEQ ID NO:172;

(m) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:174, sdCDR2 с SEQ ID NO:175 и sdCDR3 с SEQ ID NO:176;

(n) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:178, sdCDR2 с SEQ ID NO:179 и sdCDR3 с SEQ ID NO:180;

(o) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:182, sdCDR2 с SEQ ID NO:183 и sdCDR3 с SEQ ID NO:184;

(p) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:186, sdCDR2 с SEQ ID NO:187 и sdCDR3 с SEQ ID NO:188;

(q) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:190, sdCDR2 с SEQ ID NO:191 и sdCDR3 с SEQ ID NO:192;

(r) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:194, sdCDR2 с SEQ ID NO:195 и sdCDR3 с SEQ ID NO:196;

(s) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:198, sdCDR2 с SEQ ID NO:199 и sdCDR3 с SEQ ID NO:200;

(t) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:202, sdCDR2 с SEQ ID NO:203 и sdCDR3 с SEQ ID NO:204;

(u) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:206, sdCDR2 с SEQ ID NO:207 и sdCDR3 с SEQ ID NO:203;

(v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:210, sdCDR2 с SEQ ID NO:211 и sdCDR3 с SEQ ID NO:212;

(w) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:214, sdCDR2 с SEQ ID NO:215 и sdCDR3 с SEQ ID NO:216;

(x) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:218, sdCDR2 с SEQ ID NO:219 и sdCDR3 с SEQ ID NO:220;

(y) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:222, sdCDR2 с SEQ ID NO:223 и sdCDR3 с SEQ ID NO:224;

(z) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:226, sdCDR2 с SEQ ID NO:227 и sdCDR3 с SEQ ID NO:228;

(aa) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:230, sdCDR2 с SEQ ID

NO:231 и sdCDR3 с SEQ ID NO:232;

(ab) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:234, sdCDR2 с SEQ ID NO:235 и sdCDR3 с SEQ ID NO:236;

(ac) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:238, sdCDR2 с SEQ ID NO:239 и sdCDR3 с SEQ ID NO:240;

(ad) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:242, sdCDR2 с SEQ ID NO:243 и sdCDR3 с SEQ ID NO:244;

(ae) SEQ ID NO:141; (af) SEQ ID NO:145; (ag) SEQ ID NO:149; (ah) SEQ ID NO:153; (ai) SEQ ID NO:157; (aj) SEQ ID NO:161; (ak) SEQ ID NO:165; (al) SEQ ID NO:169; (am) SEQ ID NO:173; (an) SEQ ID NO:177; (ao) SEQ ID NO:181; (ap) SEQ ID NO:185; (aq) SEQ ID NO:189; (ar) SEQ ID NO:193; (as) SEQ ID NO:197; (at) SEQ ID NO:201; (au) SEQ ID NO:205; (av) SEQ ID NO:209; (aw) SEQ ID NO:213; (ax) SEQ ID NO:217; (ay) SEQ ID NO:221; (az) SEQ ID NO:225; (ba) SEQ ID NO:229; (bb) SEQ ID NO:233; (bc) SEQ ID NO:237; и (bd) SEQ ID NO:241.

26. Слитый белок по любому из пп. 20-25, отличающийся тем, что sdABD-LyPD3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(a) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:118, sdCDR2 с SEQ ID NO:119 и sdCDR3 с SEQ ID NO:120;

(b) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:122, sdCDR2 с SEQ ID NO:123 и sdCDR3 с SEQ ID NO:124;

(c) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:126, sdCDR2 с SEQ ID NO:127 и sdCDR3 с SEQ ID NO:128;

(d) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:130, sdCDR2 с SEQ ID NO:131 и sdCDR3 с SEQ ID NO:132;

(e) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:134, sdCDR2 с SEQ ID NO:135 и sdCDR3 с SEQ ID NO:136;

(f) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:138, sdCDR2 с SEQ ID NO:139 и sdCDR3 с SEQ ID NO:140;

(g) SEQ ID NO:117; (h) SEQ ID NO:121; (i) SEQ ID NO:125; (j) SEQ ID NO:129; (k) SEQ ID NO:133; и (l) SEQ ID NO:137.

27. Слитый белок по любому из пп. 20 и 24-26, отличающийся тем, что sdABD-B7H3 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:34 sdCDR2 с SEQ ID NO:35 и sdCDR3 с SEQ ID NO:36; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:38, sdCDR2 с SEQ ID NO:39 и sdCDR3 с SEQ ID NO:40; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:42, sdCDR2 с SEQ ID NO:43 и sdCDR3 с SEQ ID NO:44; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:46, sdCDR2 с SEQ ID NO:47 и sdCDR3 с SEQ ID NO:48; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:50, sdCDR2 с SEQ ID NO:51 и sdCDR3 с SEQ ID NO:52; (vi) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:54, sdCDR2

с SEQ ID NO:55 и sdCDR3 с SEQ ID NO:56; (vii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:58, sdCDR2 с SEQ ID NO:59 и sdCDR3 с SEQ ID NO:60; (ix) SEQ ID NO:33; (x) SEQ ID NO:37; (xi) SEQ ID NO:41; (xii) SEQ ID NO:45; (xiii) SEQ ID NO:49; (xiv) SEQ ID NO:53; и (xv) SEQ ID NO:57.

28. Слитый белок по любому из пп. 20 и 24-26, отличающийся тем, что sdABD-CA9 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:102, sdCDR2 с SEQ ID NO:103 и sdCDR3 с SEQ ID NO:104; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:106, sdCDR2 с SEQ ID NO:107 и sdCDR3 с SEQ ID NO:108; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:110, sdCDR2 с SEQ ID NO:111 и sdCDR3 с SEQ ID NO:112; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:114, sdCDR2 с SEQ ID NO:115 и sdCDR3 с SEQ ID NO:116; (v) SEQ ID NO:101; (vi) SEQ ID NO:105; (vii) SEQ ID NO:109; и (viii) SEQ ID NO:113.

29. Слитый белок по любому из пп. 20 и 24-26, отличающийся тем, что sdABD-EGFR содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: (i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:2, sdCDR2 с SEQ ID NO:3 и sdCDR3 с SEQ ID NO:4; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:6, sdCDR2 с SEQ ID NO:7 и sdCDR3 с SEQ ID NO:8; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:10, sdCDR2 с SEQ ID NO:11 и sdCDR3 с SEQ ID NO:12; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:14, sdCDR2 с SEQ ID NO:15 и sdCDR3 с SEQ ID NO:16; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:18, sdCDR2 с SEQ ID NO:19 и sdCDR3 с SEQ ID NO:20; (vi) SEQ ID NO:1; (vii) SEQ ID NO:5; (viii) SEQ ID NO:9; (ix) SEQ ID NO:13; и (x) SEQ ID NO:17.

30. Слитый белок по любому из пп. 20 и 24-26, отличающийся тем, что sdABD-EpCAM содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:62, sdCDR2 с SEQ ID NO:63 и sdCDR3 с SEQ ID NO:64; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:66, sdCDR2 с SEQ ID NO:67 и sdCDR3 с SEQ ID NO:68; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:70, sdCDR2 с SEQ ID NO:71 и sdCDR3 с SEQ ID NO:72; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:74, sdCDR2 с SEQ ID NO:75 и sdCDR3 с SEQ ID NO:76; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:496, sdCDR2 с SEQ ID NO:497 и sdCDR3 с SEQ ID NO:498; (vi) SEQ ID NO:61; (vii) SEQ ID NO:65; (viii) SEQ ID NO:69; (ix) SEQ ID NO:73; и (x) SEQ ID NO:495.

31. Слитый белок по любому из пп. 20 и 24-26, отличающийся тем, что sdABD-FOLR1 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:22, sdCDR2 с SEQ ID NO:23 и sdCDR3 с SEQ ID NO:24; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:26, sdCDR2 с SEQ ID NO:27 и sdCDR3 с SEQ ID NO:28; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ

ID NO:30, sdCDR2 с SEQ ID NO:31 и sdCDR3 с SEQ ID NO:32; (iv) SEQ ID NO:21; (v) SEQ ID NO:25; и (vi) SEQ ID NO:29.

32. Слитый белок по любому из пп. 20 и 24-26, отличающийся тем, что sdABD-Trop2 содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

(i) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:78, sdCDR2 с SEQ ID NO:79 и sdCDR3 с SEQ ID NO:80; (ii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:82, sdCDR2 с SEQ ID NO:83 и sdCDR3 с SEQ ID NO:84; (iii) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:86, sdCDR2 с SEQ ID NO:87 и sdCDR3 с SEQ ID NO:88; (iv) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:90, sdCDR2 с SEQ ID NO:91 и sdCDR3 с SEQ ID NO:92; (v) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:94, sdCDR2 с SEQ ID NO:95 и sdCDR3 с SEQ ID NO:96; (vi) набора CDR, содержащего sdCDR1 с SEQ ID NO:98, sdCDR2 с SEQ ID NO:99 и sdCDR3 с SEQ ID NO:100; (vii) SEQ ID NO:77; (viii) SEQ ID NO:81; (ix) SEQ ID NO:85; (x) SEQ ID NO:89; (xi) SEQ ID NO:93; и (xii) SEQ ID NO:97.

33. Слитый белок по любому из пп. 20-32, отличающийся тем, что первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена, и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

34. Слитый белок по любому из пп. 20-32, отличающийся тем, что первый переменный тяжелый домен является N-концевым относительно первого переменного легкого домена, и псевдопеременный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдопеременного легкого домена.

35. Слитый белок по любому из пп. 20-32, отличающийся тем, что первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена, и псевдопеременный легкий домен является N-концевым относительно псевдопеременного тяжелого домена.

36. Слитый белок по любому из пп. 20-32, отличающийся тем, что первый переменный легкий домен является N-концевым относительно первого переменного тяжелого домена, и псевдопеременный тяжелый домен является N-концевым относительно псевдопеременного легкого домена.

37. Слитый белок по любому из пп. 20-36, отличающийся тем, что третий sdABD, который связывается с HSA, имеет аминокислотную последовательность, содержащую: (a) набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (i) sdCDR1 с SEQ ID NO:246, sdCDR2 с SEQ ID NO:247 и sdCDR3 с SEQ ID NO:248, и (ii) sdCDR1 с SEQ ID NO:250, sdCDR2 с SEQ ID NO:251 и sdCDR3 с SEQ ID NO:252; или (b) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:245 и SEQ ID NO:249.

38. Слитый белок по любому из пп. 20-37, отличающийся тем, что расщепляемый линкер содержит последовательность домена расщепления, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:339-408 и 532-535.

39. Слитый белок по любому из пп. 20-38, отличающийся тем, что расщепляемый линкер расщепляется протеазой человека, выбранной из группы, состоящей из MMP2, MMP9, меприна А, меприна В, катепсина S, катепсина К, катепсина L, гранзима В, uPA, калликреина 7, матриптазы и тромбина.

40. Слитый белок по любому из пп. 20-39, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:453, SEQ ID NO:454, SEQ ID NO:455, SEQ ID NO:456, SEQ ID NO:457 и SEQ ID NO:458.

41. Нуклеиновая кислота, кодирующая слитый белок по любому из пп. 20-40.

42. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 41.

43. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п. 42.

44. Способ получения слитого белка, включающий: (а) культивирование клетки-хозяина по п. 43 в условиях, при которых экспрессируется слитый белок, и (b) выделение слитого белка.

45. Однодоменный антигенсвязывающий домен, который связывает LyPD3 человека (sdABD-LyPD3), содержащий: (i) аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO:117, SEQ ID NO:121, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:129, SEQ ID NO:133 и SEQ ID NO:137, или (ii) аминокислотную последовательность, содержащую набор CDR, выбранный из группы, состоящей из: (a) sdCDR1 с SEQ ID NO:118, sdCDR2 с SEQ ID NO:119 и sdCDR3 с SEQ ID NO:120; (b) sdCDR1 с SEQ ID NO:122, sdCDR2 с SEQ ID NO:123 и sdCDR3 с SEQ ID NO:124; (c) sdCDR1 с SEQ ID NO:126, sdCDR2 с SEQ ID NO:127 и sdCDR3 с SEQ ID NO:128; (d) sdCDR1 с SEQ ID NO:130, sdCDR2 с SEQ ID NO:131 и sdCDR3 с SEQ ID NO:132; (e) sdCDR1 с SEQ ID NO:134, sdCDR2 с SEQ ID NO:135 и sdCDR3 с SEQ ID NO:136; и (f) sdCDR1 с SEQ ID NO:138, sdCDR2 с SEQ ID NO:139 и sdCDR3 с SEQ ID NO:140.

46. Нуклеиновая кислота, кодирующая однодоменный антигенсвязывающий домен (sdABD) по п. 19 или п. 45.

47. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 46.

48. Клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п. 47.

49. Способ получения однодоменного антигенсвязывающего домена (sdABD), включающий: (а) культивирование клетки-хозяина по п. 48 в условиях, при которых экспрессируется sdABD, и (b) выделение sdABD.

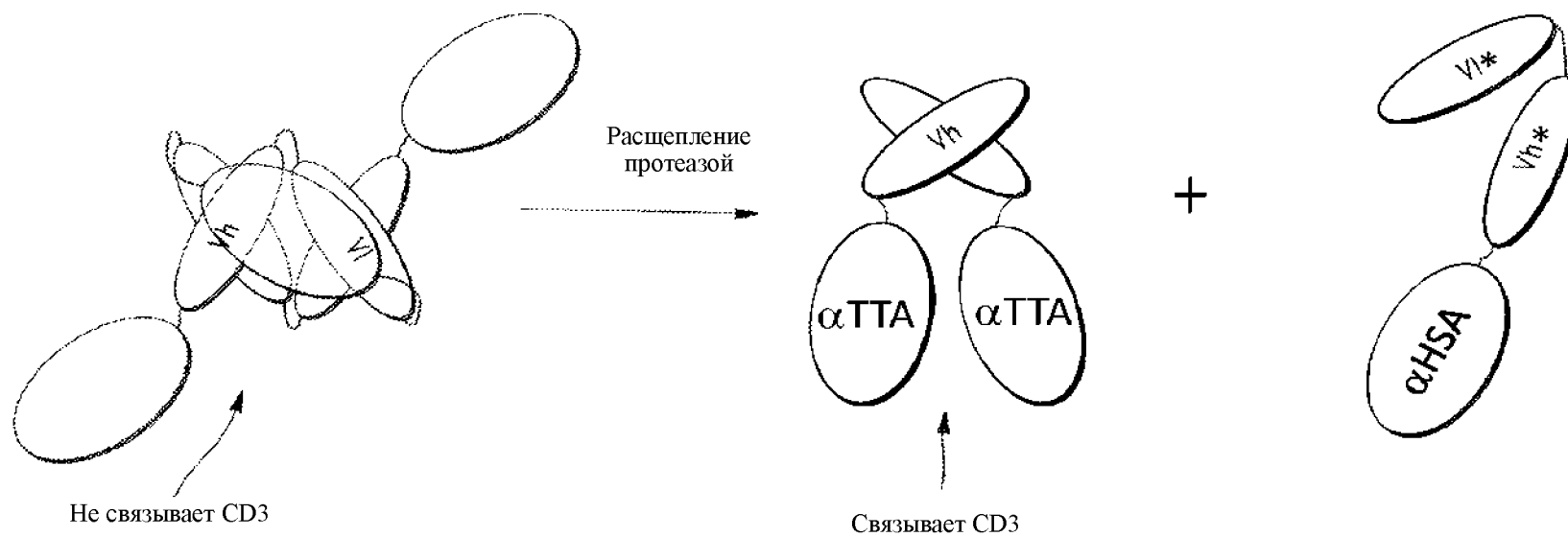
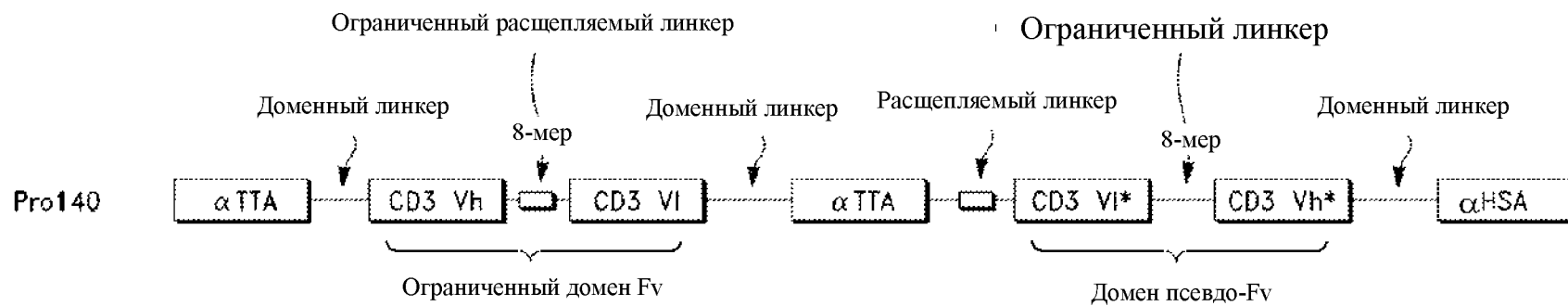
50. Фармацевтическая композиция, содержащая слитый белок по любому из пп. 1-13 и пп. 20-40 или однодоменный антигенсвязывающий домен (sdABD) по п. 19 или п. 45.

51. Фармацевтическая композиция по п. 50, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент.

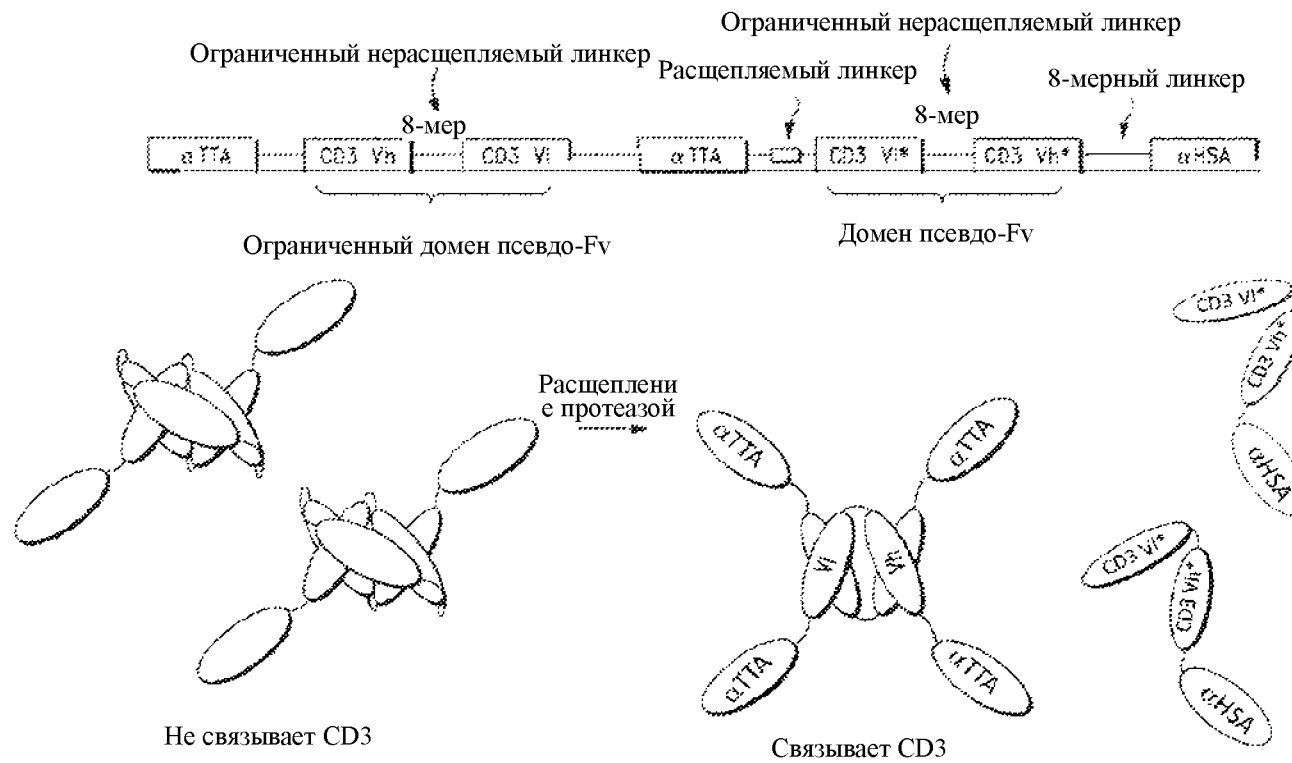
52. Способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий введение слитого белка по любому из пп. 1-13 и пп. 20-40, однодоменного антигенсвязывающего домена (sdABD) по п. 19 или п. 45, или фармацевтической композиции по п. 50 или п. 51.

По доверенности

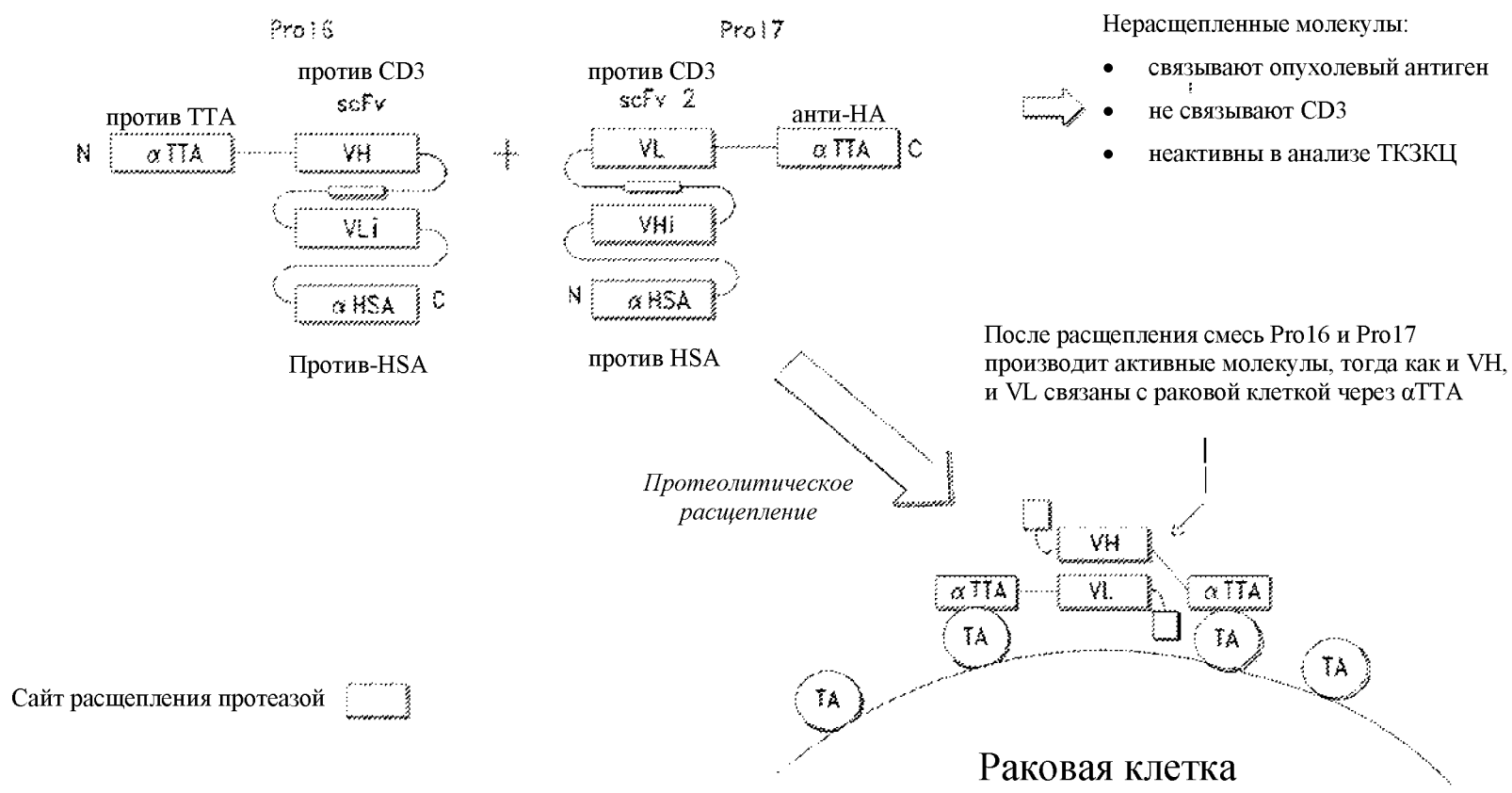
Фиг. 1



Фиг. 2

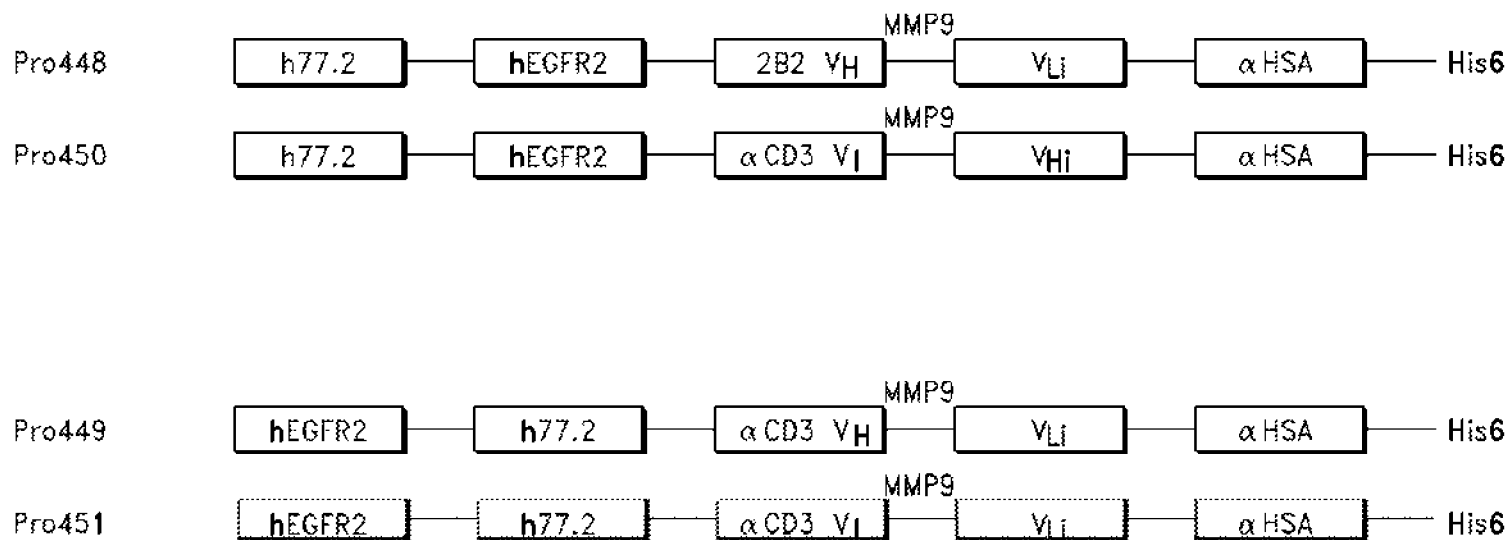


Фиг. 3А

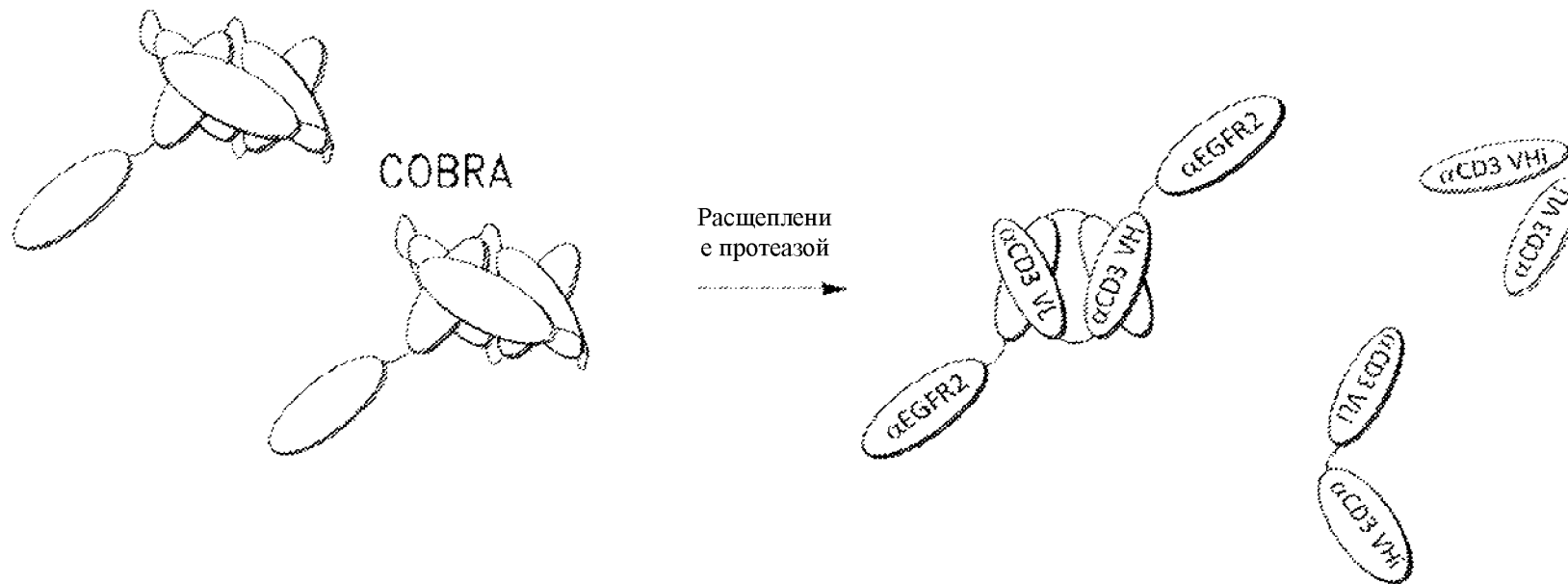
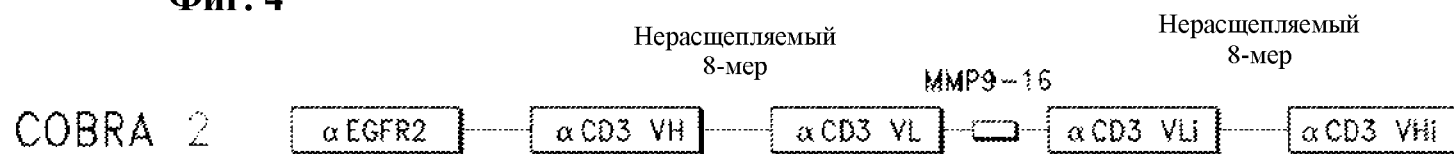


3/247

Фиг. 3В



Фиг. 4



Фиг. 5A

αEGFR1

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRTFSSYAMG**WFRQAPGKEREVVA**INWSSGSTY**
YADSVKGRRFTISRDNKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCA**AGYQINSGNYNFKDYDY**WG
 QGTQVTVSS (SEQ ID NO:1)

sdCDR1 **GRTFSSYAMG** (SEQ ID NO:2)
 sdCDR2 **INWSSGSTYYADSVKG** (SEQ ID NO:3)
 sdCDR3 **GYQINSGNYNFKDYDY** (SEQ ID NO:4)

αEGFR2

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREV**SGISWRGDST**
GYADSVKGRRFTISRDNKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQG
 TQVTVSS (SEQ ID NO:5)

sdCDR1 **GRTSRSYGMG** (SEQ ID NO:6)
 sdCDR2 **GISWRGDSTGYADSVKG** (SEQ ID NO:7)
 sdCDR3 **AAGSAWYGTLYEYDY** (SEQ ID NO:8)

hαEGFR1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GRTFSSYAMG**WFRQAPGKEREVVA**INWSSGSTY**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA**AGYQINSGNYNFKDYEYDY**WGQ
 GTLTVSS (SEQ ID NO:9)

sdCDR1 **GRTFSSYAMG** (SEQ ID NO:10)
 sdCDR2 **INWSSGSTYYADSVKG** (SEQ ID NO:11)
 sdCDR3 **GYQINSGNYNFKDYEYDY** (SEQ ID NO:12)

aEGFR2a sdAb

EVQLVESGGGVVPRGGSLRLSCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREV**SGISWRGDST**
GYADSVKGRRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQG
 TLTVSS (SEQ ID NO:13)

sdCDR1 **GRTSRSYGMG** (SEQ ID NO:14)
 sdCDR2 **GISWRGDSTGYADSVKG** (SEQ ID NO:15)
 sdCDR3 **AAGSAWYGTLYEYDY** (SEQ ID NO:16)

hαEGFR2d

QVKLVESGGGVVPRGGSLTLSCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREV**SGISWRGDST**
GYADSVKGRRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQG
 TLTVSS (SEQ ID NO:17)

sdCDR1 **GRTSRSYGMG** (SEQ ID NO:18)
 sdCDR2 **GISWRGDSTGYADSVKG** (SEQ ID NO:19)
 sdCDR3 **AAGSAWYGTLYEYDY** (SEQ ID NO:20)

Фиг. 5B

αFOLR1 h77-2

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTVSNSVMA**WYRQTPGNEREFVA**IINSIGITNYAD**
SVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNR**NFDRIY**WGQGLTVTVSS (SEQ ID
 NO:21)

sdCDR1 **GFTVSNSVMA** (SEQ ID NO:22)
 sdCDR2 **IINSIGITNYADSVKG** (SEQ ID NO:23)
 sdCDR3 **NFDRIY** (SEQ ID NO:24)

αFOLR1 h59.3

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAP**GNTFSISAMG**WYRQAPGKQREWWAV**THSDYSTNY**
ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKHY**YGIDY**WGQGLTVTVSS (SEQ ID
 NO:25)

sdCDR1 **GNTFSISAMG** (SEQ ID NO:26)
 sdCDR2 **VTHSDYSTNYADSVKG** (SEQ ID NO:27)
 sdCDR3 **YGIDY** (SEQ ID NO:28)

αFOLR1 h22-4

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**GTTFSRDVMG**WYRQAPGKQRELVA**IISRGGSTNY**
ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNAN**TATWGRV**FWGQGLTVTVSS
 (SEQ ID NO:29)

sdCDR1 **GTTFSRDVMG** (SEQ ID NO:30)
 sdCDR2 **IISRGGSTNYADSVKG** (SEQ ID NO:31)
 sdCDR3 **NTATWGRV** (SEQ ID NO:32)

αB7H3 hF7

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAP**SRRTFHTYHMG**WFRQAPGKEREFVA**VINWGGSTV**
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAG**GGATTQRATEASYDY**WGQGL
 TVTVSS (SEQ ID NO:33)

sdCDR1 **SRRTFHTYHMG** (SEQ ID NO:34)
 sdCDR2 **VINWGGSTVYADSVKG** (SEQ ID NO:35)
 sdCDR3 **GGATTQRATEASYDY** (SEQ ID NO:36)

Фиг. 5C

αB7H3 hF12

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**PRTFSTYSMA**WFRQAPGKERSFVA**AINWSSGNTS**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA**AGGVLAHHNYEYDY**WGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:37)

sdCDR1 **PRTFSTYSMA** (SEQ ID NO:38)
 sdCDR2 **AINWSSGNTSYADSVKG** (SEQ ID NO:39)
 sdCDR3 **GGVLAHHNYEYDY** (SEQ ID NO:40)

αB7H3 hF12 (N57Q)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**PRTFSTYSMA**WFRQAPGKERSFVA**AINWSSGQTS**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA**AGGVLAHHNYEYDY**WGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:41)

sdCDR1 **PRTFSTYSMA** (SEQ ID NO:42)
 sdCDR2 **AINWSSGQTSYADSVKG** (SEQ ID NO:43)
 sdCDR3 **GGVLAHHNYEYDY** (SEQ ID NO:44)

αB7H3 hF12 (N57E)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**PRTFSTYSMA**WFRQAPGKERSFVA**AINWSSGETS**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA**AGGVLAHHNYEYDY**WGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:45)

sdCDR1 **PRTFSTYSMA** (SEQ ID NO:46)
 sdCDR2 **AINWSSGETSYADSVKG** (SEQ ID NO:47)
 sdCDR3 **GGVLAHHNYEYDY** (SEQ ID NO:48)

αB7H3 hF12 (N57D)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**PRTFSTYSMA**WFRQAPGKERSFVA**AINWSSGDTS**
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA**AGGVLAHHNYEYDY**WGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:49)

sdCDR1 **PRTFSTYSMA** (SEQ ID NO:50)
 sdCDR2 **AINWSSGDTSYADSVKG** (SEQ ID NO:51)
 sdCDR3 **GGVLAHHNYEYDY** (SEQ ID NO:52)

Фиг. 5D

αB7H3 hF12 (S59A)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGNTA
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:53)

sdCDR1 PRTFSTYSMA (SEQ ID NO:54)
 sdCDR2 AINWSSGNTAYADSVKG (SEQ ID NO:55)
 sdCDR3 GGVLAHHNYEYDY (SEQ ID NO:56)

αB7H3 hF12 (S59Y)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGNTY
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:57)

sdCDR1 PRTFSTYSMA (SEQ ID NO:58)
 sdCDR2 AINWSSGNTYYADSVKG (SEQ ID NO:59)
 sdCDR3 GGVLAHHNYEYDY (SEQ ID NO:60)

αEpCAM h13

QVQLVESGGGLVQPGGSLTSCAASGTGSIFSINLMGWYRQAPGKQRELVARITSGDSTV
YADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCNLLRSSPGATTPYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:61)

sdCDR1 GTGSIFSINLMG (SEQ ID NO:62)
 sdCDR2 RITSGDSTVYADSVKG (SEQ ID NO:63)
 sdCDR3 LLRSSPGATTPY (SEQ ID NO:64)

αEpCAM h23

QVQLVESGGGLVQPGGSLTSCVISGSFSALWAMRWYRQAPGQQRELVASSRGGTTSYA
DSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCNAIDGHLAYWGQGLVT
 VSS (SEQ ID NO:65)

sdCDR1 GSFSALWAMR (SEQ ID NO:66)
 sdCDR2 SSRGGTTSYADSVKG (SEQ ID NO:67)
 sdCDR3 IDGHLAY (SEQ ID NO:68)

10/247

Фиг. 5E

acEpcAM hVIB665

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGHT
NYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO:69)

sdCDR1 GRTFSDYDMG (SEQ ID NO:70)
sdCDR2 AISWSGGHTNYADSVKGR (SEQ ID NO:71)
sdCDR3 DLRFTGGDTTTPETYDY (SEQ ID NO:72)

acEpcAM hVIB666

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGST
DYAYSVTGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQ
GTLVTVSS (SEQ ID NO:73)

sdCDR1 GRTLDNYDMG (SEQ ID NO:74)
sdCDR2 AISWSGGSTDYAYSVTGR (SEQ ID NO:75)
sdCDR3 DLRFTGGDTMTPETYDY (SEQ ID NO:76)

aTrop2 hVIB557

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKEREFVSAISWTGANPT
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYYYERATAETSYDYW
GQGLTVTVSS (SEQ ID NO:77)

sdCDR1 GRTFSSQSMG (SEQ ID NO:78)
sdCDR2 SAISWTGANPTYADSVKGR (SEQ ID NO:79)
sdCDR3 DTSGGSYYYYERATAETSYDY (SEQ ID NO:80)

aTrop2 hVIB565

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDYYAIGWFRQAPGKEREGVSCISSSHGSTYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCATAGDGGDYHCSGLVDYGMDYWG
KGLVTVSS (SEQ ID NO:81)

sdCDR1 GFTFDYYAIG (SEQ ID NO:82)
sdCDR2 SCISSSHGSTYYADSVKGR (SEQ ID NO:83)
sdCDR3 AGDGGDYHCSGLVDYGMDYWG (SEQ ID NO:84)

Фиг. 5F

aTrop2 hVIB575

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRTVGRTAMGWFRQPPGKEREFVATISWAGGTTY
YADFVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAASEPYSDYDPSGMVYWGKGLV
TVSS (SEQ ID NO:85)

sdCDR1 GRTVGRTAMG (SEQ ID NO:86)
sdCDR2 TISWAGGTTYADFVKGR (SEQ ID NO:87)
sdCDR3 SEPYSDYDPSGMVYWG (SEQ ID NO:88)

aTrop2 hVIB578

11/247

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFGRAAMGWFRQPPGKEREFAATISWGSNTY
YADFVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAASEPYSSDYDPSGMVYWGKGLV
TVSS (SEQ ID NO:89)

sdCDR1 GRTFGRAAMG (SEQ ID NO:90)
sdCDR2 TISWGSNTYYADFVKG (SEQ ID NO:91)
sdCDR3 SEPYSSDYDPSGMVY (SEQ ID NO:92)

aTrop2 hVIB609

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCALSGLTFNTYPMAWFRQPPGQEREFVADDMSWSGTNTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGWPYSGTGRSTTDYTYWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO:93)

sdCDR1 GLTFNTYPMA (SEQ ID NO:94)
sdCDR2 DMSWSGTNTYYADSVKG (SEQ ID NO:95)
sdCDR3 GWPYSGTGRSTTDYTY (SEQ ID NO:96)

aTrop2 hVIB619

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRSFSRYGMGWLRQAPGKERELVASISWSGHSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAESLPYESGSPRLTDFASWGQG
TLVTVSS (SEQ ID NO:97)

sdCDR1 GRSFSRYGMG (SEQ ID NO:98)
sdCDR2 SISWSGHSTYYADSVKG (SEQ ID NO:99)
sdCDR3 ESLPYESGSPRLTDFAS (SEQ ID NO:100)

aCA9 hVIB456 sdAb

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSALIINAMGWYRQAPGKQRELVATVTRSGRTNY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNVALWIADGEYDYWGQGLVTVSS
(SEQ ID NO:101)

sdCDR1 GSALIINAMG (SEQ ID NO:102)
sdCDR2 TVTRSGRTNYADSVKG (SEQ ID NO:103)
sdCDR3 ALWIADGEYDY (SEQ ID NO:104)

Фиг. 5G

aCA9 hVIB476 sdAb

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFIINVMGWYRQAPGKQRELVATITNGGRTHYA
DSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNANHIELGDYWGQGT LVTVSS (SEQ
 ID NO:105)

sdCDR1 GNIFIINVMG (SEQ ID NO:106)
 sdCDR2 TITNGGRTHYADSVKG (SEQ ID NO:107)
 sdCDR3 NHIELGDY (SEQ ID NO:108)

aCA9 hVIB407 sdAb

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGIIFSVYDMGWYRQTPGKQREFVARRITAGGGTYLT
DSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTGVYYCNAAWIGDDYWGQGT LVTVSS (SEQ
 ID NO:109)

sdCDR1 GIIFSVYDMG (SEQ ID NO:110)
 sdCDR2 RITAGGGTYLTDSVKG (SEQ ID NO:111)
 sdCDR3 AWIGDDY (SEQ ID NO:112)

aCA9 hVIB445 sdAb

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGITFNLHAMRWYRRAPGKQRELVAYISARDWTNY
ADSVKGRRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCNTDLVGEDYWGRGTLVTVSS (SEQ
 ID NO:113)

sdCDR1 GITFNLHAMR (SEQ ID NO:114)
 sdCDR2 YISARDWTNYADSVKG (SEQ ID NO:115)
 sdCDR3 DLVGEDY (SEQ ID NO:116)

αLyPD3 h787 sdAb

QVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEHEAVSCISSSDGSTYY
ADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATVKSCYSDGYALWGSWGQGT LVT
 TVSS (SEQ ID NO:117)

sdCDR1 GFTLDYYAIG (SEQ ID NO:118)
 sdCDR2 CISSSDGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:119)
 sdCDR3 VKSCYSDGYALWGS (SEQ ID NO:120)

αLyPD3 h790 sdAb

QVQLLES GGGLVQP GGSLRLS CAASGFTLDYYSIGWFRQAPGKEREGVSCISSSDGSTYY
ADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATVKSCYVDGYILWGSWGQGT LVT
 VSS (SEQ ID NO:121)

sdCDR1 GFTLDYYSIG (SEQ ID NO:122)
 sdCDR2 CISSSDGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:123)
 sdCDR3 VKSCYVDGYILWGS (SEQ ID NO:124)

Фиг. 5H

αLyPD3 H804 sdAb

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTLDYYAIG**WFRQAPGKEHEGV**SCISSDGSTYYADSVKGR**FTI
SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT**VRSCASPYELGS**WGQGLTLTVSS (SEQ ID NO:125)

sdCDR1 **GFTLDYYAIG** (SEQ ID NO:126)

sdCDR2 **CISSDGSTYYADSVKG** (SEQ ID NO:127)

sdCDR3 **VRSCASPYELGS** (SEQ ID NO:128)

αLyPD h773 sdAb (Pro929)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GRSFSSYGMG**WFRQAPGKEREIVAA**AISWGGSAVYYANSVKGR**
FTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAN**NRQGRALVRKEFYDY**WGQGLTLTVSS (SEQ ID
NO:129)

sdCDR1 **GRSFSSYGMG** (SEQ ID NO:130)

sdCDR2 **AISWGGSAVYYANSVKG** (SEQ ID NO:131)

sdCDR3 **NRQGRALVRKEFYDY** (SEQ ID NO:132)

αLyPD3 h840 sdAb (Pro980)

QVQLLESGGGKLVQPGGSLRLSCVVS**GDTSSIYLMG**WYRQTPGKQRELVA**HIRGNGRTNYADSVKGR**FR
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCN**RNFWGSAEY**WGQGLTLTVSS (SEQ ID NO:133)

sdCDR1 **GDTSSIYLMG** (SEQ ID NO:134)

sdCDR2 **HIRGNGRTNYADSVKG** (SEQ ID NO:135)

sdCDR3 **RNFWGSAEY** (SEQ ID NO:136)

αLyPD3 h885 sdAb (Pro981)

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVAS**RGTFSRYSMG**WFRQAPGKEREFV**GRISWSGDMTYADSVKGR**
FTSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAS**STLGYVWNHPNMYGY**WGHGTLTVSS (SEQ ID
NO:137)

sdCDR1 **RGTFSRYSMG** (SEQ ID NO:138)

sdCDR2 **RISWSGDMTYADSVKG** (SEQ ID NO:139)

sdCDR3 **STLGYVWNHPNMYGY** (SEQ ID NO:140)

αHer-2 1054 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLILSCAAS**GRTFSNYAMG**WFRQAPGKEREFVA**AINWSGTHTDYADSVKG**
RFTISRDNVKTLYLQMNSLKPEDTATYFC**SRGWSVFDPDY**RGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:141)

sdCDR1 **GRTFSNYAMG** (SEQ ID NO:142)

sdCDR2 **AINWSGTHTDYADSVKG** (SEQ ID NO:143)

sdCDR3 **GWSVFDPDY** (SEQ ID NO:144)

Фиг. 5I

αHer-2 1055 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVAA**AINWSGTHHTNYADSVKGRF**
TISRDNVKNVTYLLQMNLSLKPEDTATYFCSR**GWSVFDPDYR**GGGTQVTSS (SEQ ID NO:145)
sdCDR1 **GRAISSYAIS** (SEQ ID NO:146)
sdCDR2 **AINWSGTHHTNYADSVKG** (SEQ ID NO:147)
sdCDR3 **GWSVFDPDYR** (SEQ ID NO:148)

αHer-2 1058 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCAAS**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVAA**AINWSGTHHTNYADSVKGRF**
TISRDNVKNVTYLLQMNLSLKPEDTATYFCSR**GWSVFDPDYR**GGGTQVTSS (SEQ ID NO:149)
sdCDR1 **GRAISSYAIS** (SEQ ID NO:150)
sdCDR2 **AINWSGTHHTNYADSVKG** (SEQ ID NO:151)
sdCDR3 **GWSVFDPDY** (SEQ ID NO:152)

αHer-2 1059 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCAAS**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVAA**AINWSGTHHTDYADSVKGRF**
TISRDNVKNVTYLLQMNLSLKPEDTAVYFCSR**GWSVFDPDYR**GGGTQVTSS (SEQ ID NO:153)
sdCDR1 **GRAISSYAIS** (SEQ ID NO:154)
sdCDR2 **AINWSGTHHTDYADSVKG** (SEQ ID NO:155)
sdCDR3 **GWSVFDPDY** (SEQ ID NO:156)

αHer-2 1065 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVAA**AINWSGTHHTNYADSVKGRF**
TISRDNVKNVTYLLQMNLSLKPEDTATYFCSR**GWSVFDPDYR**GGGTQVTSS (SEQ ID NO:157)
sdCDR1 **GRAISSYAIS** (SEQ ID NO:158)
sdCDR2 **AINWSGTHHTNYADSVKG** (SEQ ID NO:159)
sdCDR3 **GWSVFDPDY** (SEQ ID NO:160)

αHer-2 1090 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVAA**AINWSGTHHTNYADSVKGRF**
TISRDNVKNVTYLLQMNLSLKPEDTATYFCSR**GWSLFDPDYR**GGGTQVTSS (SEQ ID NO:161)
sdCDR1 **GRAISSYAIS** (SEQ ID NO:162)
sdCDR2 **AINWSGTHHTNYADSVKG** (SEQ ID NO:163)
sdCDR3 **GWSLFDPDY** (SEQ ID NO:164)

Фиг. 5J

αHer-2 1091 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFDDYAMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTDYADSVKG**
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLKSEDSAVYYCVK**GWRLTGGYYDSV**QGGGTQVTSS (SEQ ID NO:165)

sdCDR1 **GFTFDDYAMS** (SEQ ID NO:166)

sdCDR2 **SINWSGHTDYADSVKG** (SEQ ID NO:167)

sdCDR3 **GWRLTGGYYDSV** (SEQ ID NO:168)

αHer-2 1092 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGASLRLSCAAS**GFTFDDYALS**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTDYADSVKG**
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLKSEDSAVYYCVK**GWRLTGGYYDSV**QGGGTQVTSS (SEQ ID NO:169)

sdCDR1 **GFTFDDYALS** (SEQ ID NO:170)

sdCDR2 **SINWSGHTDYADSVKG** (SEQ ID NO:171)

sdCDR3 **GWRLTGGYYDSV** (SEQ ID NO:172)

αHer-2 1097 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFIFDDYAMT**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTDYADSVKG**
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLKSEDSAVYYCVK**GWRHTDNYYAGV**QGGGTQVTSS (SEQ ID
 NO:173)

sdCDR1 **GFIFDDYAMT** (SEQ ID NO:174)

sdCDR2 **SINWSGHTDYADSVKG** (SEQ ID NO:175)

sdCDR3 **GWRHTDNYYAGV** (SEQ ID NO:176)

αHer-2 1118 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GFTFDDYAMS**WVRQTPGKGLEWVSS**SINWSGHTNYADSVKG**
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLKSEDTAVYYCARG**GWMVVPDST**RGQGTQVTSS (SEQ ID NO:177)

sdCDR1 **GFTFDDYAMS** (SEQ ID NO:178)

sdCDR2 **SINWSGHTNYADSVKG** (SEQ ID NO:179)

sdCDR3 **GWMVVPDST** (SEQ ID NO:180)

αHer-2 1121 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GFIFSDYAMT**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTNYADSVKG**
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLKSEDTAVYYCARG**GWMVVPDST**RGQGTQVTSS (SEQ ID NO:181)

sdCDR1 **GFIFSDYAMT** (SEQ ID NO:182)

sdCDR2 **SINWSGHTNYADSVKG** (SEQ ID NO:183)

sdCDR3 **GWMVVPDST** (SEQ ID NO:184)

Фиг. 5K

αHer-2 1134 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRIFSAAVMA**WYRQPPGEQRELVA**SITHRGFTRYADSVKDRFT**
 ISRDNVNNTMYLQMNRLSPEDTAIYYCRL**LNGDY**WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:185)

sdCDR1 **GRIFSAAVMA** (SEQ ID NO:186)

sdCDR2 **SITHRGFTRYADSVKD** (SEQ ID NO:187)

sdCDR3 **LNGDY** (SEQ ID NO:188)

αHer-2 1138 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFDDYAMS**WVRQAPGKEMEWV**GINWSGTHTRYADSVK**
GRFTISRDNAKNTLDLQMNSLISEDTAIYYCARG**GFAADSRST**RGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:189)

sdCDR1 **GFTFDDYAMS** (SEQ ID NO:190)

sdCDR2 **GINWSGTHTRYADSVKG** (SEQ ID NO:191)

sdCDR3 **GFAADSRST** (SEQ ID NO:192)

αHer-2 1139 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFDDYAMS**WIRQAPGKEMEWV**GINWSGTHTRYADSVK**
GRFTISRDNAKNTLDLQMNSLISEDTAIYYCARG**GFAADSRST**RGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:193)

sdCDR1 **GFTFDDYAMS** (SEQ ID NO:194)

sdCDR2 **GINWSGTHTRYADSVKG** (SEQ ID NO:195)

sdCDR3 **GFAADSRST** (SEQ ID NO:196)

αHer-2 1140 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVAS**GFTFDDYAMS**WVRQAPGKEMEWV**GINWSGTHTRYADSVK**
GRFTISRDNAKNTLDLQMNSLISEDTAIYYCARG**GFAADSRST**RGQGTQVTVSS (SEQ ID NO:197)

sdCDR1 **GFTFDDYAMS** (SEQ ID NO:198)

sdCDR2 **GINWSGTHTRYADSVKG** (SEQ ID NO:199)

sdCDR3 **GFAADSRST** (SEQ ID NO:200)

αHer-2 1145 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRIFKNYPMG**WFRQPPGKDFEVA**AITSSGGTTHYRDSVKGR**
 FTISRDNKNTVYLQMNSLKPDDTAIYYCAG**SSTPWDIPLGPNEVGY**WGQGTQVTVSS (SEQ ID
 NO:201)

sdCDR1 **GRIFKNYPMG** (SEQ ID NO:202)

sdCDR2 **AITSSGGTTHYRDSVKGR** (SEQ ID NO:203)

sdCDR3 **SSTPWDIPLGPNEVGY** (SEQ ID NO:204)

Фиг. 5L

αHer-2 1146 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLCAAS**GRIFKNYPMG**WFRQPPGKDRFVA**AITSSGGTTPYRDSVKGRF**
TISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAG**SSTPWDIPLGPNEVGF**WGQGTQVTSS (SEQ ID NO:205)

sdCDR1 **GRIFKNYPMG** (SEQ ID NO:206)

sdCDR2 **AITSSGGTTPYRDSVKG** (SEQ ID NO:207)

sdCDR3 **SSTPWDIPLGPNEVGF** (SEQ ID NO:208)

αHer-2 1149 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLSCVAS**GNIFGFNVMG**WYRQVPGKQRELVA**ISTGGRSTDYADSAKGRF**
TISRNNAKDTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKM**TMASSDY**WGQGTQVTSS (SEQ ID NO:209)

sdCDR1 **GNIFGFNVMG** (SEQ ID NO:210)

sdCDR2 **ISTGGRSTDYADSAK** (SEQ ID NO:211)

sdCDR3 **TMASSDY** (SEQ ID NO:212)

αHer-2 1150 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLSCVAS**GNIFGFNVMG**WYRQVPGKQRELVA**ISTGGGSTNYADSAKGRF**
TVSRNNAKDTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKM**TMASVDY**WGQGTQVTSS (SEQ ID NO:213)

sdCDR1 **GNIFGFNVMG** (SEQ ID NO:214)

sdCDR2 **ISTGGGSTNYADSAK** (SEQ ID NO:215)

sdCDR3 **TMASVDY** (SEQ ID NO:216)

αHer-2 1156 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLKVS CAAS**RNIGSNYAVG**WFRQAPGKEREPVA**ALRWGSIIGYDDSLRGR**
FTISKDDAKNTVYLQMNSLKPEDTGYYCAAR**RILDRSSYDY**WGQGTQVTSS (SEQ ID NO:217)

sdCDR1 **RNIGSNYAVG** (SEQ ID NO:218)

sdCDR2 **ALRWGSIIGYDDSLRG** (SEQ ID NO:219)

sdCDR3 **RILDRSSYDY** (SEQ ID NO:220)

αHer-2 1158 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRSLSCTAS**GRTFSSYAMG**WFRQAPEKEREVA**AITWSSGGTTHYAESVKGR**
FTISRDNAKNTVYLQMNTPEDTAVYYCAAR**RINYSTISSNEKMYHY**WGQGTQVTSS (SEQ ID NO:221)

sdCDR1 **GRTFSSYAMG** (SEQ ID NO:222)

sdCDR2 **AITWSSGGTTHYAESVKG** (SEQ ID NO:223)

sdCDR3 **RINYSTISSNEKMYHY** (SEQ ID NO:224)

Фиг. 5М

αHer-2 1159 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCATSGRTFSSLAMGWFRQAPGKERELVAGISWSGSTTYYADSVKGR
FAISRDNAKNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCAARTSSSIATIGREYDYWGQGTQVTSS (SEQ ID
NO:225)

sdCDR1 **GRTFSSLAMG** (SEQ ID NO:226)

sdCDR2 **GISWSGSTTYYADSVKG** (SEQ ID NO:227)

sdCDR3 **RTSSSIATIGREYDY** (SEQ ID NO:228)

αHer-2 1160 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSNERLGWFRQAPGKERELVAAIRWSGVIIGYADSVRGRF
TISRDNASTVYLQMNLSLKPEDTAVYFCAADRGVYGTWDYWGQGTQVTSS (SEQ ID NO:229)

sdCDR1 **GRTFSNERLG** (SEQ ID NO:230)

sdCDR2 **AIRWSGVIIGYADSVRG** (SEQ ID NO:231)

sdCDR3 **DRGVYGTWDY** (SEQ ID NO:232)

αHer-2 1161 sdAb

QVQLQESGGGLVQPGKSLRLSCAVSGDIFGTYGMAWYRQAPGKQREPVAISIGGIINYADSVKGRFTI
SRDNVKNNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCKLLDWNYWGRGTQVTSS (SEQ ID NO:233)

sdCDR1 **GDIFGTYGMA** (SEQ ID NO:234)

sdCDR2 **SISIGGIINYADSVKG** (SEQ ID NO:235)

sdCDR3 **LDWNY** (SEQ ID NO:236)

αHer-2 1162 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRPFSGNAMGWFRQAPGKEREFVA AISWSGDSTYYADSVKGR
RFTISRDNNDENTAYLQMNLSLKPEDTAVYYCAARTSFYSRTYYTRPSDYNWGPQTQVTSS (SEQ ID
NO:237)

sdCDR1 **GRPFSGNAMG** (SEQ ID NO:238)

sdCDR2 **AISWSGDSTYYADSVKG** (SEQ ID NO:239)

sdCDR3 **TRSFYSRTYYTRPSDYN** (SEQ ID NO:240)

αHer-2 1163 sdAb

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRRFNMYFMGWFRQAPGKEREFVALLRESGDNTYYTNSVKGR
FTISRDNARNTVYLQMNLSLKPEDTAVYYCAARLDTGFLYSANSYAYWGQGTQVTSS (SEQ ID
NO:241)

sdCDR1 **GRRFNMYFMG** (SEQ ID NO:242)

sdCDR2 **LLRESGDNTYYTNSVKG** (SEQ ID NO:243)

sdCDR3 **RLDTGFLYSANSYAY** (SEQ ID NO:244)

Фиг. 6

**αHSA, домен продления периода полужизни
(αHSA (10GE))**

EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPGKGLEWV**SISGSGRDTL**
YAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPETA**VYYCTIGGSLSV**SSQGTLVTVSS (SEQ ID
NO:245)

sdCDR1 **GFTFSKFGMS** (SEQ ID NO:246)
sdCDR2 **SISGSGRDTLYAESVKG** (SEQ ID NO:247)
sdCDR3 **GGSLSV** (SEQ ID NO:248)

**αHSA, домен продления периода полужизни с
меткой His**

EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WWRQAPGKGLEWV**SISGSGRDTL**
YAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPETA**VYYCTIGGSLSV**SSQGTLVTVSS/HHHHH
H (SEQ ID NO:249)

sdCDR1 **GFTFSKFGMS** (SEQ ID NO:250)
sdCDR2 **SISGSGRDTLYAESVKG** (SEQ ID NO:251)
sdCDR3 **GGSLSV** (SEQ ID NO:252)

Фиг. 7А

Домены α CD3 scFv α CD3 V_L

QTVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTC~~ASSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGT
 PARFSGSLLGGKAAL~~TL~~SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL (SEQ ID
 NO:254)

aVLCDR1 ASSTGAVTSGNYPN (SEQ ID NO:255)

aVLsdCDR2 GTKFLVP (SEQ ID NO:256)

aVLsdCDR3 TLWYSNRWV (SEQ ID NO:257)

 α CD3 V_{Li}

QTVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTC~~GSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDK
 GTPARFSGSLLGGKAAL~~TL~~SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL (SEQ ID
 NO:258)

iVLCDR1 GSSTGAVTSGNYPN (SEQ ID NO:259)

iVLsdCDR2 DYKDDDDK (SEQ ID NO:260)

iVLsdCDR3 VLWYSNRWV (SEQ ID NO:261)

 α CD3 V_{Li2}

QTVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTC~~GSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKDDAPG
 TPARFSGSLLGGKAAL~~TL~~SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL (SEQ ID
 NO:262)

iVLCDR1 GSSTGAVTSGNYPN (SEQ ID NO:263)

iVLsdCDR2 GTKDDAP (SEQ ID NO:264)

iVLsdCDR3 VLWYSNRWV (SEQ ID NO:265)

 α CD3 V_{Li}GL

QTVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTC~~GSSTGAVTSGHYPNWWQKPGQAPRGLIGGTSNKHSW
 TPARFSGSLLGGKAAL~~TL~~SGVQPEDEAEYYCVLWGSRRWVFGGGTKLTVL (SEQ ID
 NO:266)

aV_{Li}GLCDR1 GSSTGAVTSGHYPN (SEQ ID NO:267)

aV_{Li}GLCDR2 GTSNKHS (SEQ ID NO:268)

aV_{Li}GLCDR3 VLWGSRRWV (SEQ ID NO:269)

Фиг. 7B

 α CD3 V_H

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT
 YYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGT
 LTVSS (SEQ ID NO:270)

aVHCDR1 GFTFNKYAIN (SEQ ID NO:271)
 aVHsdCDR2 RIRSKYNNYATYYADQVKD (SEQ ID NO:272)
 aVHsdCDR3 HANFGNSYISYWAY (SEQ ID NO:273)

 α CD3 V_{HI}

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKD
 DDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQ
 GTLTVSS (SEQ ID NO:274)

iVHsdCDR1 GFTFNKYAMN (SEQ ID NO:275)
 iVHsdCDR2 RIRSKYDYKDDDDKADSVKD (SEQ ID NO:276)
 iVHsdCDR3 HGNFGNSYISYWAY (SEQ ID NO:277)

 α CD3 V_{HI2}

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKHAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYA
 TAYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT
 LTVSS (SEQ ID NO:278)

iVHsdCDR1 GFTFNKHAMN (SEQ ID NO:279)
 iVHsdCDR2 RIRSKYNNYATAYADSVKD (SEQ ID NO:280)
 iVHsdCDR3 HGNFGNSYISYWAY (SEQ ID NO:281)

 α CD3 V_{HiGL4}

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSGYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKANSYA
 TEYAASVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNAGNSAISYWAYWGQG
 TLTVSS (SEQ ID NO:282)

aVHiGL4CDR1 GFTFSGYAMN (SEQ ID NO:283)
 aVHiGL4CDR2 RIRSKANSYATEYAASVKD (SEQ ID NO:284)
 aVHiGL4CDR3 HGNAGNSAISYWAY (SEQ ID NO:285)

Обычный/нерасщепляемый линкер Линкеры α CD3 scFv

GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:286)

Ограниченный линкер

GGGSGGGGS (SEQ ID NO:287)

Фиг. 8А

Расщепляемые линкеры (сайт распознавания выделен жирным шрифтом, сайт расщепления выделен "/>")

MMP 2/9

GPAG/MKGL (SEQ ID NO:339)

SGGPGPAG/MKGLPGS (SEQ ID NO:340)

SGGGPGPAG/MKGLPGGS (SEQ ID NO:341)

Меприн А/В

GGGGKKLA/DEPEGGGS (SEQ ID NO:342)

SGGGKKLA/DEPEGGGS (SEQ ID NO:343)

KKLA/DEPE (SEQ ID NO:344)

Меприн А/В (вариант, высокая эффективность)

GGGKFLA/DEPEGG (SEQ ID NO:345)

Катепсин S, K, L

GGGARLQ/SAAPGGGS (SEQ ID NO:346)

SGGGARLQ/SAAPGGGS (SEQ ID NO:347)

ARLQ/SAAP (SEQ ID NO:348)

Меприн/Гранзим В

SGGGGVYADSLEDGGGGS (SEQ ID NO:349)

GVYADSLEDG (SEQ ID NO:350)

Матриптаза/uPA (MS)

GGGSLSGR/SDNHGGGS (SEQ ID NO:351)

GLSGR/SDNHG (SEQ ID NO:352)

Матриптаза (MV)

SGGGSFTR/QARVVGGS (SEQ ID NO:353)

SFTR/QARVV (SEQ ID NO:354)

Катепсин S/MMP9/Меприн А

ARLQ/SAAPAG/LKGA (SEQ ID NO:355)

GARLQ/SAAPAG/LKGAG (SEQ ID NO:356)

Фиг. 8В

MMP9 (вариант, высокая эффективность)

GGPGPAG/MHGLPG (SEQ ID NO:357)

GSGGPGPAG/MHGLPGGS (SEQ ID NO:358)

MMP9 (вариант, низкая эффективность)

GGPGPAG/MEGLPG (SEQ ID NO:359)

MMP9-15 (K>E)

SGGPGPAG/MEGLPGS (SEQ ID NO:360)

MMP9-15 (M>P)

SGGPGPAG/PKGLPGS (SEQ ID NO:361)

Расщепляемые линкеры (сайт распознавания выделен жирным шрифтом, сайт расщепления выделен "/")

Тромбин 1

GGGGLVPR/GSLGGGGS (SEQ ID NO:362)

Тромбин 2

SSGGGMPR/SFRGGGS (SEQ ID NO:363)

Энтерокиназа/Flag

GGGGDYKDDDDK/GGGS (SEQ ID NO:364)

KLK7-6

SGGGQNPY/SAGRGGGS (SEQ ID NO:365)

KLK7-13

SGGGQNPY/SAGGGSSG (SEQ ID NO:366)

KLK7-11

SGGGRNVY/SAGGGSSG (SEQ ID NO:367)

KLK7-10

SGGGQNTW/SAGKGGGS (SEQ ID NO:368)

uPA

GGGSHTR/SAYFGGGS (SEQ ID NO:369)

MMP9-2

SGGPGPAG/LKGAPGS (SEQ ID NO:370)

Фиг. 8С

Протеаза	Последовательность домена расщепления	SEQ ID NO:
MMP7	KRALGLPG	371
MMP7	(DE) ₈ RPLALWRS(DR) ₈	372
MMP9	PR(S/T) (L/I)(S/T)	373
MMP9	LEATA	374
MMP11	GGAANLVRGG	375
MMP14	SGRIGFLRTA	376
MMP	PLGLAG	532
MMP	PLGLAX	533
MMP	PLGC(ME)AG	534
MMP	ESPAYYTA	535
MMP	RLQLKL	377
MMP	RLQLKAC	378
MMP2, MMP9, MMP14	EP(CIT)G(HOF)YL	379
Урокиназный активатор плазминогена (uра)	SGRSA	380
Урокиназный активатор плазминогена (uра)	DAFK	381
Урокиназный активатор плазминогена (uра)	GGGRR	382
Лизосомальный фермент	GFLG	383
Лизосомальный фермент	ALAL	384
Лизосомальный фермент	FK	385
Катепсин В	NLL	386
Катепсин D	PIC(ET)FF	387
Катепсин К	GGPRGLPG	388
Простатспецифический антиген	HSSKLQ	389
Простатспецифический антиген	HSSKLQL	390
Простатспецифический антиген	HSSKLQEDA	391
Протеаза вируса простого герпеса	LVLASSFGY	392
Протеаза ВИЧ	GVSQNYPIVG	393
Протеаза ЦМВ	GWQASCRLA	394

Фиг. 8D

Протеаза	Последовательность домена расщепления	SEQ ID NO:
Тромбин	F(PIP)RS	395
Тромбин	DPRSFL	396
Тромбин	PPRSFL	397
Каспаза-3	DEV D	398
Каспаза-3	DEVDP	399
Каспаза-3	KGSGDVEG	400
Интерлейкин-1 β -конвертирующий фермент	GWEHDG	401
Энтерокиназа	EDDDDKA	402
Фар	KQEQNPGST	403
Калликреин 2	GKAFRR	404
Плазмин	DAFK	405
Плазмин	DVLK	406
Плазмин	DAFK	407
Тор	ALLLALL	408

Фиг. 9А

Pro140 (моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, двумя линкерами MMP9), формат 1

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVS**GISWRGDSTGYADSVKGR**
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRISKYNNYATYYADQVKD**
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/**GPAGMKGL**/
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT PARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVS**GISWRGDSTGYADSVKGR**RFTISRDNANTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT PARFSGSLLGGKAALTLSG
 VQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFT**
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRISKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSS**SISGSRDTLYAESVKGR**RFTISRDNANTLYLQMNLSRPEDTAVY
 YCT**IGGSLV**SSQGTQVTVSS (SEQ ID NO:409)

Pro140b (моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, двумя линкерами меприн), формат 1

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVS**GISWRGDSTGYADSVKGR**
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRISKYNNYATYYADQVKD**
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/**KKLADEPE**/QT
 VVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT PARFSGSLLGG
 KAALTLSGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLT
 CAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVS**GISWRGDSTGYADSVKGR**RFTISRDNANTVDLQMNLSK
 EDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/**GGGSKKLADEPEGGGS**/QVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT PARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTF**
NKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRISKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
 VYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSS**SISGSRDTLYAESVKGR**RFTISRDNANTLYLQMNLSRPEDTAVY
 YCT**IGGSLV**SSQGTQVTVSS (SEQ ID NO:410)

Фиг. 9В

Pro186 (моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, линкер – MMP9), формат 2

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSG
 VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNLSRPEDTAVY
 YCTGGSLSVSSQGTTLTVSS (SEQ ID NO:411)

Pro187 (моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, линкер – меприн), формат 2

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSKKLADPEGGGS/QTVVTQEPSLTV
 SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSG
 VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNLSRPEDTAVY
 YCTGGSLSVSSQGTTLTVSS (SEQ ID NO:412)

Фиг. 9С

Pro225 (моноспецифическая FL aB7H3 hF7, линкер – MMP9), формат 2

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGG
 TVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
 AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:413)

Pro226 (моноспецифическая FL aB7H3 hF12, линкер – MMP9), формат 2

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGRF
 TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGVLAAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTIS
 RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVT
 QEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGKAA
 LTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCE
 ASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA
 VYYCAAGGVLAAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTL
 CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEY
 YCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNW
 VRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN
 FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMS
 WVRQAPGKGLEWVSSISGSRDLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVS
 SQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:414)

Фиг. 9D

Pro233 (гуманизированная Pro186, моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, линкер – MMP9), формат 2

QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSC
 AASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAED
 TALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED
 EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYA
 MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV
 RHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFSK
 FGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG
 SLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:415)

Pro311 (моноспецифическая FL aFOLR1 h77.2, линкер – MMP9), формат 2

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS AASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTIS
 RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
 PGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYL
 QMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED
 EAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS AASGFTVSNV
 MAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIY
 WGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQ
 KPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL
 TVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY
 DYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTV
 TVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISG
 SGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH
 (SEQ ID NO:416)

Фиг. 9Е

Pro312 (моноклифическая FL аFOLR1 h59.3, линкер – MMP9)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAPGNTFSISAMGWYRQAPGKQREWVAVTHSDYSTNYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKHYGIDYWGQGTLLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
PGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAY
LQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPG
GTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED
EAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAPGNTFSISA
MGWYRQAPGKQREWVAVTHSDYSTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKHYGI
DYWGQGTLLTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNW
VQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG
TKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIR
SKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT
LLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSI
SGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGTLLTVSS/HHHHHH
(SEQ ID NO:417)

Pro313 (моноклифическая FL аFOLR1 h22.4, линкер – MMP9), формат 2

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGTTFSRDVMGWYRQAPGKQRELVAIISRGGSTNYADSVKGRFTI
SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNANTATWGRVFWGQGTLLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGG
GLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSK
NTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTV
VSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
QPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGTTFS
RDVMGWYRQAPGKQRELVAIISRGGSTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNAN
TATWGRVFWGQGTLLTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG
NYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRW
VFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLE
WVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA
YWGQGTLLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGK
LEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGTLLTVSS/
HHHHHH (SEQ ID NO:418)

Фиг. 9F

Pro246 (гетероспецифическая COBRA FL haEGFR1/haEGFR2, линкер – MMP9)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAINWSSGSTYYADSVKGRF
 TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGYQINSGNYNFKDYEDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLVESGGGVVRPGGSLT
 LSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR
 AEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKLPGS**/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQ
 PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK
 YAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF
 SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:419)

Pro256 (гетероспецифическая COBRA FL haEpCAM VIB13/haEGFR1, линкер – MMP9)

QVQLVESGGGLVQPGGSLTSCAASGTGSIFSINLMGWYRQAPGKQRELVARITSGDSTVYADSVKGRF
 TISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCNLLLRSSPGATTPYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVES
 GGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDD
 SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLS
 GVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLVESGGGVVRPGGSLTSCAASGR
 TSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYY
 CAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC
 GSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
 CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWR
 RQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF
 GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSW
 VRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQ
 GLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:420)

Фиг. 9G

Pro420 (гетероспецифическая COBRA FL aFOLR1 h77.2/haEGFR1, линкер – MMP9)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLS
CAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN
NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPG
GTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL
SGVQPEDAEYCYTLWYSNRWVFGGGLKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGVVRRP
GGSLTLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDN
AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**
/QTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLKLTVL/**GGGSGGGS**
/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDK
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN
NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
PGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISR
DNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:421)

Pro421 (гетероспецифическая COBRA FL haEGFR1/aFOLR1 h77.2, линкер – MMP9)

QVQLVESGGGVVRRPGGSLTLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
TISRDN
AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
TISRDDSKNTAYLQMN
NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSP
GGTTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL
SGVQPEDEAEYCYTLWYSNRWVFGGGLKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLS
CAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQ
EPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGLKLTVL/**GGGSGGGS**
/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDK
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN
NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
PGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISR
DNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:422)

Фиг. 9H

Pro393 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная COBRA с двумя aEGFR/D12, линкер – S9)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLGTVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
 AASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPE
 DTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GARLQSAAPAGLKGAG/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLGTVQ
 EDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
 AMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTLQMNLSRPEDEAEYYCTIG
 GSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:423)

Pro394 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная COBRA с двумя aEGFR/D12, линкер – ST14(MV))

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLGTVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
 AASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPE
 DTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSFTRQARVVGGGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLGTVQ
 EDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
 AMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTLQMNLSRPEDEAEYYCTIG
 GSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:424)

Фиг. 9I

Pro395 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная COBRA с двумя aEGFR/D12, линкер – CathS)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESSGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTLCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
 AASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNSLKP
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSARLQSAAPGGGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTLCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQ
 PEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKY
 AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLVSSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:425)

Pro396 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная COBRA с двумя aEGFR/D12, линкер – MMP9v)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESSGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTLCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
 AASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNSLKP
 EDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLTLCGSSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAASGFTF
 NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV
 YYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAASGF
 TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTYLQMNSLRPEDTAVYYC
 TIGGSLVSSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:426)

Фиг. 9J

Pro429 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная СОBRA с двумя аEGFR/D12, линкер – меприн/гранзим В)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
TISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
AASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPE
DTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/SGGGVYADSLDGGGS/QTVVTQEPSLTVSPG
GTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
VRHGFNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFS
KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNANTTLYLQMNLSRVEDTAVYYCTIG
GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:427)

Pro430 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная СОBRA с двумя аEGFR/D12, линкер – MMP9-2)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
TISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
AASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPE
DTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/SGGGPAGLKGAPGS/QTVVTQEPSLTVSPGG
TVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
VRHGFNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFS
KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNANTTLYLQMNLSRVEDTAVYYCTIG
GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:428)

Фиг. 9К

Pro431 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная COBRA с двумя aEGFR/D12, линкер – ST14(MS))

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCA
 AASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANKNTVDLQMNSLKP
 EDAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSLGRSDNHGGGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
 AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:429)

Pro258 (Pro186, моноспецифическая, однонацеленная COBRA с двумя aEGFR/D12, с одним доменом aEGFR и центральным доменом aHSA)

QVKLVESGGGVVPRGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/SGGPGPAGMKGLPGS/EVQLVESGGGLVQPG
 NSLRLSAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQM
 NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGA
 VTSNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS
 NRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGK
 GLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY
 WAYWGQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:430)

Фиг. 9L

Pro221 (Pro186, моноспецифическая COBRA с двумя aEGFR/D12, линкер – калликреин 7-6)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVEESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
 AASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNSLKP
 ETAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQTVSS/**SGGGQNPYSAGRGGGS**/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAALTLSGVQ
 PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK
 YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTF
 SKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLVSSQGTTLTVSS/HHHHH (SEQ ID NO:431)

Pro222 (Pro186, моноспецифическая COBRA с двумя aEGFR/D12, линкер – калликреин 7-13)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVEESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
 AASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNSLKP
 ETAIYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQTVSS/**SGGGQNPYSAGGGSGG**/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAALTLSGVQ
 PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK
 YAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTF
 SKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLTLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLVSSQGTTLTVSS/HHHHH (SEQ ID NO:432)

Фиг. 9М

Pro223 (Pro186, моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, линкер – калликреин 7-11)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDN
 KNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQP
 GGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLK
 TEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGG
 TKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTG
 YADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGRNVI**
SAGGSGGG/QTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLK
 SCAASGFTFNKYAMNWWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED
 TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSK
 FGMSSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQ
 GTLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:433)

Pro224 (Pro186, моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, линкер – калликреин 7-10)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDN
 KNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQP
 GGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLK
 TEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCAASSTGAV
 TSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGG
 TKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTG
 YADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGGQNT**
WSAGKGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCSSTGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT
 PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSL
 KLSCAASGFTFNKYAMNWWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
 DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSK
 KFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSS
 QGTLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:434)

Фиг. 9N

Pro254 (гетероспецифическая с aEGFR/hD12d и aEGFR/hG8, линкер – MMP9)

QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVESSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC
 AASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAINWSSGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT
 AVYYCAAGYQINSGNYNFKDYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
 AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:435)

Pro255 (гетероспецифическая с aEGFR/hD12d и aEpCAM hVIB12, линкер – MMP9)

QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVESSGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGLVQPGGSLTSC
 AASGTGSIFSINLMGWYRQAPGKQRELVARITSGDSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPED
 TAVYYCNLLLRSSPGATTPYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT
 CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY
 YCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNW
 VRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN
 FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMS
 WVRQAPGKGLEWVSSISGSRDLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVS
 SQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:436)

Фиг. 90

Pro262 (моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, активный доменный линкер – NCL15, линкер – MMP9)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNKNTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**
GGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARF
 SGSLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQT
 GGSRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQ
 MNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLGKKAAL
 TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA
 ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT
 EDTAVYYCVRHGFNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRISC
 AASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDT
 AVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHH (SEQ ID NO:437)

Pro356 (моноспецифическая с одним aEGFR/hG8, линкер – MMP9)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAINWSSGSTYYADSVKGRF
 TISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGYQINSGNYNFKDYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLV
 QPGNSLRISCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQ
 MNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSST
 GAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL
 WYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ
 APGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGFNGN
 SYISYWAYWGQGLTVTVSS/HHHHH (SEQ ID NO:438)

Фиг. 9P

Pro359 (моноклифическая с одним aB7H3/hF7, линкер – MMP9)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGSTVYADSVKGR
 FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVEGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLQSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/SGGPGPAGMKGLPGS/EVQLVEGGGLVQPG
 GNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQM
 NSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA
 VTSNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLQSGVQPEDEAEYYCWLWYS
 NRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVEGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGK
 GLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY
 WAYWGQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:439)

Pro364 (моноклифическая с одним aFOLR1/h59.3, линкер – MMP9)

QVQLVEGGGLVQPGGSLRLSCAAPGNTFSISAMGWYRQAPGKQREWVAVTHSDYSTNYADSVKGRF
 TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKHYGIDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVEGGGLVQ
 PGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAY
 LQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLQSGVQPE
 DEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/SGGPGPAGMKGLPGS/EVQLVEGGGLVQPGNSLRLSCAASG
 FTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYY
 CTIGGSLVSSQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV
 QKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLQSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTK
 LTVL/GGGSGGGS/EVQLVEGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSK
 YDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGL
 TVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:440)

Фиг. 9Q

Pro388 (моноспецифическая с одним аFOLR1/h77 -2, линкер – MMP9)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTIS
 RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVNCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQP
 GGSLLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYL
 QMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPED
 EAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASG
 FTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYY
 CTIGGSLVSSQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNWW
 QKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTAPRFGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK
 LTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSK
 YDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGL
 TVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:441)

Pro429 (Pro186, моноспецифическая с двумя аEGFR/D12, линкер – калликреин/гранзим B)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
 TISRDNKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTTLTCASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTC
 AASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNTVDLQMNSLKP
 EDAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQTVTVSS/**SGGGVYADSLEDGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTAPRFGSLLGGKAALTLSGVQP
 EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
 AMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG
 GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:442)

Фиг. 9R

Pro430 (Pro186, моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, линкер – MMP9-2)

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
TISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
TISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGK
AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCA
AASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPE
DTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**SGGPGPAGLKGAPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGG
TVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYC
VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFS
KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNLSRVEDTAVYYCTIG
GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:443)

Pro431 (Pro186, моноспецифическая с двумя aEGFR/D12, линкер – ST14(MS))

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
TISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
TISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGK
AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCA
AASGRTRSRYGMGWFRQAPGKEREFSVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMNLSKPE
DTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/**GGGSLGRSDNHGGGS**/QTVVTQEPSLTVSPG
GTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYC
VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFS
KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNLSRVEDTAVYYCTIG
GSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:444)

Фиг. 9S

Pro432 (гетероспецифическая с аЕрСАМ/hVIB13 и аEGFR/hG8, линкер – MMP9)

QVQLVESGGGLVQPGGSLTSCAASGTGSIFSINLMGWYRQAPGKQRELVARITSGDSTVYADSVKGRF
 TISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCNLLLRSSPGATTPTYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVES
 GGGVLPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDD
 SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTS
 GVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAASGR
 TFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAINWSSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 AAGYQINSGNYNFKDYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTL
 TCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAALTSGVQPEDEAE
 YYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMN
 WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH
 GNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFG
 MSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL
 VSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:445)

Pro448 (гетероспецифическая HemiCOBRA с аFOLR1/h77-2, аEGFR/hD12, линкер – MMP9, VH-VLi)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTIS
 RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QVKLVESGGGVV
 RPPGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYL
 QMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
 PGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAY
 LQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQE
 PSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAA
 LTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSC
 AASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDT
 AVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:446)

Фиг. 9Т

Pro449 (гетероспецифическая HemiCOBRA с aEGFR/hD12, aFOLR1/h77-2, линкер – MMP9, VH-VLi)

QVKLVESGGGVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
TISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/Q
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQ
GGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYL
QMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAAL
TLSGVQPEDEAEYYCWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA
ASGFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTA
VYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:447)

Pro450 (гетероспецифическая HemiCOBRA с aFOLR1/h77-2, aEGFR/hD12, линкер – MMP9, VL-VHi)

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTIS
RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QVKLVESGGGV
RPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYL
QMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGKFLVPGT PARFSGSLLGGKAAL
TLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAAS
GFTFNKYAMN WVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCA
ASGFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTA
VYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:448)

Фиг. 9U

Pro451 (гетероспецифическая HemiCOBRA с aEGFR/hD12, aFOLR1/h77-2, линкер – MMP9, VL-VHi)

QVKLVESGGGVVRPGGSLTSCAASGRTRSRYGMGWFRRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRF
TISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/Q
VQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLGTVQPE
DEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**SGGPGPAGMKGLPGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAAS
GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
ASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNKTLLYLQMNSLRPEDTA
VYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:449)

Pro479 (гетероспецифическая, однонацеленная, с двумя эпитопами, haB7H3/F7 и haB7H3/F12, линкер – MMP9)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGR
FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGK
AALTLGTVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
CEASPRFTSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGNTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCAAGGVLAAHNYEYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVT
LTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLGTVQPEDEA
EYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMN
WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH
GNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFG
MSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNKTLLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL
VSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:450)

Фиг. 9V

Pro480 (гетероспецифическая, однонацеленная, с двумя эпитопами, haB7H3/F12 и haB7H3/F7, линкер – MMP9)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPTSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWGGNTSYADSVKGRF
 TISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTIS
 RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTVVT
 QEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAA
 LTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 PSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFAVINWGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDT
 AVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTARFSGSLLGGKAAALTLGVQPEDE
 AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAM
 NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
 HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAASGFTFSKF
 GMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGS
 LSVSSQGLTVTVSS/HHHHH (SEQ ID NO:451)

Pro495 (моноспецифическая с двумя haB7H3/F7, линкер – MMP9, Vli2-Vhi2)

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFAVINWGGSTVYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRF
 TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFAVINWGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAE
 DTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGG
 TVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTDAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLGVQPED
 EAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKHA
 MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
 HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAASGFTFSKF
 GMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGRDTLYAESVKGRTISRDNKNTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGS
 LSVSSQGLTVTVSS/HHHHH (SEQ ID NO:452)

Фиг. 10А

Pro601

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli2 –NCL-8 - aCD3Vhi2 – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGTKDDAPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKHAMNWWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:522)

Pro602

aB7H3 hF12 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli2 –NCL-8 - aCD3Vhi2 – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWWVQKPGQAPRGLIGGTKDDAPGTPARFSGSLLGGKAALTLVSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKHAMNWWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:523)

Фиг. 10B

V3

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli2 –NCL-8 - aCD3Vhi2 – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGR
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFRTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGT PARFSGSLL
 GGKAALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGS
 LRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSEFVAAINWSSGNTSYADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKDDAPGT PARFSGSLLGGKAALTL SGVQ
 PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN
KHAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYADSVKDRFRTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVY
 YCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAASGFT
FSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVYYCT
IGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:524)

V4

aB7H3 hF12 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli2 –NCL-8 - aCD3Vhi2 – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSEFVAAINWSSGNTSYADSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFRT
 ISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGT PARFSGSLLGGK
 AALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRA
 EDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKDDAPGT PARFSGSLLGGKAALTL SGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK
AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYADSVKDRFRTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAASGFTFS
KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVYYCTIG
GSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:525)

Фиг. 10С

Pro664**aB7H3 hF12 (S59Y) sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTYYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLGVQPEDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTYYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCEASGFTF
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSRDTLYAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:526)

Pro665**aB7H3 hF12 (N57Q) sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGQTSYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLGVQPEDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGQTSYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCEASGFTF
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSRDTLYAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:527)

Фиг. 10D

Pro667

aB7H3 hF12 (N57E) sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb
 – MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGGETSYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGGETSYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCEASGFTF
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDTLAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:528)

Pro694

aB7H3 hF12 (S59A) sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb
 – MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGNTAYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGNTAYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCEASGFTF
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDTLAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:529)

Фиг. 10E

Pro695**aB7H3 hF12 (N57D) sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGDTSYADSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLVWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGDTSYADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGDKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCEASGFTF
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:530)

Pro766**aB7H3 hF12 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb****– NCL-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGNTYYADSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLVWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGNTYYADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE
 DTAVYYCAAGGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGGSGGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
 VTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGDKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCEASGFTF
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:531)

Фиг. 10F

Pro565

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG
/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/
QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLLESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN
SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSL
TVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALT
SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG
FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNKTE
DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMS
WVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL
SVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:288)

Pro566

acEpCAM hVIB665 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB665 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGHTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN
SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG
/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/
QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLLESGGGLVQPGGSL
RLSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGHTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN
SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSL
VSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALT
LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN
WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNKTED
TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMS
WVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL
SVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:289)

Фиг. 10G

Pro567

acEpCAM hVIB666 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB666 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPVKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVTGR
 FTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGRSL
 RLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPVKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVTGRFTISRDNKNSLYLQMNS
 LRAEDTALYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSL
 TVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTL
 SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG
FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
 DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSC
 AASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDT
 AVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:290)

Pro568

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb

– NCL-16 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPVKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPVKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN
 LRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGGGSGGGGS/QTVVTQEPS
 LTVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTL
 LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
 EDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSC
 AASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDT
 AVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:291)

Фиг. 10H

Pro727

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb
 – Meprin-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGT PARFSGSLL
 GGKAALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN
 SLRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGGKLADEPEGGS/QTVVTQEPSL
 TVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTL
 SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF
TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED
 TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA
SGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN
 SLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:292)

Pro728

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb
 – MMP9v - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGT PARFSGSLL
 GGKAALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN
 SLRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGG/SQTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAA
 LTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA
 ASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN
 NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRL
 SCAASSGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN
 SLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:293)

Фиг. 10I

Pro729

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb
 – CathS - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLDNYDMGWFRQGP GKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRISKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGRITLDNYDMGWFRQGP GKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN S
 LRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSARLQSAAPGGGS/QTVVTQEPS
 LTVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALT
 LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRISKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLK
 EDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLR LSC
 AASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDT
 AVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:294)

Pro730

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb
 – S9 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITLDNYDMGWFRQGP GKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRISKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGRITLDNYDMGWFRQGP GKEREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN S
 LRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GARLQSAAPAGLKGAG/QTVVTQEPS
 LTVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALT
 LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRISKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLK
 EDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLR LSC
 AASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDT
 AVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:295)

Фиг. 10J

Pro731

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb
– ST14-MS - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GRTLDNYDMG**WFRQPGKEREFVA**AISWSGGSTDYAYSVKGR**
FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAD**DLRFTGGDTMTPETYDY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**
/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVK**
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**/
QTVVTQEPLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLL
GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCT**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/QVQLLESGGGLVQPGGSL
RLSCAAS**GRTLDNYDMG**WFRQPGKEREFVA**AISWSGGSTDYAYSVKGR**RFTISRDNKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCAAD**DLRFTGGDTMTPETYDY**WGQGLTVTVSS/**GGGSLGRSDNHGGGS**/QTVVTQEPL
LTVSPGGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALT
LSGVQPEDEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNNLK
EDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRISC
AAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDT
AVYYCT**IGGSLV**SSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:296)

Pro676

aTrop2 hVIB565 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTrop2 hVIB565 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFDYYAIG**WFRQAPGKEREGVSC**ISSSHGSTYYADSVKGR**RFTI
SRDNKNTVYLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT**AGDGGDYHCSGLVDYGM**DYWGKGLTVTVSS/**GGGSGGG**
S/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQV**
KDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGG**
S/QTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGS
LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCT**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/QVQLLESGGGLVQPGG
SLRLSCAAS**GFTFDYYAIG**WFRQAPGKEREGVSC**ISSSHGSTYYADSVKGR**RFTISRDNKNTVYLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAT**AGDGGDYHCSGLVDYGM**DYWGKGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQE
PSLTVSPGGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAA
LTLSGVQPEDEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA
AS**GFTFNKYAMN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNNL
KTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRIL
SCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPE
DTAVYYCT**IGGSLV**SSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:297)

Фиг. 10K

Pro677

aTrop2 hVIB557 sdAb sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTrop2 hVIB557 sdAb sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKREFVSAISWTGANPTYADSVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYERATAETSYDYGQGLTVTVSS/GGGSGG
GS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQ
VKDRFTISRDSKNTAYLQMNNKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGG
GS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFS
GSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQ
GGSLRLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKREFVSAISWTGANPTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYERATAETSYDYGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLG
GKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLK
LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDSKNTAYLQ
MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQ
GNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQ
MNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:298)

Pro678

aTrop2 hVIB575 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTrop2 hVIB575 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCLASGRTVGRTAMGWFRQPPGKREFVATISWAGGTTYADFVKGR
FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAASSEPYSDYDPSGMVYWGKGLTVTVSS/GGGSGGGS/EV
QLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDR
FTISRDSKNTAYLQMNNKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QT
VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGG
KAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRL
SCLASGRTVGRTAMGWFRQPPGKREFVATISWAGGTTYADFVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA
EDTAVYYCAASSEPYSDYDPSGMVYWGKGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGG
TVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY
AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDSKNTAYLQMNNKTEDTAVYY
CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTF
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI
GGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:299)

Фиг. 10L

Pro679

aTrop2 hVIB578 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTrop2 hVIB578 sdAb
 – MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFGRAAMGWFRQPPGKEREFAATISWSGSNTYYADDFVKGR
 FTISRDNKNTVYLQMNLSRAEDTAVYYCAASEPYSDYDPSGMVYWGKGLTVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVEGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDR
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QT
 VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGG
 KAALTLGSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRL
 SCAASGRTFGRAAMGWFRQPPGKEREFAATISWSGSNTYYADDFVKGRRFTISRDNKNTVYLQMNLSR
 AEDTAVYYCAASEPYSDYDPSGMVYWGKGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQ
 PEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFN
KYAMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV
 YYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSRLSCLAASGF
TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSRDTLYAESVKGRRFTISRDNKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYC
 TIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:300)

Pro808

aTROP2 hVIB609 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTROP2 hVIB609 sdAb
 – MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCALSGTLFNTYPMAWFRQPPGQEREFVADMSWSGTNTYYADSVKGR
 RFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCAAGWPYSGTGRSTTDYTYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVK
DRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCALSGTLFNTYPMAWFRQPPGQEREFVADMSWSGTNTYYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCAAGWPYSGTGRSTTDYTYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSL
 TVSPGGTVTLTGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLG
 VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF
TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED
 TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSRLSCLAA
SGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSRDTLYAESVKGRRFTISRDNKTTLYLQMNLSRPEDTAV
 YYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:301)

Фиг. 10М

Pro819

aTROP2 hVIB619 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTROP2 hVIB619 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRSFSRYGMGWLRQAPGKERELVASISWSGHSTYYADSVKGRF
 TISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAESLPYEGSPRLTDFASWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDR
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QT
 VVTQEPLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGG
 KAALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRL
 SCAASGRSFSRYGMGWLRQAPGKERELVASISWSGHSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRA
 EDTAVYYCAAESLPYEGSPRLTDFASWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTVSP
 GGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF
NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
 VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPNSLRLSAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVY
 YCTGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:302)

Pro681

aTrop2 hVIB557 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTrop2 hVIB557 sdAb

– NCL-16 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKEREFVSAISWTGANPTYADSVKGR
 FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYERATAETSYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGG
GS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQ
VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGG
GS/QTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFS
 GSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQP
 GGSRLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKEREFVSAISWTGANPTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ
 MN SLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYERATAETSYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGGSGGGGS/QTV
 VTQEPLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQP
 GGSRLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ
 MN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQP
 GNSLRLSAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN
 SLRPEDTAVYYCTGGSLVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:303)

Фиг. 10N

Pro621

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb

– CathS-16 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAAL TSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSARLQSAAPGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAAL TSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSRLS CAASSGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:304)

Pro622

aB7H3 hF12 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb

– CathS-16 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAAL TSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSARLQSAAPGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAAL TSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSRLS CAASSGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:305)

Фиг. 100

Pro640**aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb****– MMP9v - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPS**RRTFHTYHMG**WFRQAPGKEREFVA**VINWSSGGSTVYADSVKG**
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAA**GGATTQRATEASYDY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVK**
DRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLL
 GGKAALTL SGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGGS
 LRLSCAPS**RRTFHTYHMG**WFRQAPGKEREFVA**VINWSSGGSTVYADSVKG**RFTISRDN SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCAA**GGATTQRATEASYDY**WGQGLTVTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPS
 LTVSPGGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTL
 LSGVQPEDEAEYY**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS
GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMN NLK
 EDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSC
 AAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**RFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDT
 AVYYCT**TIGGSL**SVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:306)

Pro641**aB7H3 hF12 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb****– MMP9v - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEAS**PRTFSTYSMA**WFRQAPGKERSFVA**AINWSSGGNTSYADSVKGR**
 FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAA**GGVLAHHNYEYDY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FT
 ISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGK
 AALTL SGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEAS**PRTFSTYSMA**WFRQAPGKERSFVA**AINWSSGGNTSYADSVKGR**RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAE
 DTAVYYCAA**GGVLAHHNYEYDY**WGQGLTVTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQ
 PEDEAEYY**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFN**
KYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAV
 YYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS**CAASGF**
TFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**RFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVYYC
TIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:307)

Фиг. 10P

Pro642

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb

– MMP9v - aCD3VIi2 – NCL-8 - aCD3Vhi2 – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGR
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGG/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
 DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGG/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSL
 LGGKAALTLQVPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGS
 LRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN
 SRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGTLLTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPS
 LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKDDAPGTPARFSGSLGGKAALTL
 SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG
 FTFNKHAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED
 TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA
 SGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTAV
 YYCTIGGSLVSSQGTLLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:308)

Pro643

aB7H3 hF12 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF12 sdAb

– MMP9v - aCD3VIi2 – NCL-8 - aCD3Vhi2 – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGVLAAHNYEYDYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGG/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGG/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLGGK
 AALTLQVPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
 CEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSSGGNTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMN
 SRAEDTAVYYCAAGGVLAAHNYEYDYWGQGTLLTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPSLTVSPG
 GTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKDDAPGTPARFSGSLGGKAALTLQVPE
 DEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK
 HAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATAYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFS
 KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLRPEDTAVYYCTIG
 GSLVSSQGTLLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:309)

Фиг. 10Q

Pro744

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb

– MMP9-15 (K->E) - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/ EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK DRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/ QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLL GGKAALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGS LRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN S LRAEDTAVYYCAAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMEGLPGS/QTVVTQEPSLTV SPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTL SG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDT AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAAS GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVY YCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:310)

Pro746

haB7H3 F7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - haB7H3 F7 sdAb

– MMP9-15 (M->P) - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/ EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK DRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/ QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT CASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLL GGKAALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGS LRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN S LRAEDTAVYYCAAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGPKGLPGS/QTVVTQEPSLTV SPGGTVTLT CGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTL SG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDT AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAAS GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVY YCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:311)

Фиг. 10R

Pro 108**aFOLR1 h77-2 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aFOLR1 h77-2 sdAb****– MMP9v - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNSVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTI
 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNRNFDRIYWGQGLVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQ
 PGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVROAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTA
 YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP
 EDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSN
SVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNRNFD
RIYWGQGLVTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYP
NWVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV
 FGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVROAPGKGLEWV
ARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY
 WGQGLVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVROAPGKGL
 EWVSSSISGSRDTLYAESVKGRRFTISRDNKTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLVTVSS/
 HHHHHH (SEQ ID NO:312)

Pro 109**aFOLR1 h59.3 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aFOLR1 h59.3 sdAb****– MMP9v - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAPGNTFSISAMGWYRQAPGKQREWVAVTHSDYSTNYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKHYGIDYWGQGLVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLV
 QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVROAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNT
 AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTV
 SPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAPGNTF
SISAMGWYRQAPGKQREWVAVTHSDYSTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCK
HYGIDYWGQGLVTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG
NYPNWVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNR
WVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVROAPGKGL
 EWVARIRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY
WAYWGQGLVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVROAP
 GKGLEWVSSSISGSRDTLYAESVKGRRFTISRDNKTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLVTV
 VSS/HHHHHH (SEQ ID NO:313)

Фиг. 10S

Pro396**aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb****– MMP9v-16 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGR**TSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAASGR**TSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRRFTISRDNANTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GSGGPGPAGMHGLPGGS/QTVVTQEPLS
 TVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTL
 SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASG
FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
 DTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSC
 AASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNANTLYLQMNLSRPEDT
 AVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:314)

Pro476**aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli2 – NCL-8 - aCD3Vhi2 – aHSA (10GE) - His6**

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGR**TSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPLSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAASGR**TSRSYGMG**WFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRRFTISRDNANTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLSLTVS
 PGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKDDAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF
NKHAMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATAYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAV
 YYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASG
FTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNANTLYLQMNLSRPEDTAVYYC
 TIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:315)

Фиг. 10Т

Pro706

aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb

– uPA - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) – His6

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRRFTISRDNANTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSHTRGSAYFGGGS/QTVVTQEPSLTV
 SPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGKAALTLSG
 VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAAS GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSR
 PEDTAVY YCTIGGSLSVSSQGTQVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:316)

Pro709

aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

EVQLVESGGGVVVRPAGGSLRLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGVVVRPAGGSLR
 LSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRRFTISRDNAKNSLYLQMNLSR
 AEDTALYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTF
NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAAS GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNLSR
 PEDTAVY YCTIGGSLSVSSQGTQVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:317)

Фиг. 10U

Pro470

aFOLR1 h77.2 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTI
 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQ
 PGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTA
 YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGKAALTLSGVQP
 EDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLVESGGGVVRPGGSLTLSCAASGRTSRSY
GMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAA
AGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSST
GAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL
WYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ
 APGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFG
NSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSW
 VRQAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSS
 QGTLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:318)

Pro471

aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aFOLR1 h77.2 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVKLVESGGGVVRPGGSLTLSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 KAALTLSGVQPEDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGFTVSNVMAWYRQTPGNEREFVAIINSIGITNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
 TAVYVCNRNFDRIYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTG
AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW
YSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAP
 GKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS
YISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVR
 QAPGKGLEWVSSISGSRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQ
 TLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:319)

Фиг. 10V

Pro551

EGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) – aFOLR1 h59.3 sdAb

– MMP9-16 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLR
 LSCAAPGNTFSISAMGWYRQAPGKQREWVAVTHSDYSTNYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCKHYGIDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSS
TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCV
LWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVR
 QAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF
GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMS
 WVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDTLYAESVKGRRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVS
 SQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:320)

Pro552

aFOLR1 h59.3 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) – EGFR sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAPGNTFSISAMGWYRQAPGKQREWVAVTHSDYSTNYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCKHYGIDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLV
 QPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNT
 AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTV
 SPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTS
RSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRRFTISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYC
 AAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT
GSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY
 YCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN
 WVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH
GNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFG
MSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDTLYAESVKGRRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL
 SVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:321)

Фиг. 10W

Pro623**aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRISKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTTPARFSGSLLG
 GKAALTLGVPQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGRTLNDYDMGWFRQGPQKREFVAAISWSGGSTDYAYSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLT
 VSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTL
 GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF
TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRISKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED
 TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA
SGFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAV
 YYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:322)

Pro624**aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB665 sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVKLVESGGGVVVRPGGSLTSCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRISKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTTPARFSGSLLG
 GKAALTLGVPQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPQKREFVAAISWSGGHTNYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLT
 VSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTL
 GVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF
TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRISKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED
 TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA
SGFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAV
 YYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:323)

Фиг. 10X

Pro698

acEpCAM hVIB665 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) – aEGFR sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GRTFSDYDMG**WFRQGPGRKREFVA**AISWSGGHTNYADSVKG**
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAD**LRFTGGDTTTPETYDY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVK**
DRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLL
 GGKAALTL SGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLVESGGGVVVRPGGSL
 TLSAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKREFV**SGISWRGDSTGYADSVKGR**FRTISRDN AKNSLYLQMNSL
 RAEDTALYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTL SG
 VQPEDEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFT**
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWV**SSISGSGRDTLYAESVKGR**FRTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVY
 YCT**IGGSL**VSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:324)

Pro655

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) – acEpCAM hVIB664 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSR**RRTFHTYHMG**WFRQAPGKREFVA**VINWSGGSTVYADSVKG**
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAA**GGATTQRATEASYDY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVK**
DRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLL
 GGKAALTL SGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAAS**GRTL DNYDMG**WFRQGPGRKREFVA**AISWSGGSTDYAYSVKGR**FRTISRDN SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCAA**DLRFTGGDTMTPETYDY**WGQGLTVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSL
 TVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTL
 SGVQPEDEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**G**
FTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTE
 DTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGS**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSC
 AAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGLEWV**SSISGSGRDTLYAESVKGR**FRTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDT
 AVYYCT**IGGSL**VSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:325)

Фиг. 10Y

Pro656

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB665 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/ EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/ QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLL GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPGRKREFVAISWSSGGHTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN S LRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLS G VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA SGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAV YYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:326)

Pro657

acEpCAM hVIB664 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - haB7H3 F7 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTLDNYDMGWFRQGPGRKREFVAISWSSGGSTDYAYSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK DRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/ QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLL GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGS LRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSSGGSTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN S LRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT FNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS SGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAV YCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:327)

Фиг. 10Z

Pro658**acEpCAM hVIB665 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - haB7H3 F7 sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPGRKEREVAAIWSGGHTNYADSVKG
RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGS
LRLSCAPSRRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREVAVINWSGGSTVYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTV
SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSG
VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDLYAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVY
YCTIGGSLSVSSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:328)

Pro516**aCA9 hVIB456 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aCA9 hVIB456 sdAb****– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSALIINAMGWYRQAPGKQRELVATVTRSGRTNYADSVKGRF
TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNVALWIADGEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVE
SGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRRFTISR
DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQ
EPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAAL
TLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGSALIINAMGWYRQAPGKQRELVATVTRSGRTNYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV
YYCNVALWIADGEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGS
STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC
VLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWV
RQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN
FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMS
WVRQAPGKGLEWVSSSISGGRDLYAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSV
SQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:329)

Фиг. 10AA

Pro517

aCA9 hVIB476 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aCA9 hVIB476 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GNIFIINVMG**WYRQAPGKQRELVA**TITNGGRTHYADSVKGRFT**
 ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNAN**NHIELGDY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGL
 VQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDRFT**ISRDDSKN
 TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLT
 VSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVL
 QPEDEAEYYCT**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GNIFI**
INVMGWYRQAPGKQRELVA**TITNGGRTHYADSVKGRFT**ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNA
NHIELGDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CGSSTGAVTSG**
NYPNWVQQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVLQPEDEAEYYC**VLWYSNR**
WVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAPGKGL
 EWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKD**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISY**
WAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQAP
 GKLEWVSS**SISGSRDTLYAESVKGRFT**ISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT**IGGSLSVSS**QGLTVT
 VSS/HHHHHH (SEQ ID NO:330)

Pro518

aCA9 hVIB407 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aCA9 hVIB407 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTAS**GIIFSVYDMG**WYRQTPGKQREFVAR**ITAGGGTYLTDSVKGRFTI**
 SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTGYYCNA**AWIGDDY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGL
 VQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDRFT**ISRDDSKN
 TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLT
 VSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVL
 QPEDEAEYYCT**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTAS**GIIFS**
VYDMGWYRQTPGKQREFVAR**ITAGGGTYLTDSVKGRFT**ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTGYYCNA
AWIGDDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CGSSTGAVTSG**
NYPNWVQQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLGVLQPEDEAEYYC**VLWYSNR**
WVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAPGKGL
 EWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKD**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISY**
WAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQAP
 GKLEWVSS**SISGSRDTLYAESVKGRFT**ISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT**IGGSLSVSS**QGLTVT
 VSS/HHHHHH (SEQ ID NO:331)

Фиг. 10BB

Pro519

aCA9 hVIB445 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aCA9 hVIB445 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGITFNLHAMRWYRRAPGKQRELVAYISARDWTNYADSVKGRF
 TISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCNTDLVGEDYWGRGTLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGL
 VQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKN
 TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLT
 VSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLGVL
 QPEDEAEYYCTVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGITF
NLHAMRWYRRAPGKQRELVAYISARDWTNYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCN
TDLVGEDYWGRGTLTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSG
NYPNWVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLGVLQPEDEAEYYCVLWYSNR
WVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL
 EWWARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY
WAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAP
 GKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVT
 VSS/HHHHHH (SEQ ID NO:332)

Pro513

aCA9 hVIB476 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aCA9 hVIB476 sdAb

– NCL-16 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFIINVMGWYRQAPGKQRELVATITNGGRTHYADSVKGRFT
 ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNANHIELGDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGL
 VQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKN
 TAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLT
 VSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLGVL
 QPEDEAEYYCTVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGNIFI
INVMGWYRQAPGKQRELVATITNGGRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNA
NHIELGDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGSGGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTS
GNYPNWVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLGVLQPEDEAEYYCVLWYSNR
WVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL
 EWWARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY
WAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAP
 GKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVT
 VSS/HHHHHH (SEQ ID NO:333)

Фиг. 10CC

Pro186

aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAASGRTSRSYGMGWWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMN
 SLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSG
 VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNSLRPEDTAVY
 YCTIGGSLVSSSQGTQVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:334)

Pro214

aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb

– NCL-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGR
 FTISRDNANTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAASGRTSRSYGMGWWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNANTVDLQMN
 SLKPEDTAIYYCAAAAGSAWYGTLYEYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGGSGGGGS/QTVVTQEPSLTV
 SPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSG
 VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNSLRPEDTAVY
 YCTIGGSLVSSSQGTQVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:335)

Фиг. 10DD

Pro225

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGSTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGS/QT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGSTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGTLLTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTLLY LQMNSLRPEDTAVYCTIGGSLSVSSQGTLLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:336)

Pro295

aB7H3 hF7 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aB7H3 hF7 sdAb

– NCL-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGSTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGS/QT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAPSRRTFHTYHMGWFRQAPGKEREFVAVINWSGGSTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGATTQRATEASYDYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGGGGGGGGS/QT VVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTLLY LQMNSLRPEDTAVYCTIGGSLSVSSQGTLLTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:337)

Фиг. 10EE

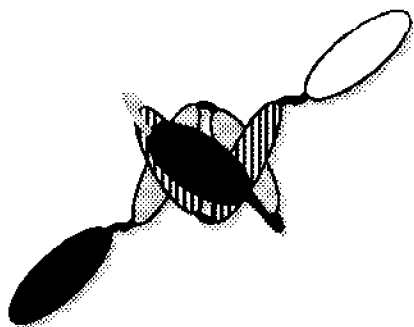
Pro 817

aEGFR sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) - aEGFR sdAb

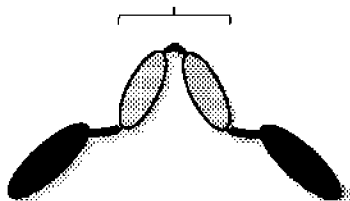
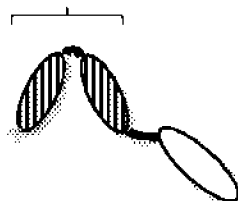
– MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – HSA

QVKLEESGGGSVQTGGSLRLTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFV**SGISWRGDSTGYADSVKGR**
 FTISRDNANTVDLQMNLSKPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF****FNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVKD**
 RFTISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**ASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLG
 GKAALTLSGVQPEDEAEYY**CTLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVKLEESGGGSVQTGGSLR
 LTCAAS**GRTSRSYGMG**WFRQAPGKEREFV**SGISWRGDSTGYADSVKGR**RFTISRDNANTVDLQMNLS
 KPEDTAIYYCAA**AAGSAWYGTLYEYDY**WGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSG
 VQPEDEAEYY**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF**
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDT
 AVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI
 AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAQK
 EPERNECFLQHKDDNPPLRVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAF
 TECCQAADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCASLQKGERAFKAWAVARLSQRFPAEFAEVSCLV
 TDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAA
 DFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYFYARRHPDYSVLLLRLLAKTYKTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFK
 PLVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
 AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKE
 RQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEFGKLVAAASRAALGL (SEQ
 ID NO:338)

Фиг. 11

Pro186 до расщепления

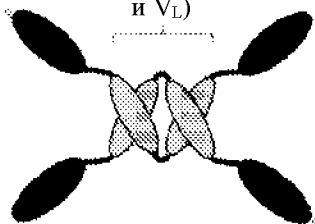
Связывает EGFR
Нарушенное
связывание CD3
Связывает альбумин
сыворотки крови

Прогнозируемые продукты расщепления Pro186αCD3 V_H и V_Lнеактивные V_H и V_L

+

Связывает EGFR
Нарушенное
связывание CD3

Агонист αCD3
(димер из αCD3 V_H
и V_L)



Связывает альбумин сыворотки крови

Связывает EGFR
Связывает CD3

Фиг. 12А

 α LyPD3 h787 COBRA

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTLDYYAIG**WFRQAPGKEHEAVS**CISSSDGSTYYADSVKGRFTI**
 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT**VKSCYSDGYALWGS**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQL
 VESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVKDRFTI**
 SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVV
 TQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKA
 ALTLSGVQPEDEAEYY**CTLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC
 AAS**GFTLDYYAIG**WFRQAPGKEHEAVS**CISSSDGSTYYADSVKGRFTI**SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA
 VYYCAT**VKSCYSDGYALWGS**WGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTL
 TC**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEA
 EYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAM**
NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKE**
GMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT**IGGS**
LSVSSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:453)

 α LyPD3 h790 COBRA

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTLDYYSIG**WFRQAPGKEREGVS**CISSSDGSTYYADSVKGRFTI**
 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT**VKSCYVDGYILWGS**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLV
 ESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVKDRFTI**
 RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVT
 QEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKA
 ALTLSGVQPEDEAEYY**CTLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC
 AAS**GFTLDYYSIG**WFRQAPGKEREGVS**CISSSDGSTYYADSVKGRFTI**SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA
 VYYCAT**VKSCYVDGYILWGS**WGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTL
 TC**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEA
 EYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAM**
NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKE**
GMSWVRQAPGKGLEWVSSISGGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCT**IGGS**
LSVSSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:454)

Фиг. 12B

αLyPD3 H804 COBRA

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEHEGVSCISSDGSTYYADSVKGRFTI
 SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCATVRSCASPYELGSWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESG
 GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDD
 SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAATL
 SGVQPEDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
FTLDYYAIGWFRQAPGKEHEGVSCISSDGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
 ATVRSCASPYELGSWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAGSSTG
AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAATLSGVQPEDEAEYYCVLW
YSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAP
 GKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS
YISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVR
 QAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDITAVYYCTIGGSLVSSQG
 TLTVSSHSHHHH (SEQ ID NO:455)

αLyPD3 h773 COBRA

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRSFSSYGMGWFRQAPGKEREIVAAISWGGSAVYYANSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAANRQGRALVRKEFYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAATLSGVQPEDEAEYYCTWLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGLVQPGGSLR
 LSCAASGRSFSSYGMGWFRQAPGKEREIVAAISWGGSAVYYANSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR
 AEDTAVYYCAANRQGRALVRKEFYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSTVSP
 GGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAATLSGV
 QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF
NKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
 VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPNSLRLSCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDITAVY
 YCTIGGSLVSSQGLTVSSHSHHHH (SEQ ID NO:456)

Фиг. 12С

αLyPD3 h840 COBRA

QVQLLESGGGKVQPGGSLRLSCVVSGDTSSIYLMGWYRQTPGKQRELVAHIRNGRNTNYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCNVRRNFWGSAEYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESG
GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRISKYNNYATYYADQVKDRRFTISRDD
SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAATL
SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGKVQPGGSLRLSCVVSG
DTSSIYLMGWYRQTPGKQRELVAHIRNGRNTNYADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY
CNVRRNFWGSAEYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCGSSTG
AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAATLSGVQPEDEAEYYCVLW
YSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAP
GKGLEWVARIRISKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNS
YISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFSKFGMSWVR
QAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQG
TLTVSSH HHHHHH (SEQ ID NO:457)

αLyPD3 h885 COBRA

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCVASRGTFSRYSMGWFRQAPGKEREVGRISWSGDMTYADSVKGR
FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAASTLGYVWNHPNMYGYWGHGTLTVTVSS/GGGSGGGS/
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRISKYNNYATYYADQVK
DRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
QTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
GGKAATLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
RLSCVASRGTFSRYSMGWFRQAPGKEREVGRISWSGDMTYADSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAASTLGYVWNHPNMYGYWGHGTLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTV
SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAATLSG
VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRISKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVY
YCTIGGSLSVSSQGTLTVSSH HHHHHH (SEQ ID NO:458)

Фиг. 12D

αHER2 1054 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLILSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKEREFVAAINWSGTHTDYADSVKGR
RFTISRDNVVRTVYLQMNLSKPEDTATYFCSRGWSVFDPDYRGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVES
GGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRRFTISR
DSKNTAYLQMNLSKPEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQE
PSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALT
LSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSLILSCAAS
GRTFSNYAMGWFRQAPGKEREFVAAINWSGTHTDYADSVKGRRFTISRDNVVRTVYLQMNLSKPEDT
ATYFCSRGWSVFDPDYRGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSST
GAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL
WYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQ
APGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNLSKPEDTAVYYCVRHGNFG
NSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFSKFGMSW
VRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSS
QGTTLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:459)

αHER21055 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSGRAISSYAISWFRQAPGEEREFVAAINWSGHTHNYADSVKGR
TISRDNVKNVTVYLQMNLSKPEDTATYFCSRGWSVFDPDYRGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESG
GGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRRFTISRDD
SKNTAYLQMNLSKPEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEP
SLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALT
SGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG
RAISSYAISWFRQAPGEEREFVAAINWSGHTHNYADSVKGRRFTISRDNVKNVTVYLQMNLSKPEDTATYF
CSRGWSVFDPDYRGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA
VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY
SNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAP
GKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNLSKPEDTAVYYCVRHGNFGNS
YISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFSKFGMSW
VRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQ
TLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:460)

Фиг. 12E

αHER2 1058 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCAAS**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVA**AINWSGHTHTNYADSVKGRF**
TISRDNVKNNTVYLQMNLSKPEDTATYFCSR**GWSVFDPDY**RGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESG
GGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVKDR**RFTISRDD
SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQEP
SLTVSPGGTTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTL
SGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCAAS
GRAISSYAISWFRQAPGEEREFVA**AINWSGHTHTNYADSVKGR**RFTISRDNVKNNTVYLQMNLSKPEDTATY
FCSR**GWSVFDPDY**RGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSTVSPGGTTLT**CGSSTG**
AVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC**VLW**
YSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAP
GKGLEWVAR**RIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNS**
YISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVR
QAPGKGLEWV**SSISGGRD**TL**YAESVKG**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSR**PE**DTAVYYCT**IGGSLSV**SSQG
TLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:461)

αHER2 1059 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCAAS**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVA**AINWSGHTHTDYADSVKGRF**
TISRDNKNTVYLQMNLSKPEDTAVYFCSR**GWSVFDPDY**RGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESG
GGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVKDR**RFTISRDD
SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQEP
SLTVSPGGTTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTL
SGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCAAS
GRAISSYAISWFRQAPGEEREFVA**AINWSGHTHTDYADSVKGR**RFTISRDNKNTVYLQMNLSKPEDTAV
YFCSR**GWSVFDPDY**RGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSTVSPGGTTLT**CGSST**
GAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC**VL**
WYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQ
APGKGLEWVAR**RIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HGNFG**
NSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAAS**GFTFSKFGMS**W
VRQAPGKGLEWV**SSISGGRD**TL**YAESVKG**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSR**PE**DTAVYYCT**IGGSLSV**SS
QGTTLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:462)

Фиг. 12F

αHER2 1065 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVA**AINWSGTHHTNYADSVKGRF**
 TISRDNVKTIVYLQMNLSLKPEDTATYFC**SRGWSVFDPDY**RGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESG
 GGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRISKYNNYATYYADQVKDR**RFTISRDD
 SKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTIVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKAALT
 SGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG
RAISSYAISWFRQAPGEEREFVA**AINWSGTHHTNYADSVKGR**RFTISRDNVKTIVYLQMNLSLKPEDTATYF
 CSR**GWSVFDPDY**RGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTVSPGGTIVTLT**GSSTGA**
VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDKGT**PARFSGSLLGGKAALTSGVQPEDEAEYYC**VLWY**
SNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAP
 GKGLEWVAR**IRISKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNS**
YISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVR
 QAPGKGLEWV**SSISGSGRDTLYAESVKG**RFTISRDNKATTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI**GGSLVSSSQG**
 TLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:463)

αHER2 1090 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG**GRAISSYAIS**WFRQAPGEEREFVA**AINWSGTHHTNYADSVKGRF**
 TISRDNVKTIVYLQMNLSLKPEDTATYFC**SRGWSLFDPDY**RGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESG
 GGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRISKYNNYATYYADQVKDR**RFTISRDD
 SKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTIVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKAALT
 SGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLTCEVSG
RAISSYAISWFRQAPGEEREFVA**AINWSGTHHTNYADSVKGR**RFTISRDNVKTIVYLQMNLSLKPEDTATYF
 CSR**GWSLFDPDY**RGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTVSPGGTIVTLT**GSSTGA**
VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDKGT**PARFSGSLLGGKAALTSGVQPEDEAEYYC**VLWY**
SNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAP
 GKGLEWVAR**IRISKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNLSLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNS**
YISYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVR
 QAPGKGLEWV**SSISGSGRDTLYAESVKG**RFTISRDNKATTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI**GGSLVSSSQG**
 TLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:464)

Фиг. 12G

αHER2 1091 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFDDYAMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTDYADSVKG**
RFTISRDNANTLYLQMNSLKSEDSAVYYCVK**GWRLTGGYYDSV**QGGGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
LVESGGGLVQPGGSLKLSAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDRFT**
ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTC**ASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGK
AALTLSGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLS
CAAS**GFTFDDYAMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTDYADSVKGRFTISRDNANTLYLQMNSLKS**
EDSAVYYCVK**GWRLTGGYYDSV**QGGGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
VTLTC**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
DEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAAS**GFTFNKY**
AMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY**
CVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS**CAASGFTF**
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSS**ISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI**
GGSLSVSSQGLTVTVSSHHHHH (SEQ ID NO:465)

αHER2 1092 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGASLRLS**CAASGFTFDDYALS**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTDYADSVKG**
RFTISRDNANTLYLQMNSLKSEDSAVYYCVK**GWRLTGGYYDSV**QGGGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
LVESGGGLVQPGGSLKLSAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDRFT**
ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
VTQEPSLTVSPGGTVTLTC**ASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGK
AALTLSGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGASLRLS
CAAS**GFTFDDYALS**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGHTDYADSVKGRFTISRDNANTLYLQMNSLKS**
EDSAVYYCVK**GWRLTGGYYDSV**QGGGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGT
VTLTC**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
DEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAAS**GFTFNKY**
AMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY**
CVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS**CAASGFTF**
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSS**ISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNANTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI**
GGSLSVSSQGLTVTVSSHHHHH (SEQ ID NO:466)

Фиг. 12H

αHER2 1097 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFIFDDYAMT**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGTHTDYADSVKGR**
 RFTISRDNAKNTLYLQMNLSKSEDSAVYYCVK**GWRHTDNYAGV**QGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EV
 QLVEGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QT
 VVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGG
 KAALTLSGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGSLRL
 SCAAS**GFIFDDYAMT**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGTHTDYADSVKGR**RFTISRDNAKNTLYLQMNLSK
 SEDSAVYYCVK**GWRHTDNYAGV**QGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGG
 TVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPE
 DEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKY**
AMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
 CVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTE**
SKFGMSWVRQAPGKGLEWVSS**SISGGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI
GGSLSVSSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:467)

αHER2 1118 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GFTFDDYAMS**WVRQTPGKGLEWVSS**SINWSGHTHNYADSVKGR**
 RFTISRDNAKKTLYLQMNLSKSEDTAVYYCARG**WMVVPDSTR**QGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVE
 SGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**RFTISR
 DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKAAL
 TLSGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAA
SGTFDDYAMSWVRQTPGKGLEWVSS**SINWSGHTHNYADSVKGR**RFTISRDNAKKTLYLQMNLSKSEDT
 AVYYCARG**WMVVPDSTR**QGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CG**
SSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
 C**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**W
 VRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HG**
NFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTE****SKFGM**
SWVRQAPGKGLEWVSS**SISGGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI**GGSLSV**
 SSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:468)

Фиг. 12I

αHER2 1121 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GFIFSDYAMT**WVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGTH****NYADSVKG**
 RFTISRDNAKKTLYLQMNLSKSEDTAVYYCARG**WMMVVPDSTR**QGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVE
 SGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKD**RFTISR
 DDSKNTAYLQMNLSKSEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAAL
 TLSGVQPEDEAEYY**CTLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAA
SGFIFSDYAMTWVRQAPGKGLEWVSS**SINWSGTH****NYADSVKG**RFTISRDNAKKTLYLQMNLSKSEDTA
 VYYCARG**WMMVVPDSTR**QGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CGS**
STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC
VLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WV
 RQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKD**RFTISRDDSKNTAYLQMNLSKSEDTAVYYCVR**HGN**
FGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS**GFTFSKFGMS**
 WVRQAPGKGLEWVSS**SISGGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI**GGSLSVS**
 SQGTTLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:469)

αHER2 1134 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRIFSAAVMAWYRQPPGEQRELVASITHRGFTRYADSVKDR**RFT
 ISRDNVNNTMYLQMNRLSPEDTAIYYCRL**LNGDY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLV
 QPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKD**RFTISRDDSKNT
 AYLQMNLSKSEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQEPSLTV
 SPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYY**CTLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRIF**
SAAVMAWYRQPPGEQRELVASITHRGFTRYADSVKDRRFTISRDNVNNTMYLQMNRLSPEDTAIYYCRL
LNGDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CGSSTGAVTSGNY**
PNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY**VLWYSNRWV**
 FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAPGKGLEW
 VAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKD**RFTISRDDSKNTAYLQMNLSKSEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**
 WGQGTTLTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGL
 EWVSS**SISGGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI**GGSLSVS**SQGTTLTVSSH
 HHHH (SEQ ID NO:470)

Фиг. 12J

αHER2 1138 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GF****TFDDYAMS**WVRQAPGKEMEWV**SGINWSGTHTRYADSVK**
GRFTISRDNAKNTLDLQMNSLISED**TAVYYCARGFAADSRSTR**RGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVE
 SGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF****TFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISR
 DDSKNTAYLQMN**NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT**PARFSGSLLGGKAAL**
 TLSGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGFTFDDYAMSWVRQAPGKEMEWV**SGINWSGTHTRYADSVKGRFTISR**DNAKNTLDLQMNSLISED
TAVYYCARGFAADSRSTRRGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CGS**
STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT**PARFSGSLLGGKAAL**TLSGVQPEDEAEYYC
VLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF****TFNKYAMN**WV
 RQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSNTAYLQMN**NLKTEDTAVYYCVRHGN**
FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GF****TFSKFGMS**
 WVRQAPGKGLEWV**SSISGSGRDTLYAESVKGRFTISR**DNAKTTLYLQMN**SLRPEDTAVYYCTIGGSLSVS**
 SQGLTVTVSSHHHHHHH (SEQ ID NO:471)

αHER2 1139 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GF****TFDDYAMS**WVRQAPGKEMEWV**SGINWSGTHTRYADSVK**
GRFTISRDNAKNTLDLQMNSLISED**TAVYYCARGFAADSRSTR**RGQGTQVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVE
 SGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF****TFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISR
 DDSKNTAYLQMN**NLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT**PARFSGSLLGGKAAL**
 TLSGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGG/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGFTFDDYAMSWVRQAPGKEMEWV**SGINWSGTHTRYADSVKGRFTISR**DNAKNTLDLQMNSLISED
TAVYYCARGFAADSRSTRRGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CGSS**
TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT**PARFSGSLLGGKAAL**TLSGVQPEDEAEYYC**V**
LWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF****TFNKYAMN**WVR
 QAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSNTAYLQMN**NLKTEDTAVYYCVRHGNF**
GNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGG/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GF****TFSKFGMS**
 WVRQAPGKGLEWV**SSISGSGRDTLYAESVKGRFTISR**DNAKTTLYLQMN**SLRPEDTAVYYCTIGGSLSVS**
 SQGLTVTVSSHHHHHHH (SEQ ID NO:472)

Фиг. 12К

αHER2 1140 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVAS**GFTFDDYAMS**WVRQAPGKEMEWVS**GINWSGTHTRYADSVK**
GRFTISRDNAKNTLDLQMNLSIEDTAVYYCARG**FAA****DSR****STR**RGQGTQVTVSS/**GGGSGGGG**/EVQLVE
 SGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVK****DRFTISR**
 DDSKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT**PARFSGSLLGGKAAL**
 TLSGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVA
SGFTFDDYAMSWVRQAPGKEMEWVS**GINWSGTHTRYADSVK****GRFTISR**DNAKNTLDLQMNLSIED
 TAVYYCARG**FAA****DSR****STR**RGQGTQVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CGS**
STGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT**PARFSGSLLGGKAAL**TLSGVQPEDEAEYYC
VLWYSNRWVFGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WV
 RQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVK****DRFTISR**DDSKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVR**HGN**
FGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**
 WVRQAPGKGLEWVSS**SISGGRD****TLAESVK****GRFTISR**DNAKTTLYLQMNLSLRPEDTAVYYCT**IGGSLSVS**
 SQGLTVTVSSHHHHH (SEQ ID NO:473)

αHER2 1145 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRIFKNYPMG**WFRQPPGKDFVA**AITSSGGTTHYRDSVKGR**
FTISRDNAKNTVYLQMNLSKLPDDTAVYYCAG**SSTPWDIPLGPNEVGY**WGQGTQVTVSS/**GGGSGGGG**
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVK**
DRFTISRDDSKNTAYLQMNLIKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT**PARFSGSLL**
GGKAALTLSGVQPEDEAEYYC**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/QVQLQESGGGLVQAGGS
 LRLSCAAS**GRIFKNYPMG**WFRQPPGKDFVA**AITSSGGTTHYRDSVKGR****FTISR**DNAKNTVYLQMNS
 LKLPDDTAVYYCAG**SSTPWDIPLGPNEVGY**WGQGTQVTVSS/**SGGPGPAGMKGLPGS**/QTVVTQEPSLT
 VSPGGTVTLT**CGSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT**PARFSGSLLGGKAAL**TLS
 GVPQPEDEAEYYC**VLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF**
TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVK****DRFTISR**DDSKNTAYLQMNLIKTED
 TAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/**GGGSGGGG**/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAA
SGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSS**SISGGRD****TLAESVK****GRFTISR**DNAKTTLYLQMNLSLRPEDTAV
 YYCT**IGGSLSVS**SQGLTVTVSSHHHHH (SEQ ID NO:474)

Фиг. 12L

αHER2 1146 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRIFKNYPMGWFRQPPGKDFEVA****AITSSGGTTPYRDSVKGRF**
 TISRDNAKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCAG**SSTPWDIPLGPNEVGF**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKD**
 RFTISRDDSKNTAYLQMNLSKPEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLG
 GKAALTLGSGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSL
 RLSCAAS**GRIFKNYPMGWFRQPPGKDFEVA****AITSSGGTTPYRDSVKGR**RFTISRDNAKNTVYLQMNLS
 KPEDTAVYYCAG**SSTPWDIPLGPNEVGF**WGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTV
 SPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLG
 VQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFT**
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNLSKPEDT
 AVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SISGGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSR
 PEDTAVYCT**IGGSLSV**SSQGTQVTVSSHHHHHHH (SEQ ID NO:475)

αHER2 1149 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCLVAG**GNIFGFNVMGWYRQVPGKQRELVA****ISTGGRSTDYADSAKGRF**
 TISRNNAKDTVYLQMNLSKPEDTAVYYCKM**TMASSDY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGG
 GLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDR**RFTISRDDS
 KNTAYLQMNLSKPEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPS
 LTVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKAALTL
 GSGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCLVAG
GNIFGFNVMGWYRQVPGKQRELVA**ISTGGRSTDYADSAKGR**RFTISRNNAKDTVYLQMNLSKPEDTAVYY
 CKM**TMASSDY**WGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CSSTGAV**
TSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY**CVLWYS**
NRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAPG
 KGLEWVAR**IRIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**RFTISRDDSKNTAYLQMNLSKPEDTAVYYCVR**HGNFGNSYI**
SYWAYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQ
 APGKGLEWVSS**SISGGRDTLYAESVKGR**RFTISRDNAKTTLYLQMNLSR
 PEDTAVYCT**IGGSLSV**SSQGTQVTVSSHHHHHHH (SEQ ID NO:476)

Фиг. 12М

αHER2 1150 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCVAS**GNIFGFNVMG**WYRQVPGKQRELVA**ISTGGGSTNYADSAKGRF**
 TVSRNNAKDTVYLQMNLSKPEDTAVYYCKMT**TMASVDY**WGQGTQTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESG
 GGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISRDD
 SKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALT
 SGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCVAS
GNIFGFNVMGWYRQVPGKQRELVA**ISTGGGSTNYADSAKGR**FTVSRNNAKDTVYLQMNLSKPEDTA
 VYYCKMT**TMASVDY**WGQGTQTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEP**SLTVSPGGTTLT****CGSST**
GAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY**CVL**
WYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQ
 APGKGLEWVAR**RIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYCVR**HGNFG**
NSYISYWAYWGQGTQTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMSW**
 VRQAPGKGLEWV**SSISGGRDTLYAESVKGR**FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCT**IGGSLSVS**
 QGTLTVSSHHHHH (SEQ ID NO:477)

αHER2 1156 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLKLVSCAAS**RNIGSNYAVG**WFRQAPGKEREPVA**ALRWTSIIGYDDSLRGR**
 FTISKDDAKNTVYLQMNLSKPEDTGYYCAAR**RILDRSSYDY**WGQGTQTVSS/GGGSGGGS/EVQLVES
 GGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**RIRSKYNNYATYYADQVKDR**FTISR
 DSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGTQTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEP
 PS**SLTVSPGGTTLT****CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GTPARFSGSLLGGKAALT
 LSGVQPEDEAEYY**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSLKLVSCAA
SRNIGSNYAVGWFRQAPGKEREPVA**ALRWTSIIGYDDSLRGR**FTISKDDAKNTVYLQMNLSKPEDTG
 VYYCAAR**RILDRSSYDY**WGQGTQTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEP**SLTVSPGGTTLT****CGSS**
TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY**CV**
LWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVR
 QAPGKGLEWVAR**RIRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FTISRDDSKNTAYLQMNLSKTEDTAVYYCVR**HGNF**
GNSYISYWAYWGQGTQTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**
 WVRQAPGKGLEWV**SSISGGRDTLYAESVKGR**FTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCT**IGGSLSVS**
 SQGTLTVSSHHHHH (SEQ ID NO:478)

Фиг. 12N

αHER2 1158 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCTASGRTFSSYAMGWFRQAPEKEREVFAAITWSGGTTHYAESVKGR
 FTISRDNANTVYLQMNLTLEPEDTAVYYCAARINYSTISSNEKMYHYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/E
 VQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKD
 RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/Q
 TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLG
 GKAALTLQVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSL
 RLSCASGRTFSSYAMGWFRQAPEKEREVFAAITWSGGTTHYAESVKGRRFTISRDNANTVYLQMNLT
 EPEDTAVYYCAARINYSTISSNEKMYHYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVS
 PGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLQVQ
 VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFT
FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSRLS
 CAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNANTVYLQMN
 SLRPEDTAVYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:479)

αHER2 1159 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCATSGRTFSSLAMGWFRQAPGKERELVAGISWSGSTTYADSVKGR
 FAISRDNANTVYLQMNLSKPEDTAVYYCAARTSSIATIGREYDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDR
 FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLQVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSLRLS
 CATSGRTFSSLAMGWFRQAPGKERELVAGISWSGSTTYADSVKGRFAISRDNANTVYLQMNLSKPE
 DTAVYYCAARTSSIATIGREYDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTV
 TLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLQVQPEDE
 AEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA
MNWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC
 VRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSRLS
 CAASGFTFS
KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNANTVYLQMN
 SLRPEDTAVYCTIG
GSLSVSSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:480)

Фиг. 120

αHER2 1160 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSNERLGWFRQAPGKERELVAAIRWSGVIIGYADSVRGRF
 TISRDNASTVYLQMNLRPEDTAVYFCAADDRGVYGTWDYWGQGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVE
 SGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRRFTISR
 DDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGT PARFSGSLLGGKAAL
 TLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAA
SGRTFSNERLGWFRQAPGKERELVAAIRWSGVIIGYADSVRGRFTISRDNASTVYLQMNLRPEDTAV
 YFCAADDRGVYGTWDYWGQGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAGS
STGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC
VLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWV
 RQAPGKGLEWVARRIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN
FGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMS
 WVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNATTLYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLSVS
 SQGTLTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:481)

αHER2 1161 COBRA

QVQLQESGGGLVQPGKSLRLSCAVSGDIFGTYGMAWYRQAPGKQREPVASISIGGIINYADSVKGRRFTI
 SRDNVKNVYLLQMNLSKPEDTAVYYCKLLDWNYWGRGTQVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQ
 PGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARRIRSKYNNYATYYADQVKDRRFTISRDDSKNTA
 YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGTTLTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCAASSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQ
 PEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGKSLRLSCAVSGDIFGT
YGMAWYRQAPGKQREPVASISIGGIINYADSVKGRRFTISRDNVKNVYLLQMNLSKPEDTAVYYCKLL
WNYWGRGTQVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCAGSSTGAVTSGNYPN
 WVQQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFG
 GGTCLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA
RIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW
 GQGTTLTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLE
 WVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNATTLYLQMNLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSSQGTLTVSSHH
 HHHH (SEQ ID NO:482)

Фиг. 12P

αHER2 1162 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRPFSGNAMG**WFRQAPGKEREVAA**AISWSGDSTYYADSVKGR**
 RFTISRDNNDENTAYLQMNSLKPEDTAVYYCA**A****TRSFYSRTYYTRPSDYN**YWGPQTQTVSS/GGGSGG
GS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQ**
VKDRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGG
GS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT**PARFS**
 GSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY**CTLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQA
 GGSLRLSCAAS**GRPFSGNAMG**WFRQAPGKEREVAA**AISWSGDSTYYADSVKGR**RFTISRDNNDENTAYL
 QMNSLKPEDTAVYYCA**A****TRSFYSRTYYTRPSDYN**YWGPQTQTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVT
 QEPSLTVSPGGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT**PARFS**GSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLS
 CAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FRTISRDDSKNTAYLQMN
 NLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNS
 LRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**FRTISRDNAKTTLYLQMN
 SLRPEDTAVYYCT**IGGSLSV**SSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:483)

αHER2 1163 COBRA

QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAAS**GRRFNMYFMG**WFRQAPGKEREV**ALLRESGDNTYYTNSVKGR**
 FTISRDNARNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCA**ARLDTGFVLYSANSYAY**WGQGTQTVSS/GGGSGGGS/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVK**
DRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLT**CSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVP**GT**PARFS**GSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYY**CTLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQAGGS
 LRLSCAAS**GRRFNMYFMG**WFRQAPGKEREV**ALLRESGDNTYYTNSVKGR**FRTISRDNARNTVYLQMN
 LKPEDTAVYYCA**ARLDTGFVLYSANSYAY**WGQGTQTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSL
 TVSPGGTVTLT**GSSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GT**PARFS**GSLLGGKAALTLS
 GVPQPEDEAEYY**CVLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GF**
TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDKADSVKDR**FRTISRDDSKNTAYLQMN
 NLKTEDTAVYYCVR**HGNFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAAS**GFTFSKFGMS**WVRQAPGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**FRTISRDNAKTTLYLQMN
 SLRPEDTAVYYCT**IGGSLSV**SSQGLTVTVSSHHHHHH (SEQ ID NO:484)

Фиг. 12Q

Hetero-COBRA Trop-2/EpCAM

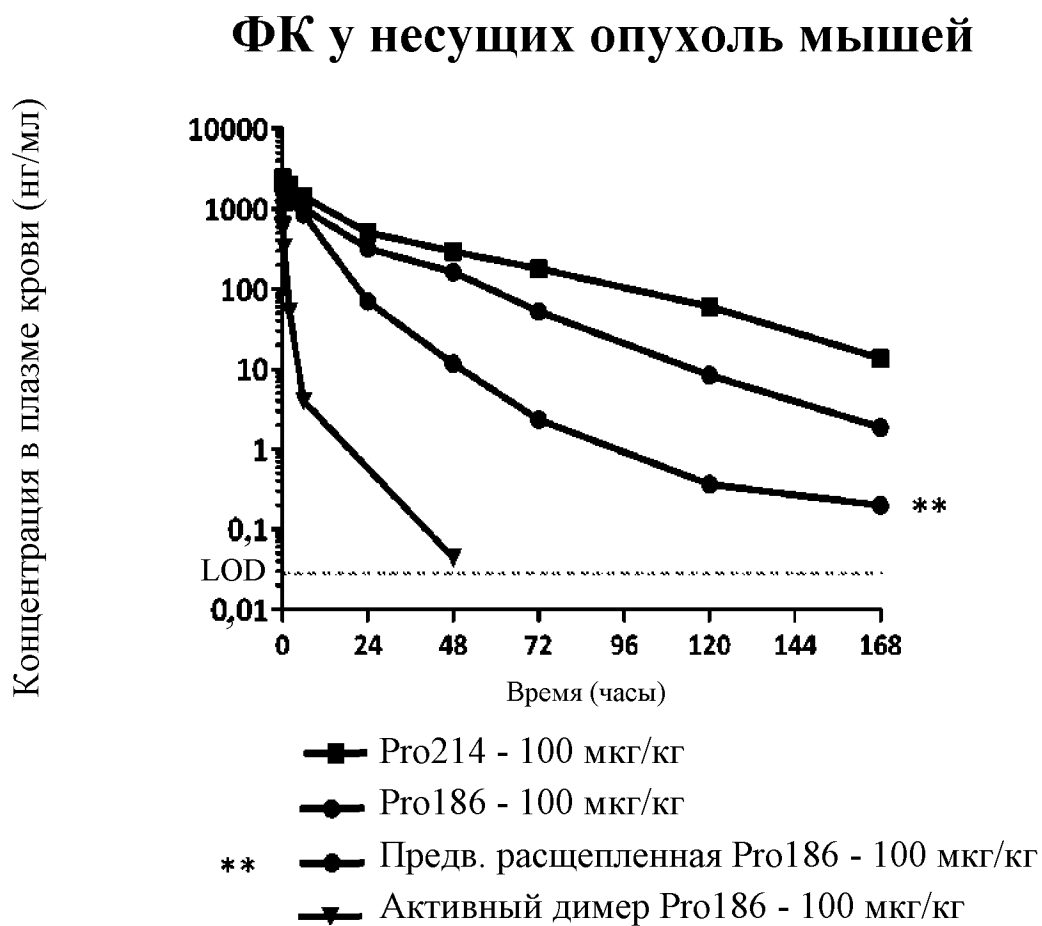
Pro824 (aEpCAM h665/aTrop-2 h557)

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGHTNYADSVKG
 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKREFVSAISWTGANPTYADSVKGRFRTISRDNSKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVYYCAADTSGGSYYYERATAETSYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKLPGS/QTVVTQEP
 SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAAL
 TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLS
 CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFRTISRDDSKNTAYLQMNNL
 KTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS
 CAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFRTISRDNAKTTLYLQMNSLRPED
 TAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSSHHHHHHH (SEQ ID NO:485)

Pro826 (aTrop-2 h557/aEpCAM h665)

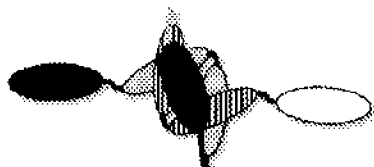
QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKREFVSAISWTGANPTYADSVKGR
 FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYYERATAETSYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGG
GS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQ
VKDRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGG
GS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARF
GSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQ
PGGSLRLSCAASGRTFSDYDMGWFRQGPGKEREFVAAISWSGGHTNYADSVKGRFRTISRDNSKNTLYLQ
MNSLRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKLPGS/QTVVTQ
 EPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKA
 ALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSC
 AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFRTISRDDSKNTAYLQMN
 NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLR
 LSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFRTISRDNAKTTLYLQMNSLRP
 EDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSSHHHHHHH (SEQ ID NO:486)

Фиг. 13



Фиг. 14

Pro225

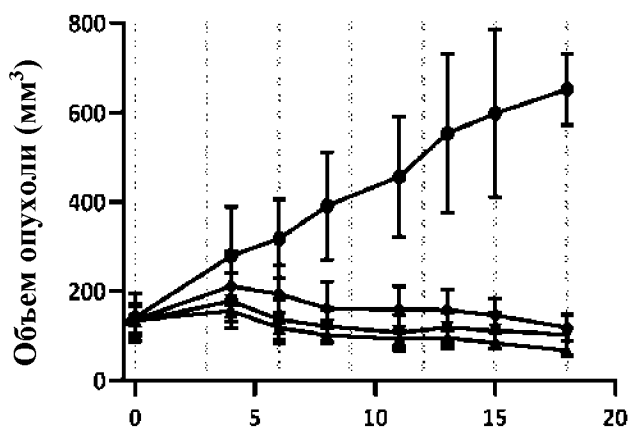


Эквивалентное связывание B7H3

Вид	α B7H3 K _D (нМ)	α CD3 K _D (нМ)	α HSA K _D (нМ)
Человек	0,3 (4lg) 0,6 (2lg)	Н/О*	11,3
Яванская макака	0,1 (4lg) 0,2 (2lg)	Н/О	10,8
Мышь	0,1 (2lg)	Н/О	106,3

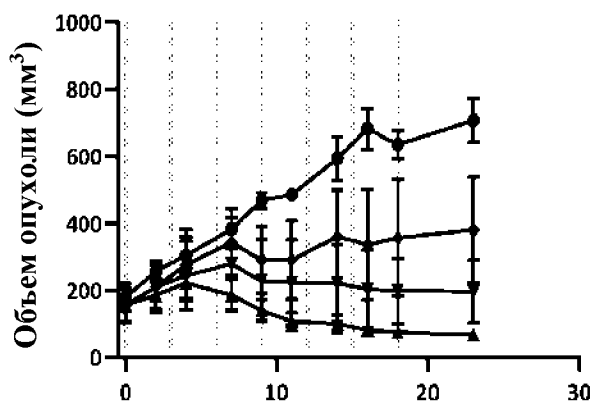
*Н/О = не обнаруживается

Фиг. 15А

Опухоль: А549

Сутки после первой дозы

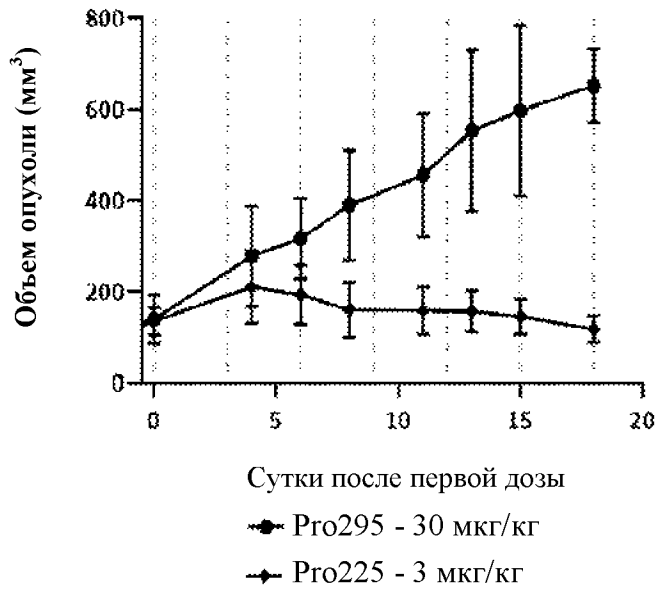
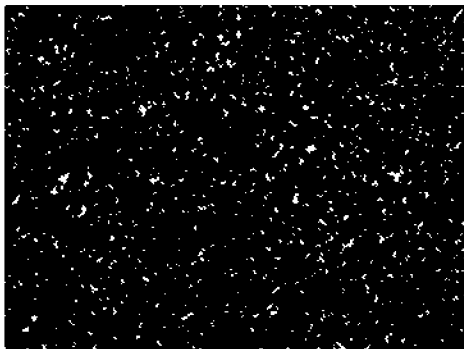
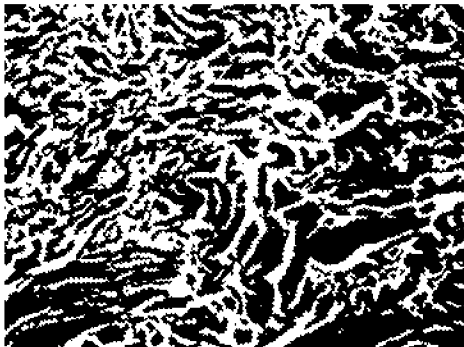
- ◆ Pro295: 30 мкг/кг
- ▲ Pro225: 30 мкг/кг
- ▼ Pro225: 10 мкг/кг
- ◆ Pro225: 3 мкг/кг

Опухоль: OV90

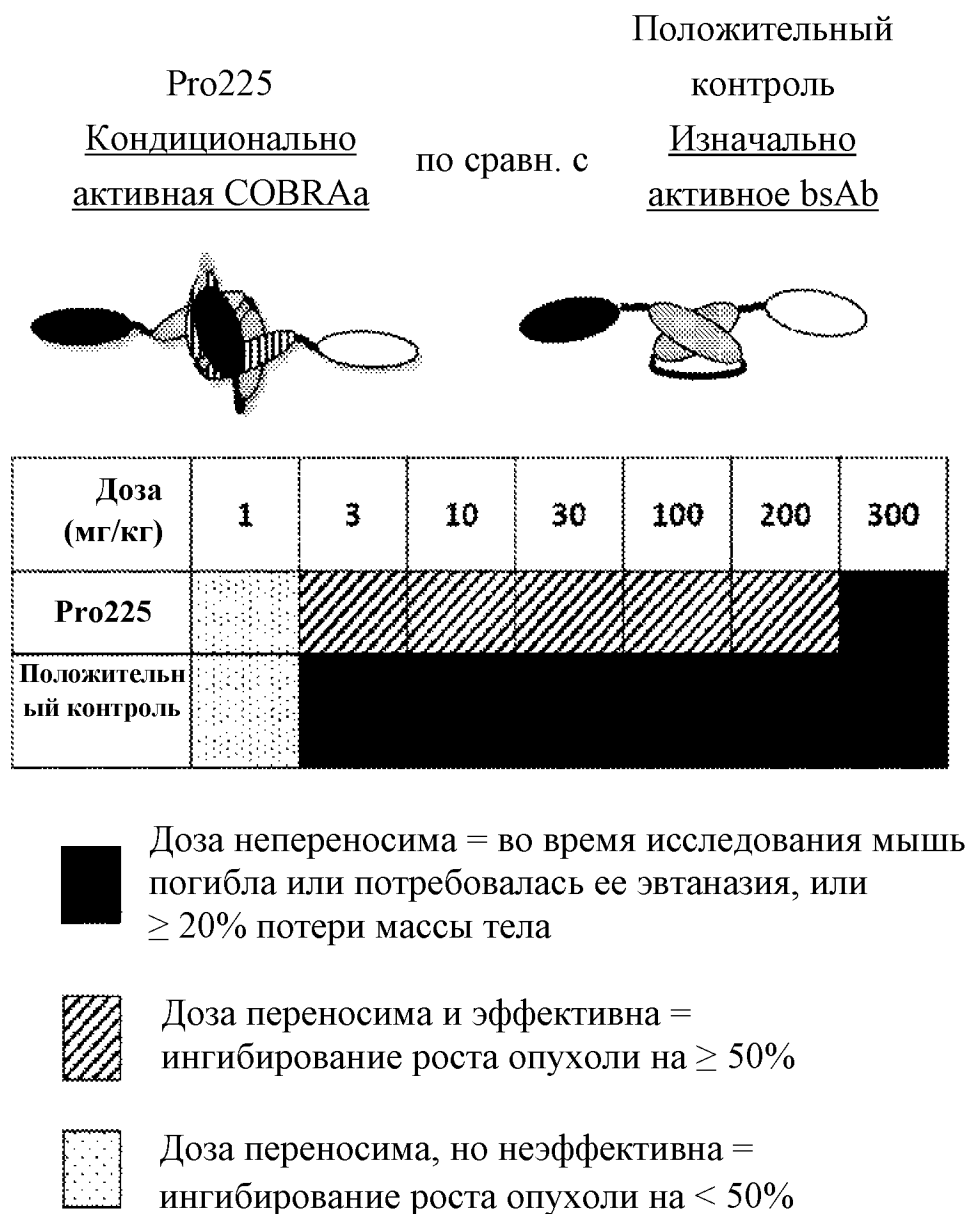
Сутки после первой дозы

- ◆ Pro295: 30 мкг/кг
- ▲ Pro225: 30 мкг/кг
- ▼ Pro225: 10 мкг/кг
- ◆ Pro225: 3 мкг/кг

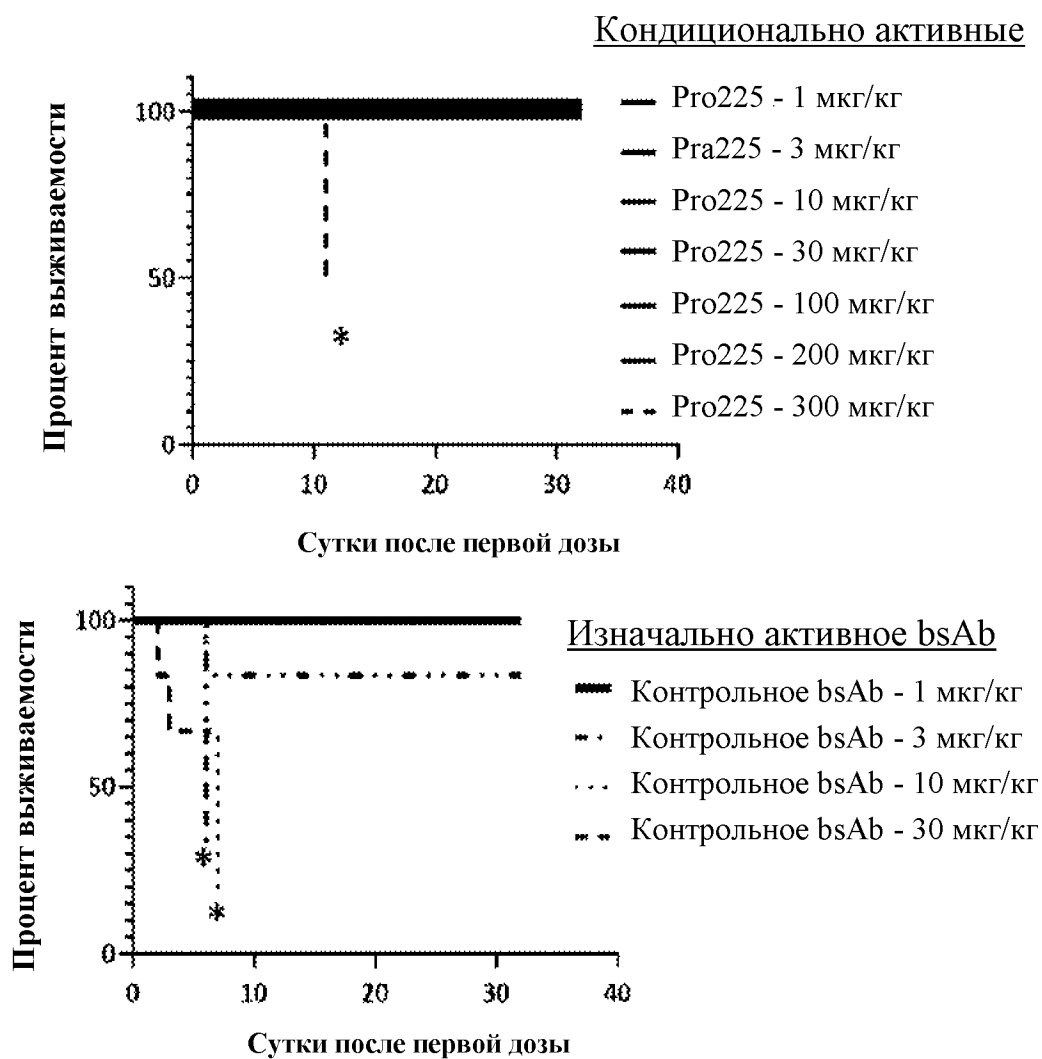
Фиг. 15В

Опухоль: А549**Гематоксилин – эозин: Сутки 18: ксенотрансплантат****необработанный****10 мкг/кг**

Фиг. 16А

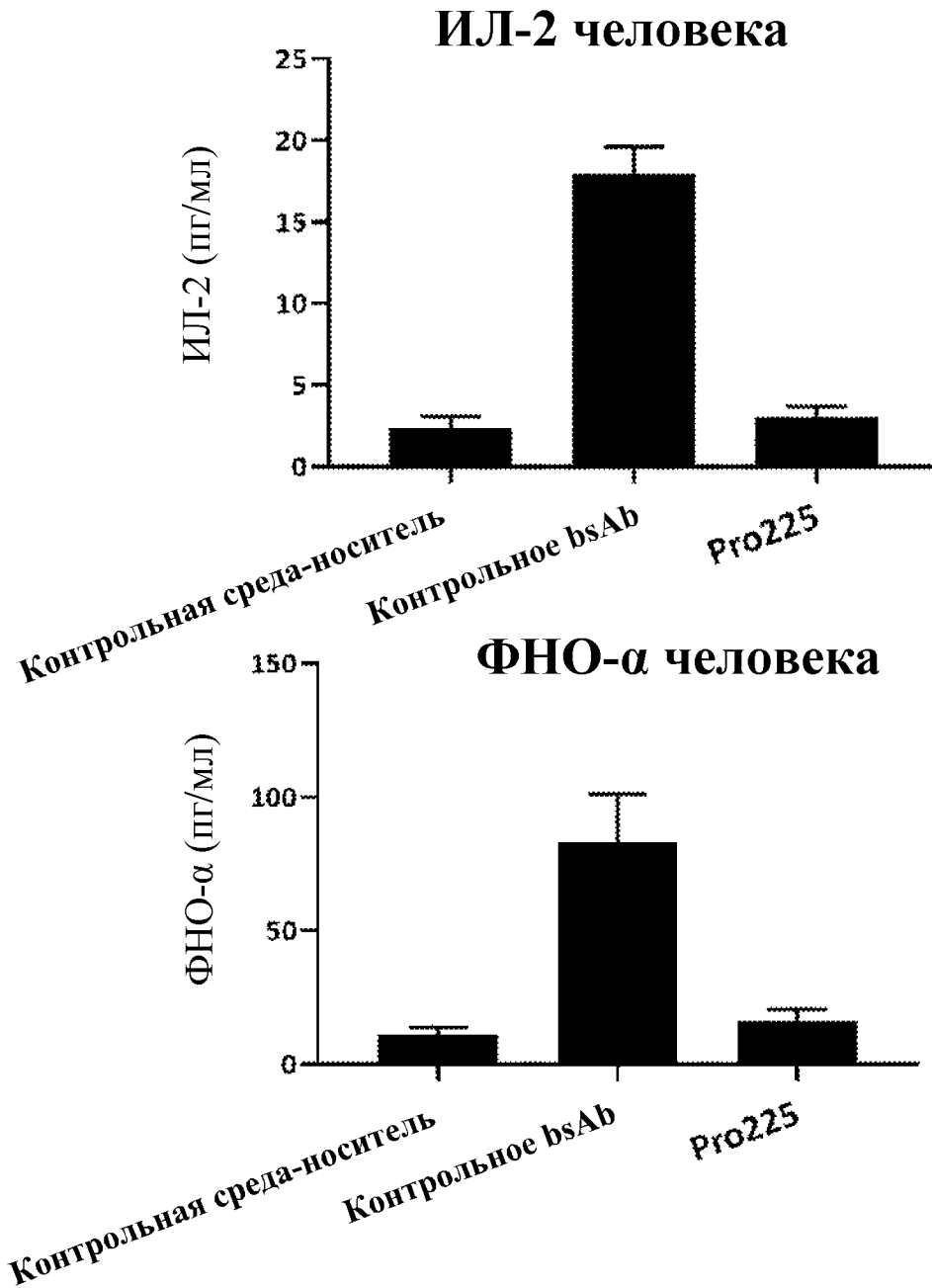


Фиг. 16В

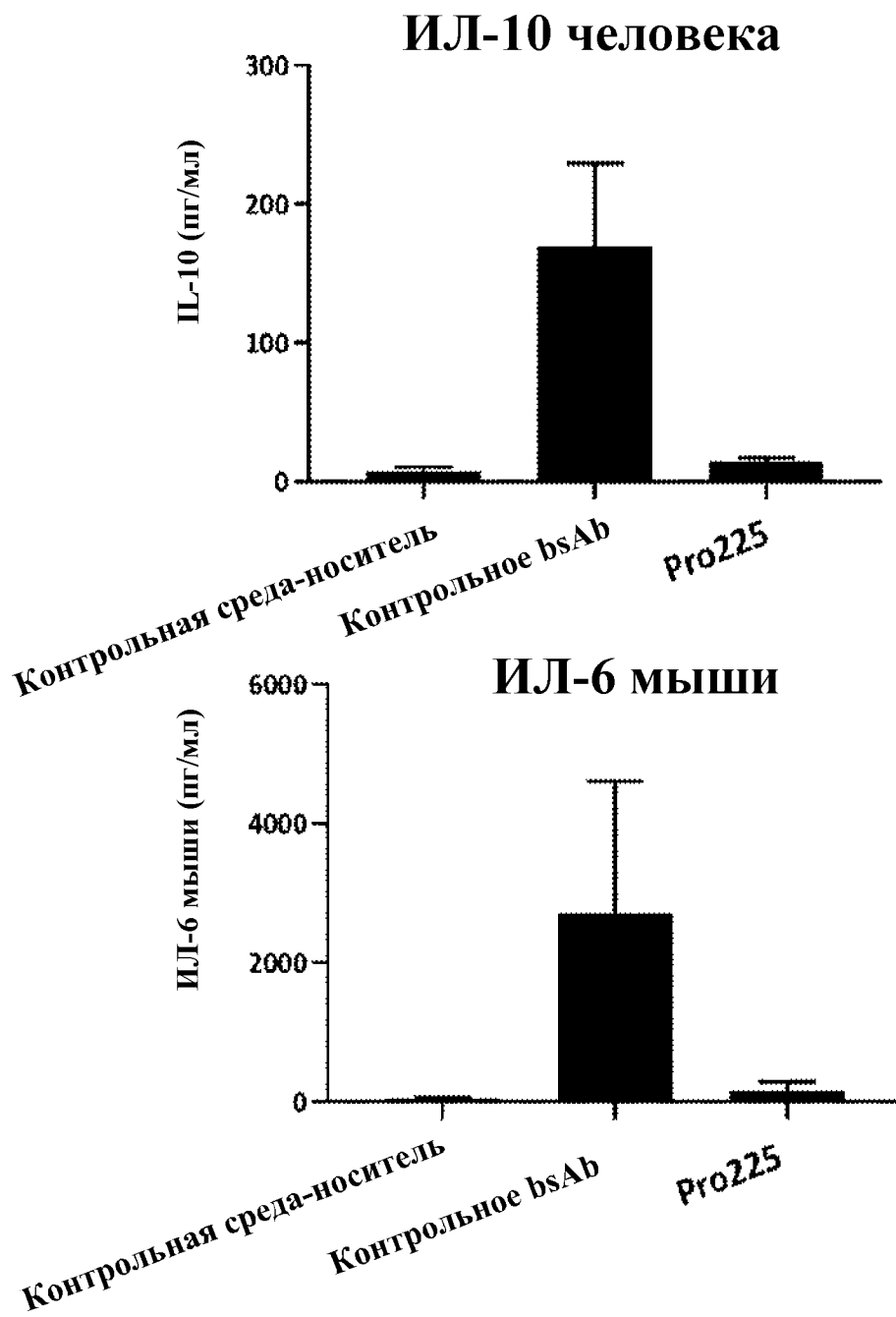
Выживаемость

* Оставшимся мышам выполнили эвтаназию

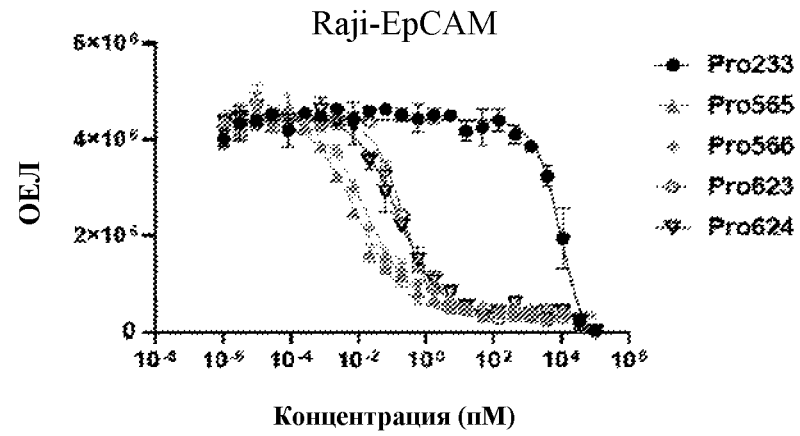
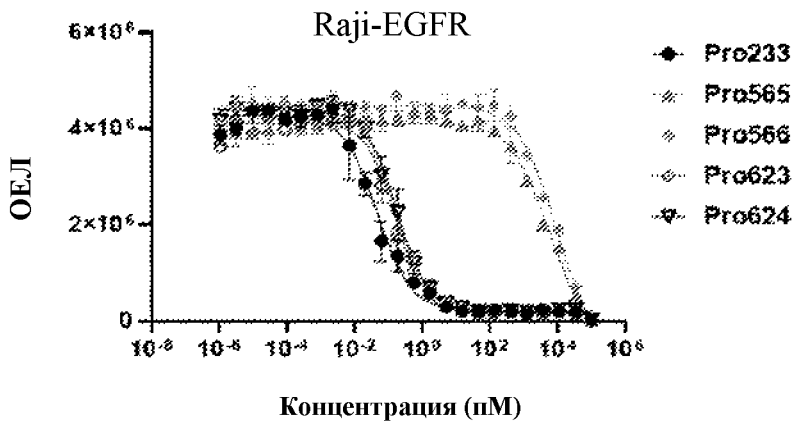
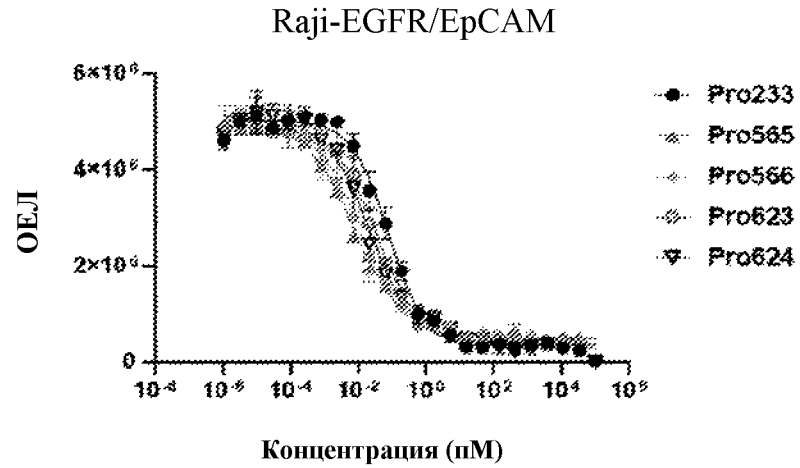
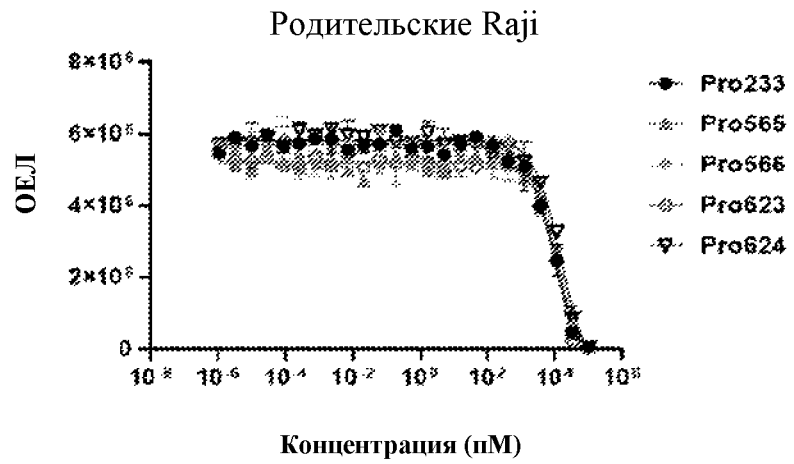
Фиг. 16С



Фиг. 16D

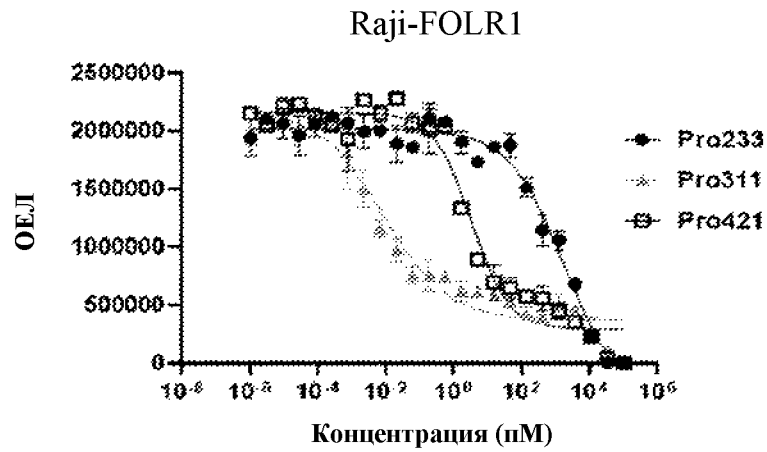
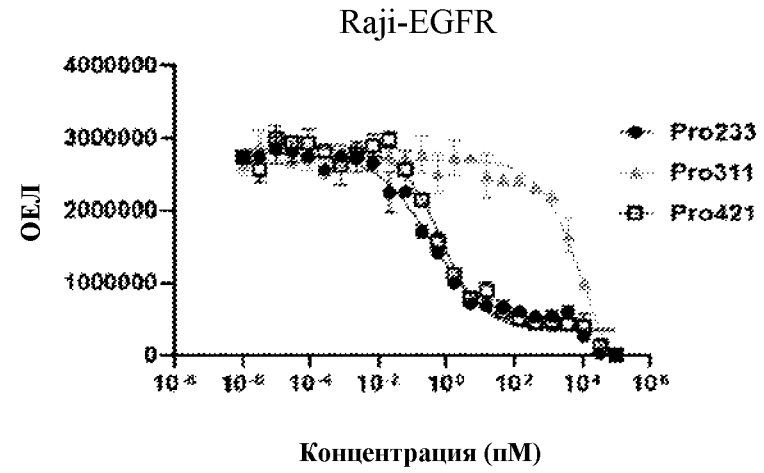
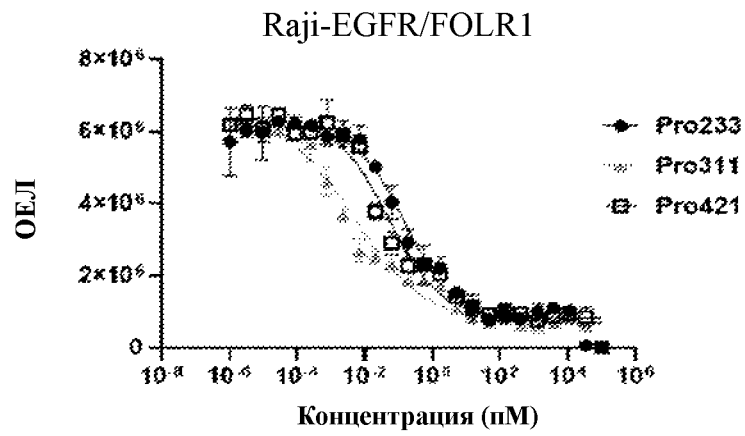


Фиг. 17



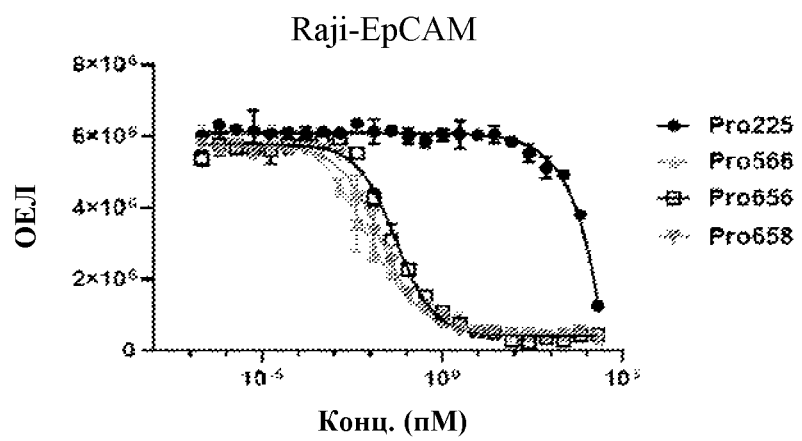
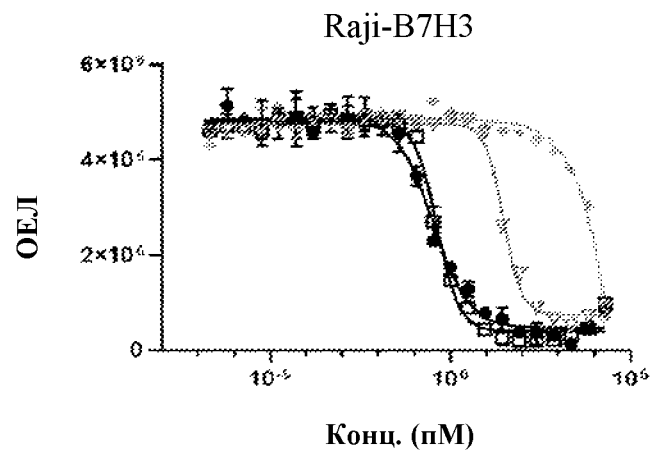
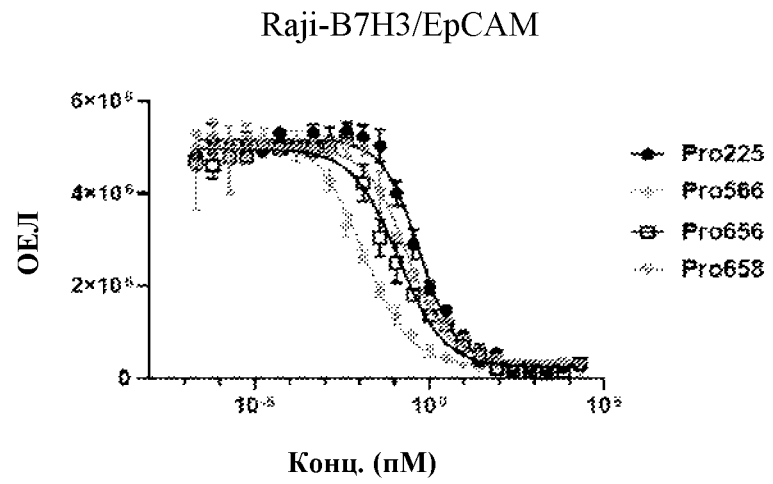
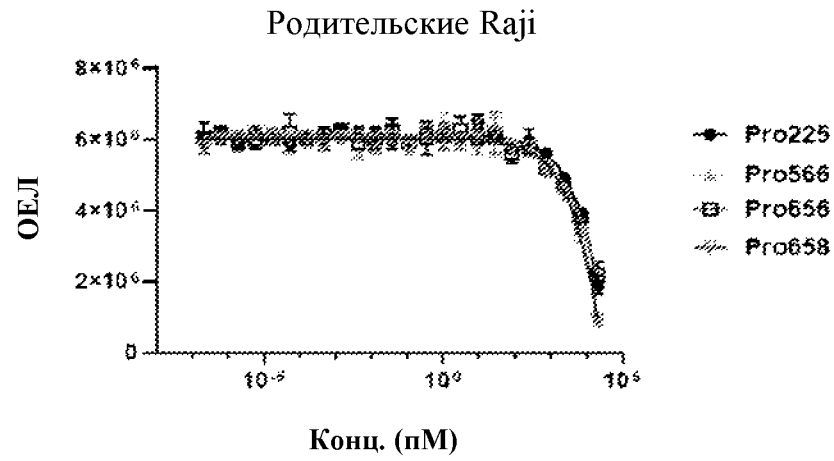
105/247

Фиг. 18



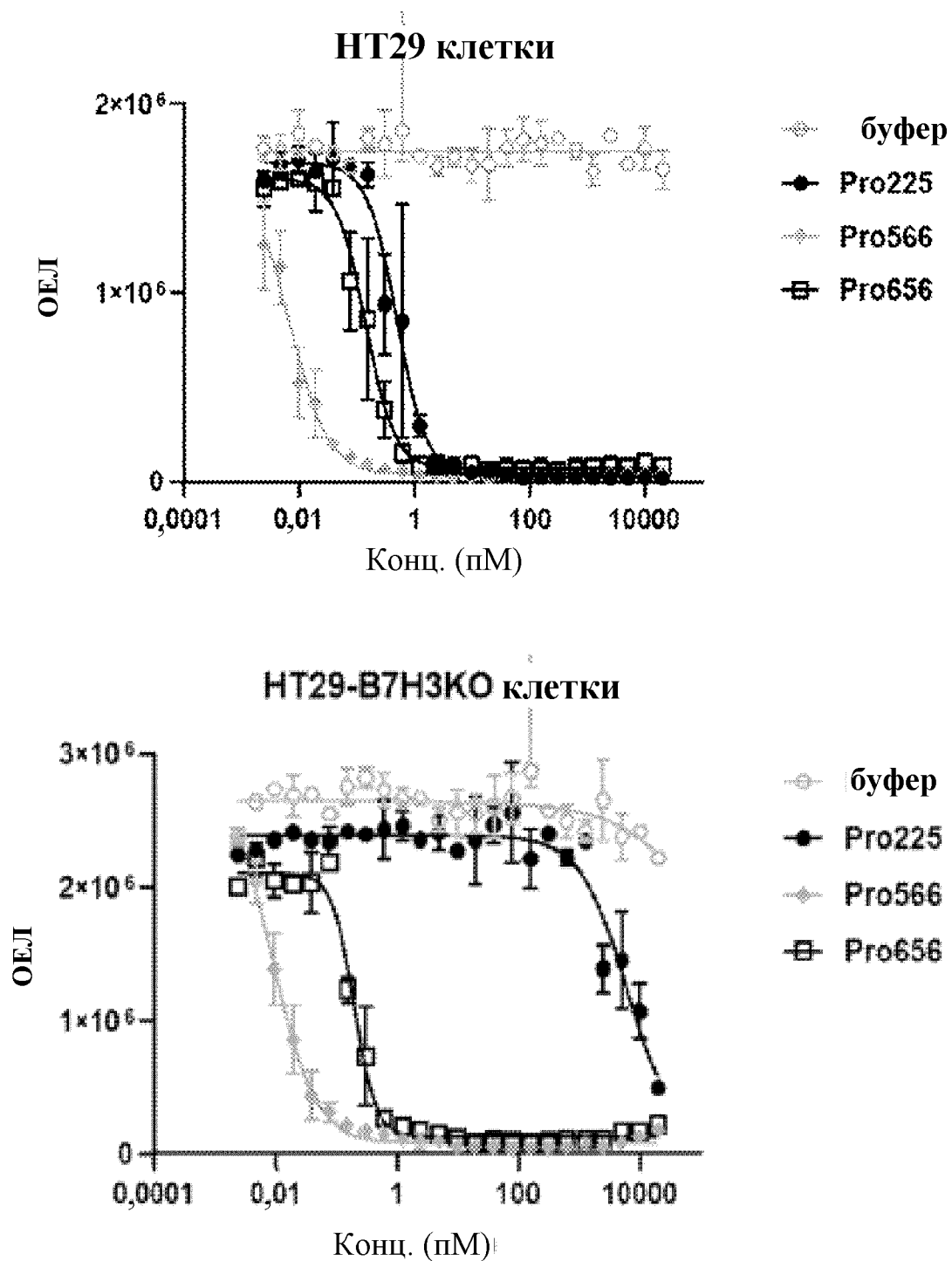
106/247

Фиг. 19

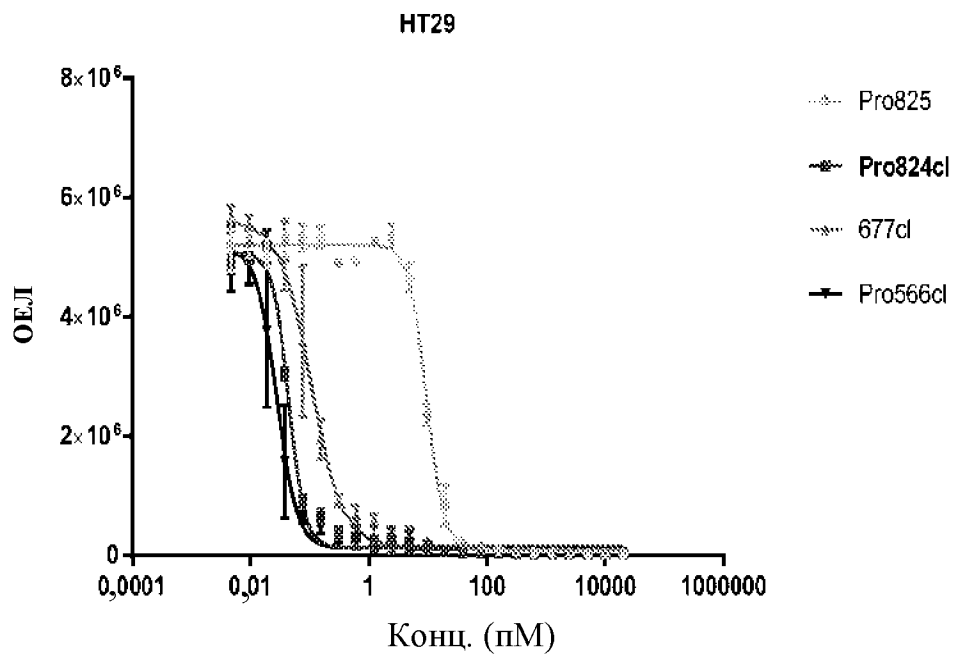


107/247

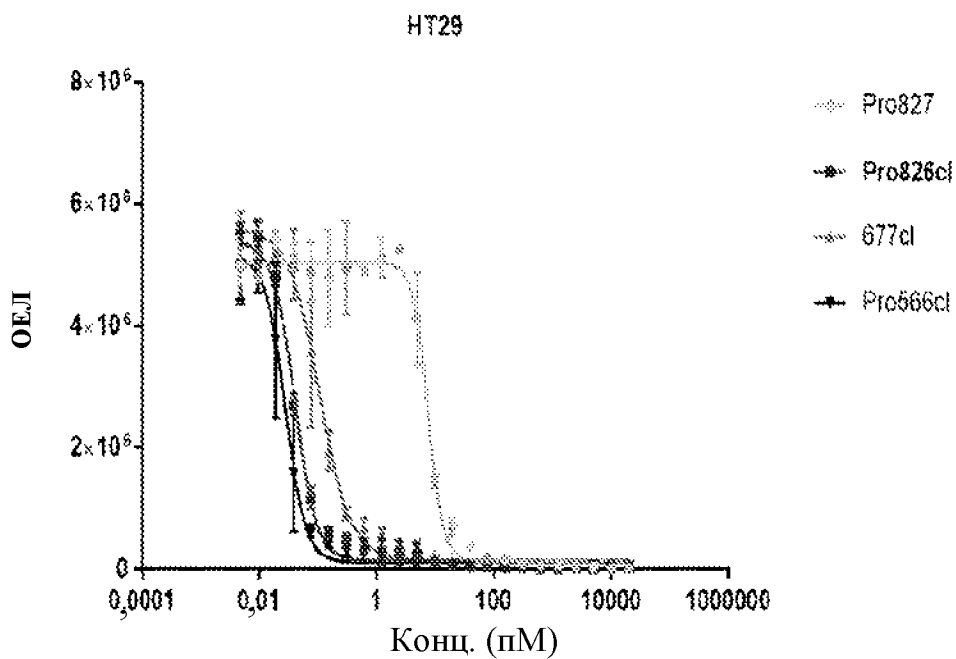
Фиг. 20



Фиг. 21



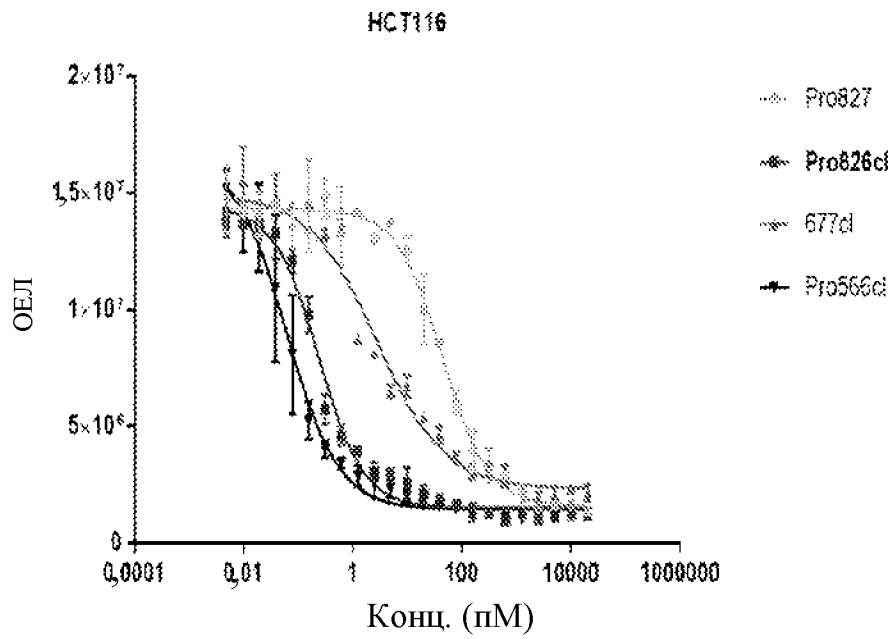
	EC50
Pro825	9,458
Pro824cl	0,04444
677cl	0,1066
Pro566cl	0,02773



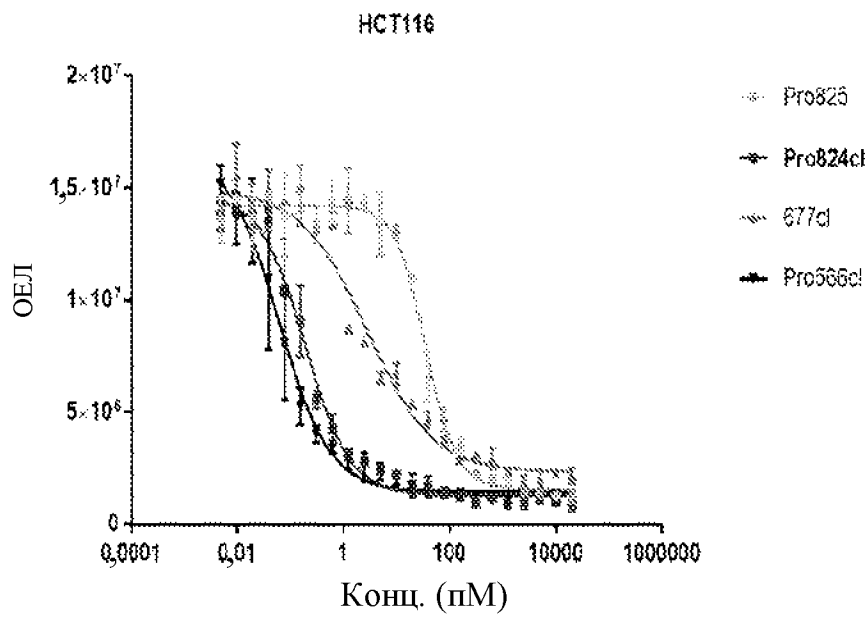
	EC50
Pro827	7,487
Pro826cl	0,04025
677cl	0,1066
Pro566cl	0,02773

110/247

Фиг. 22



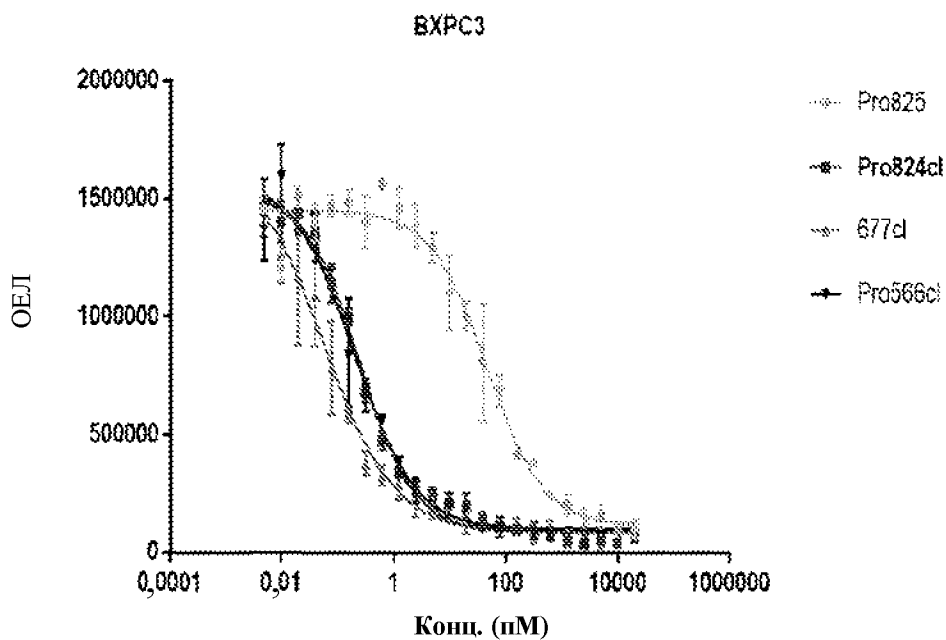
	EC50
Pro827	43,65
Pro826cl	0,2354
677cl	2767
Pro566cl	0,06059



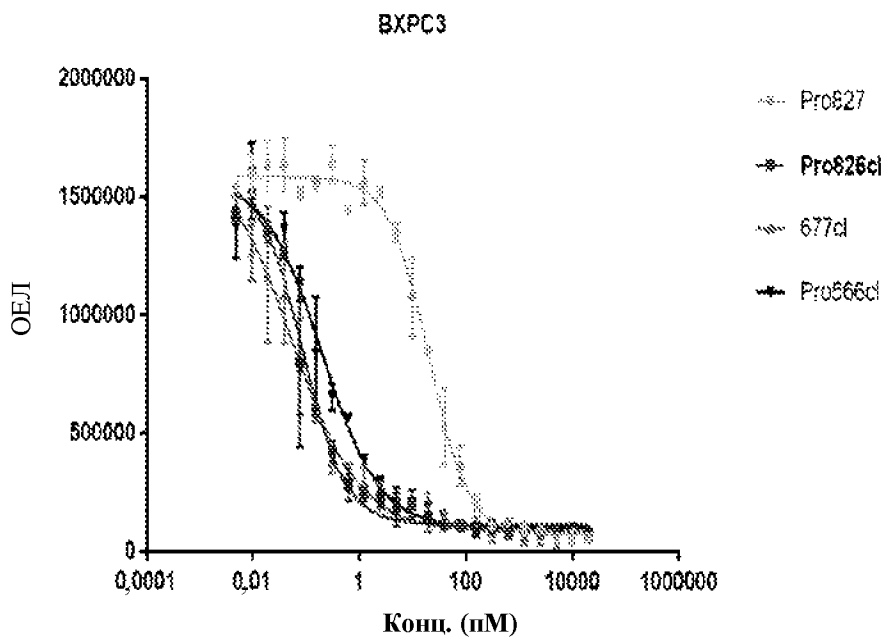
	EC50
Pro825	35,39
Pro824cl	0,1867
677cl	2,767
Pro566cl	0,06059

111/247

Фиг. 23



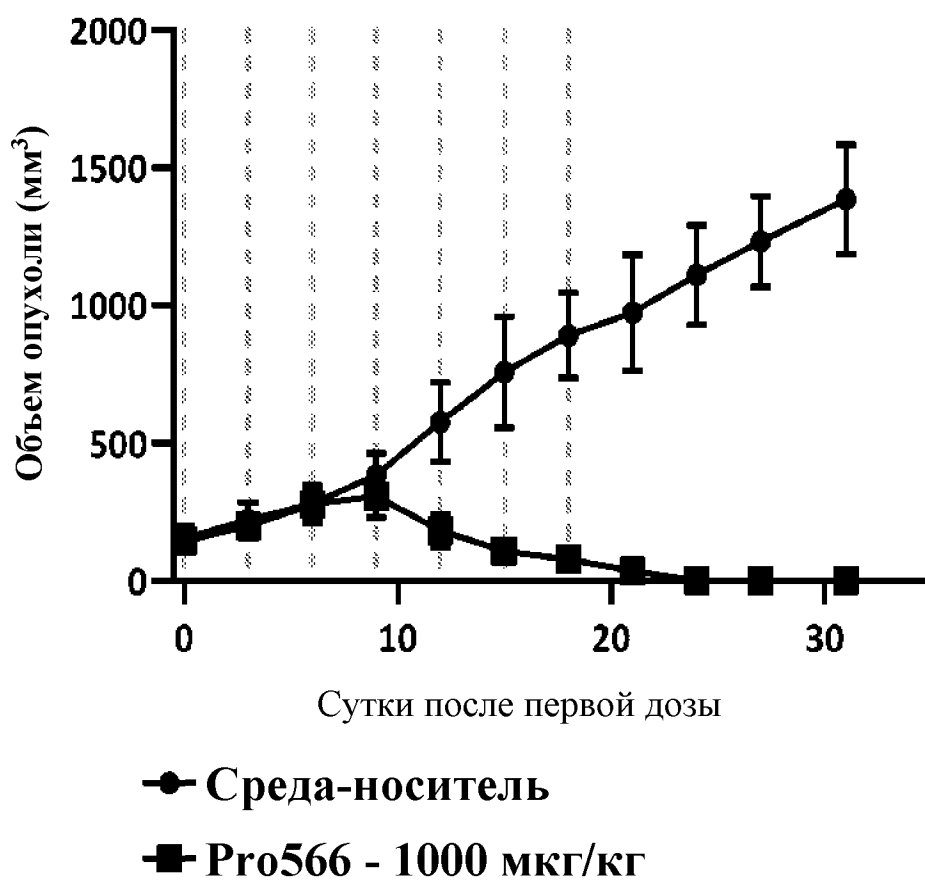
	EC50
Pro825	46,44
Pro824cl	0,2398
677cl	0,05422
Pro566cl	0,19572



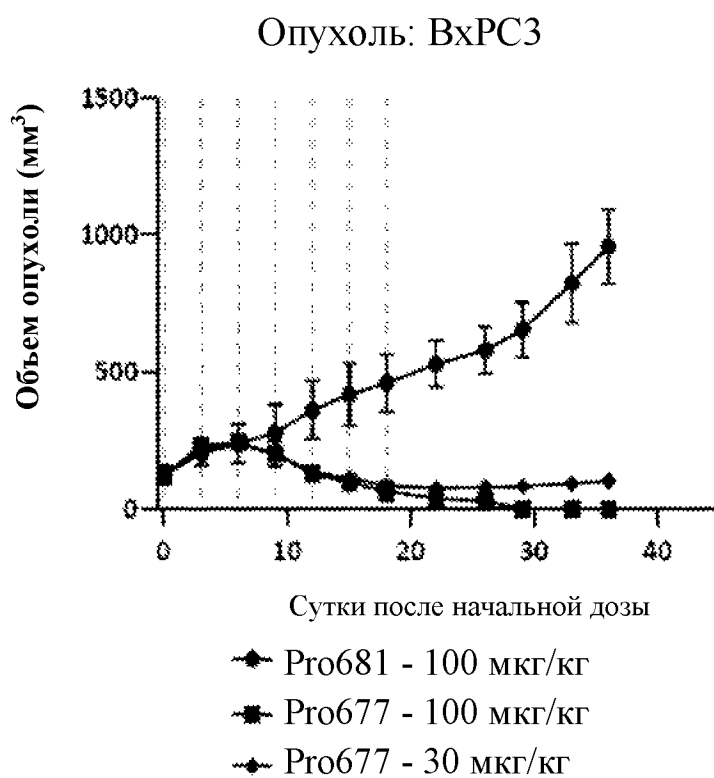
	EC50
Pro827	19,84
Pro826cl	0,08672
677cl	0,05422
Pro566cl	0,1972

Фиг. 24

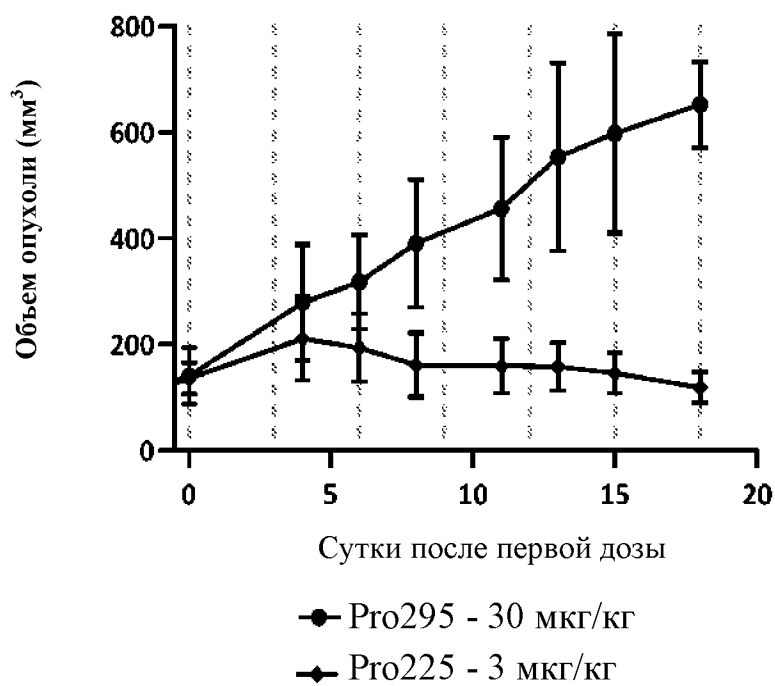
Опухоль: LoVo



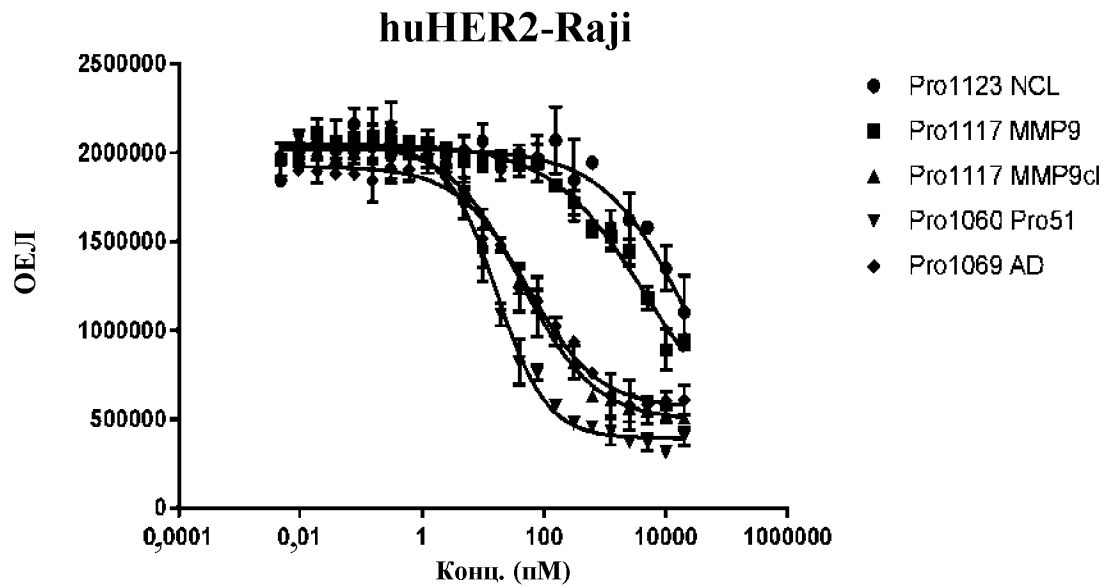
Фиг. 25



Фиг. 26

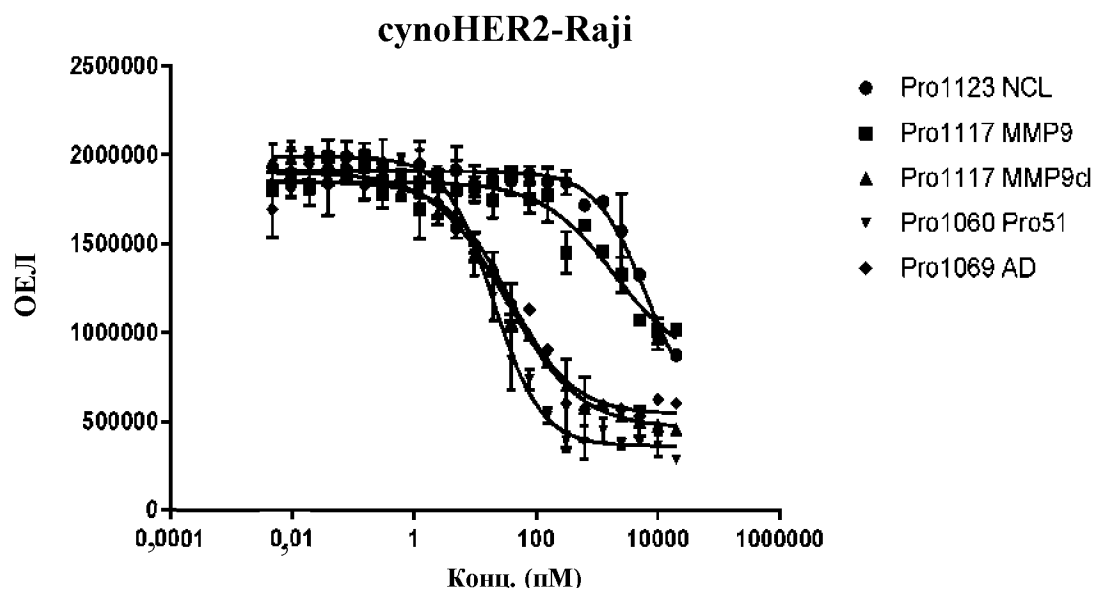
Опухоль: А549

Фиг. 27А



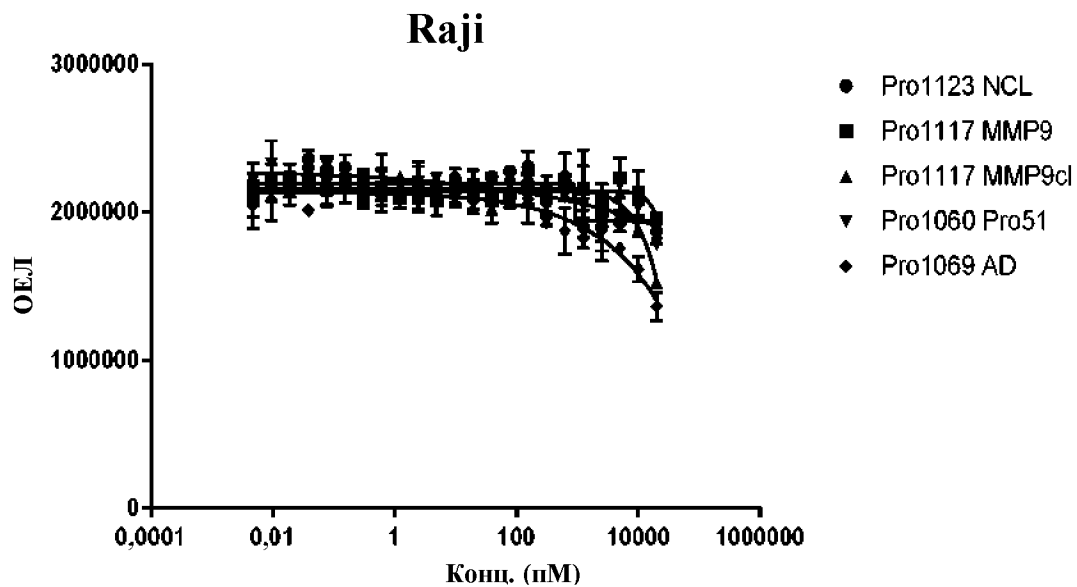
	EC50
Pro1123 NCL	33259
Pro1117 MMP9	4665
Pro1117 MMP9cl	42,21
Pro1060 Pro51	16,5
Pro1069 AD	53,79

Фиг. 27В



	EC50
Pro1123 NCL	6671
Pro1117 MMP9	1972
Pro1117 MMP9cl	33,02
Pro1060 Pro51	20,15
Pro1069 AD	37,22

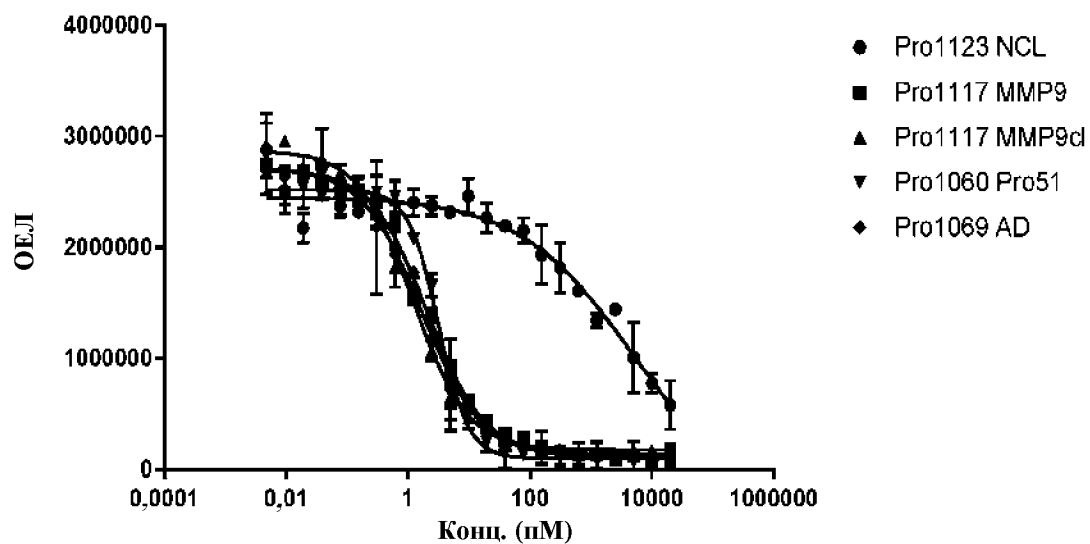
Фиг. 27С



	EC50
Pro1123 NCL	~ 907,3
Pro1117 MMP9	~141011
Pro1117 MMP9cl	~ 730276
Pro1060 Pro51	~ 3,624e+015
Pro1069 AD	~ 13427528938

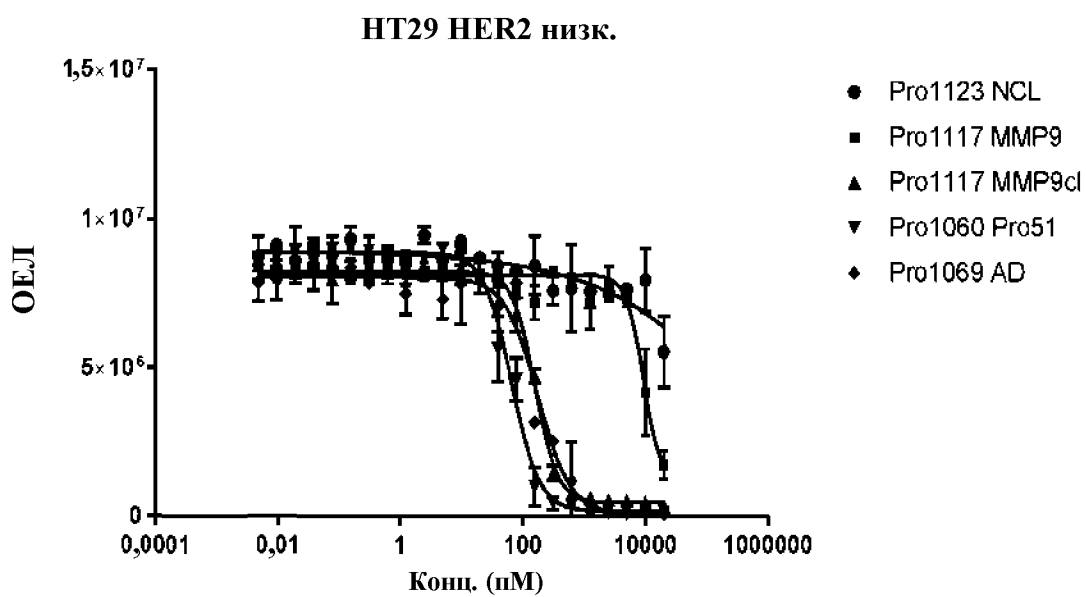
Фиг. 27D

SKOV3 HER2 ВЫСОК.



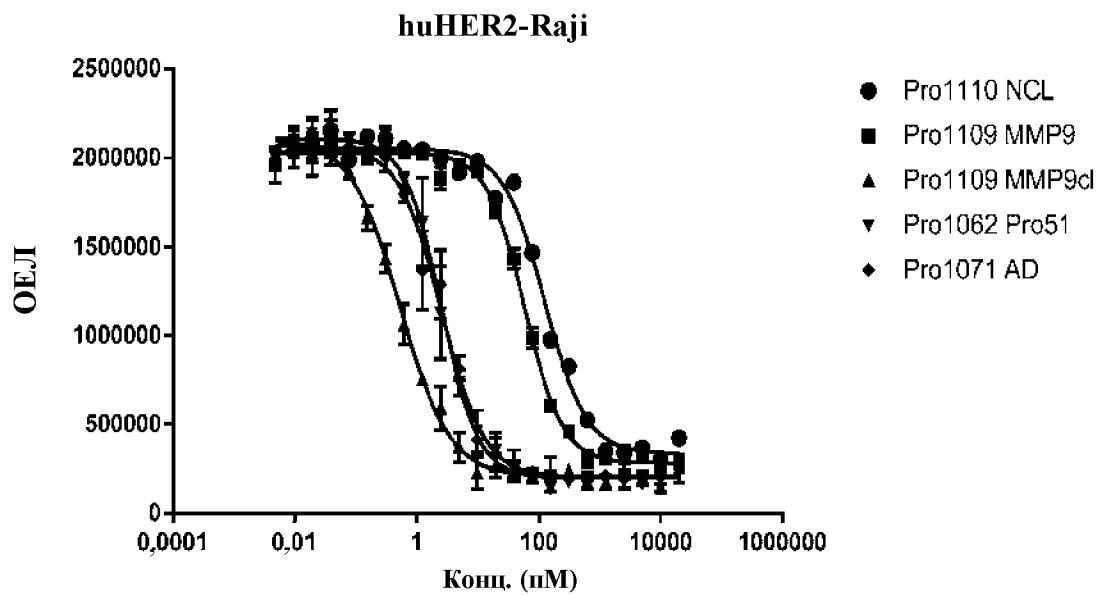
	EC50
Pro1123 NCL	5329
Pro1117 MMP9	2,066
Pro1117 MMP9cl	1,194
Pro1060 Pro51	3,124
Pro1069 AD	1,695

Фиг. 27Е



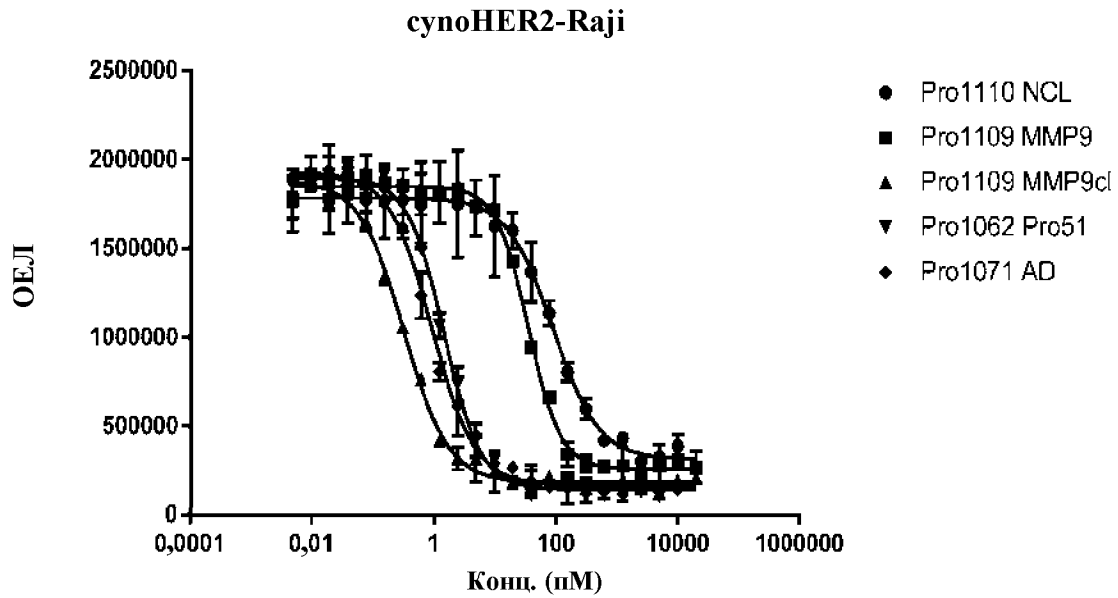
	EC50
Pro1123 NCL	~4377161900916
Pro1117 MMP9	9277
Pro1117 MMP9cl	158,5
Pro1060 Pro51	65,01
Pro1069 AD	174,7

Фиг. 28А



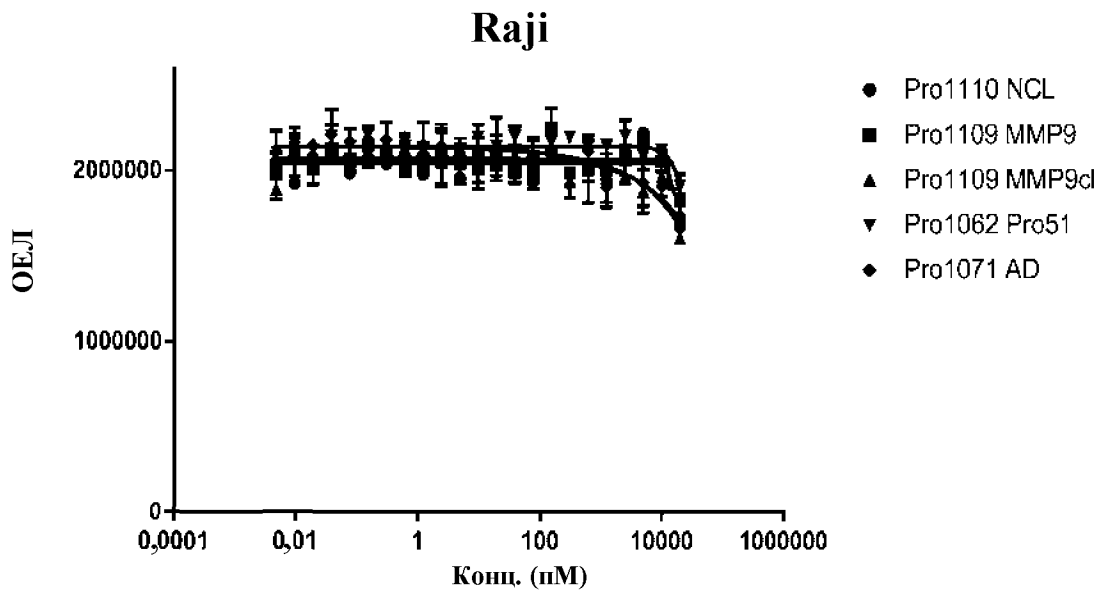
	EC50
Pro1110 NCL	124,9
Pro1109 MMP9	58,76
Pro1109 MMP9cl	0,5307
Pro1062 Pro51	2,537
Pro1071 AD	2,531

Фиг. 28В



	EC50
Pro1110 NCL	89,88
Pro1109 MMP9	35,42
Pro1109 MMP9cl	0,3203
Pro1062 Pro51	1,464
Pro1071 AD	0,9275

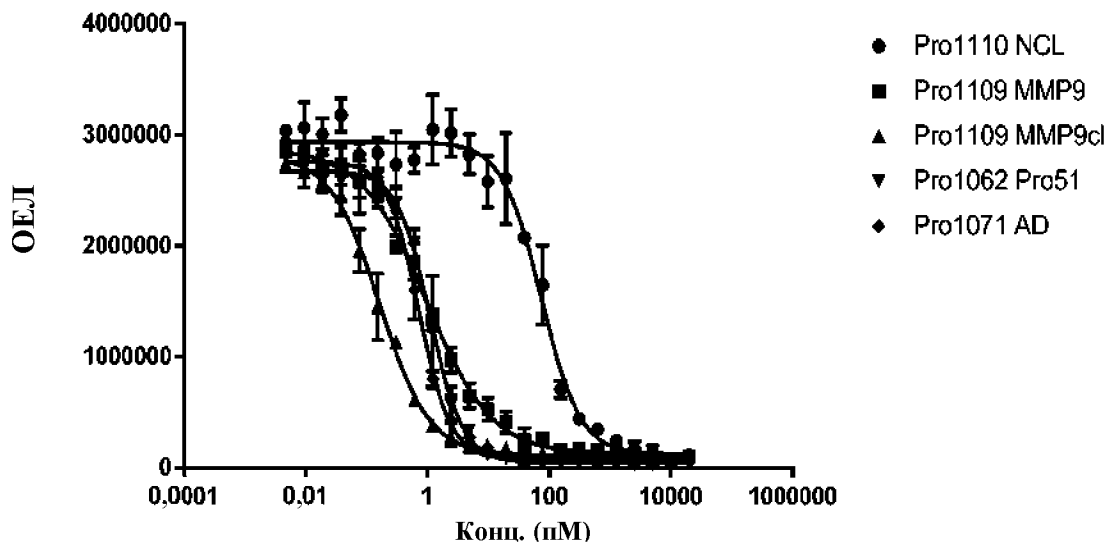
Фиг. 28С



	EC50
Pro1110 NCL	12914
Pro1109 MMP9	~ 13960
Pro1109 MMP9cl	~ 329519827
Pro1062 Pro51	~ 73414
Pro1071 AD	~ 12279495900

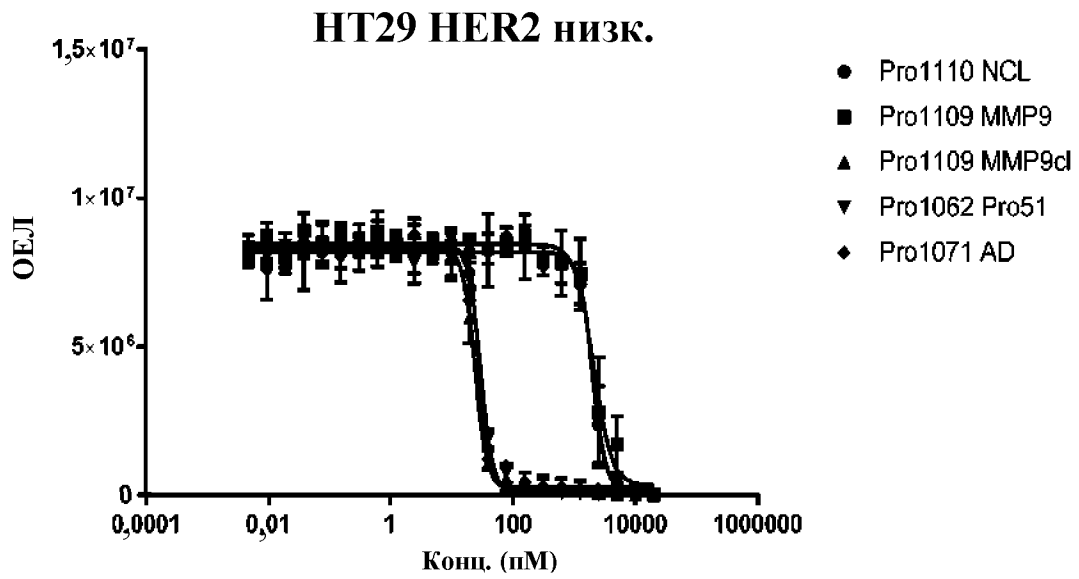
Фиг. 28D

SKOV3 HER2 ВЫСОК.



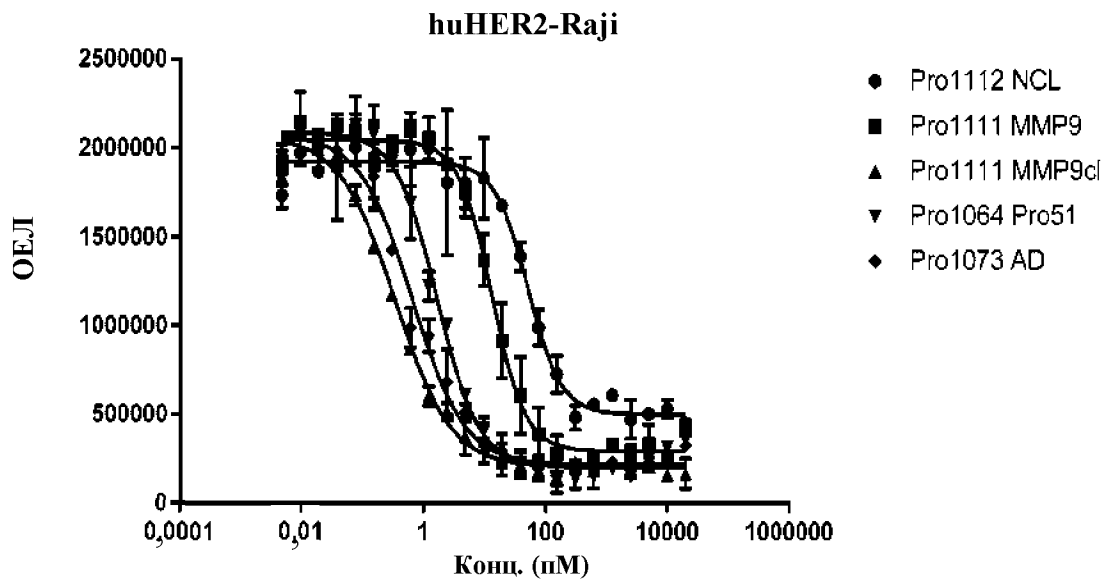
	EC50
Pro1110 NCL	74,53
Pro1109 MMP9	0,9748
Pro1109 MMP9cl	0,1659
Pro1062 Pro51	1,108
Pro1071 AD	0,727

Фиг. 28E



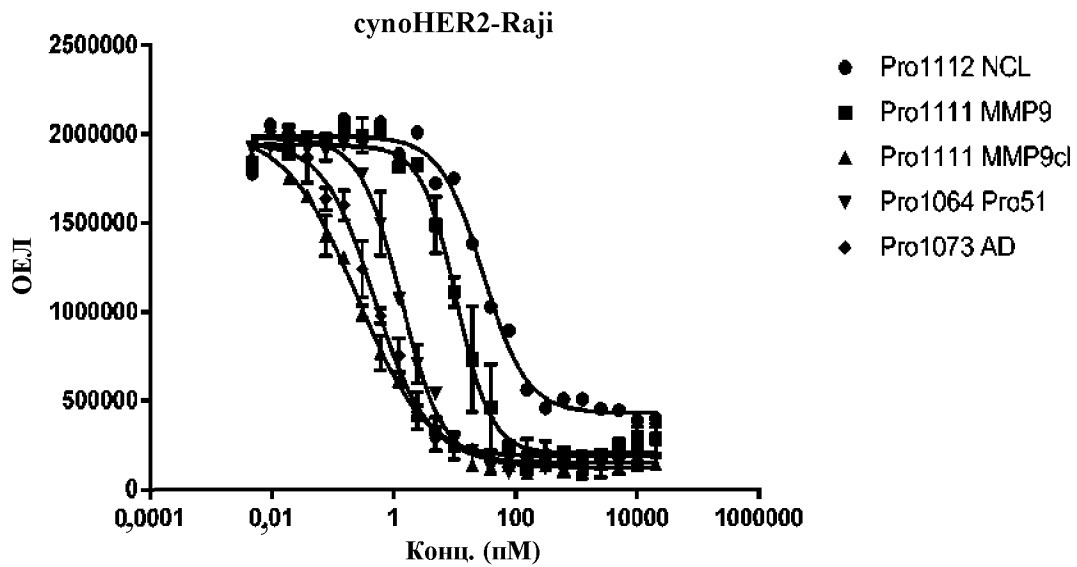
	EC50
Pro1110 NCL	1991
Pro1109 MMP9	2063
Pro1109 MMP9cl	23,88
Pro1062 Pro51	29,57
Pro1071 AD	28

Фиг. 29А



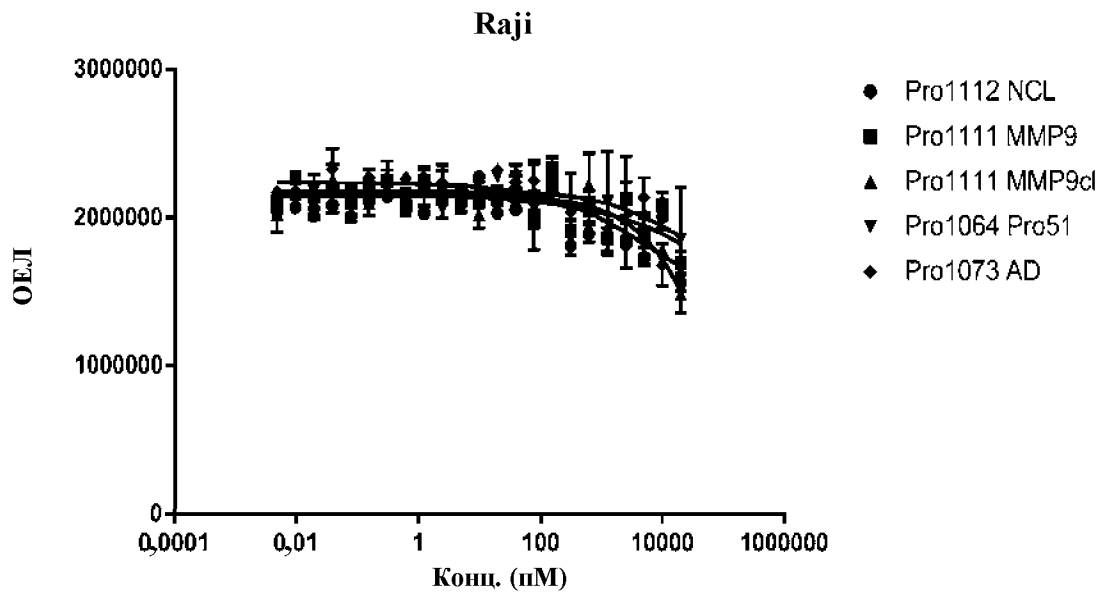
	EC50
Pro1112 NCL	52,17
Pro1111 MMP9	13,39
Pro1111 MMP9cl	0,3516
Pro1064 Pro51	1,691
Pro1073 AD	0,6615

Фиг. 29В



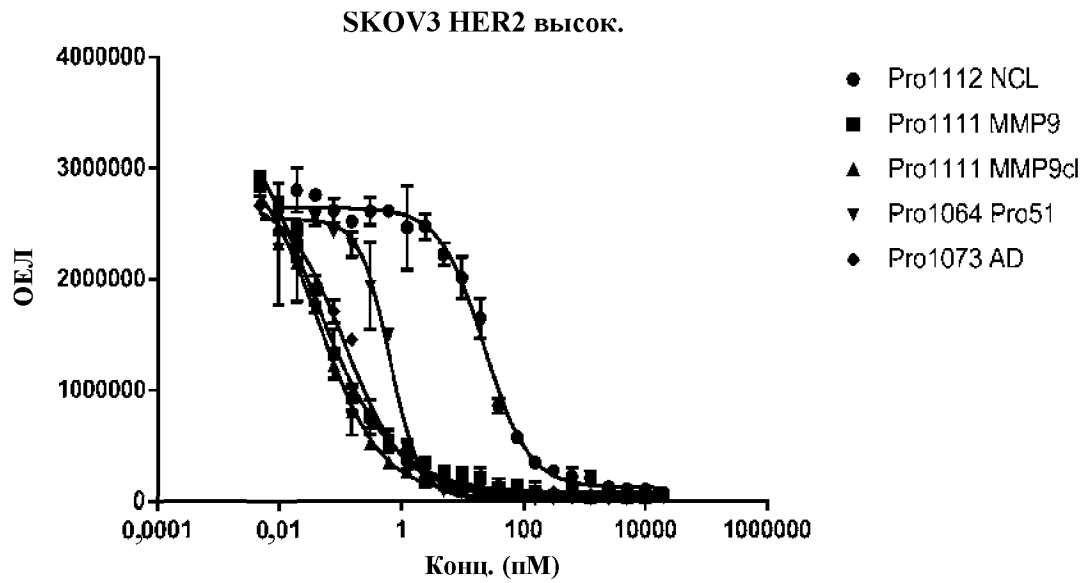
	EC50
Pro1112 NCL	29,72
Pro1111 MMP9	10,7
Pro1111 MMP9cl	0,2613
Pro1064 Pro51	1,341
Pro1073 AD	0,4876

Фиг. 29С



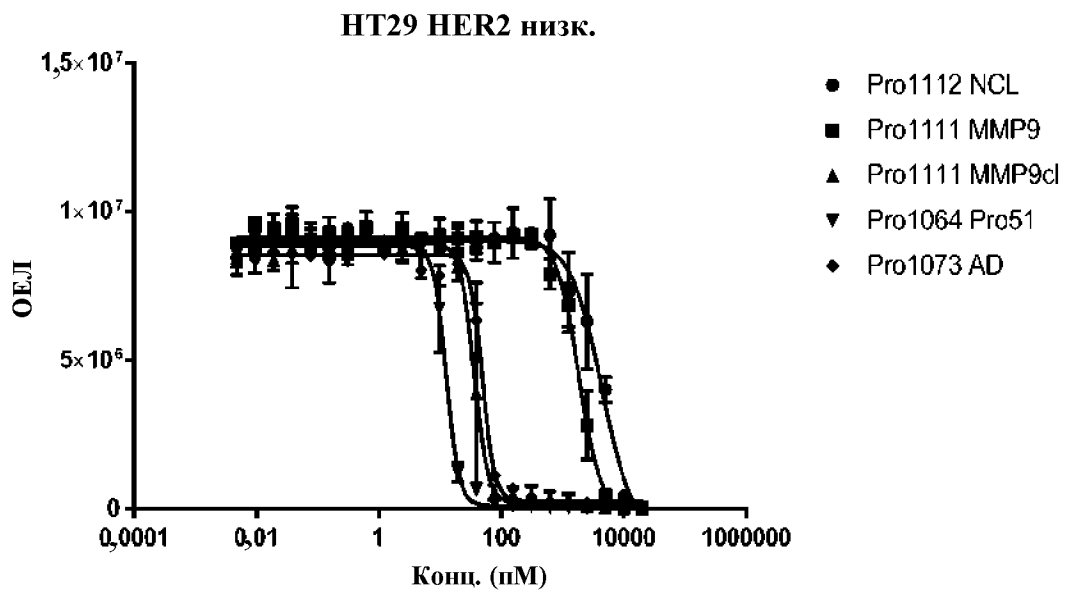
	EC50
Pro1112 NCL	
Pro1111 MMP9	~ 2345311666901
Pro1111 MMP9cl	182533
Pro1064 Pro51	15762
Pro1073 AD	6477

Фиг. 29D



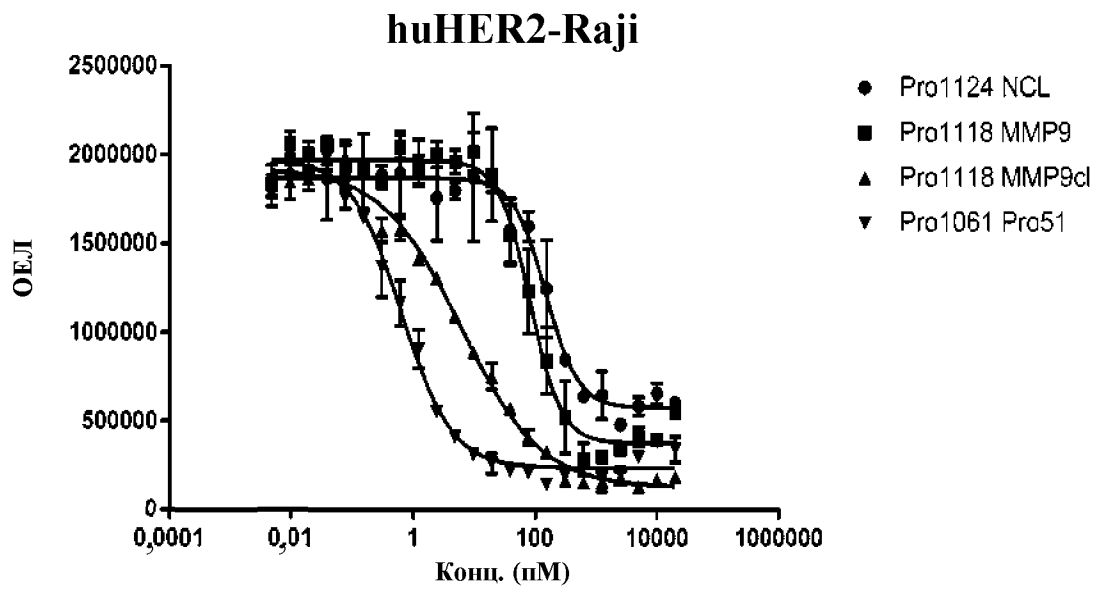
	EC50
Pro1112 NCL	22,88
Pro1111 MMP9	0,03226
Pro1111 MMP9cl	0,04267
Pro1064 Pro51	0,6359
Pro1073 AD	0,1188

Фиг. 29Е



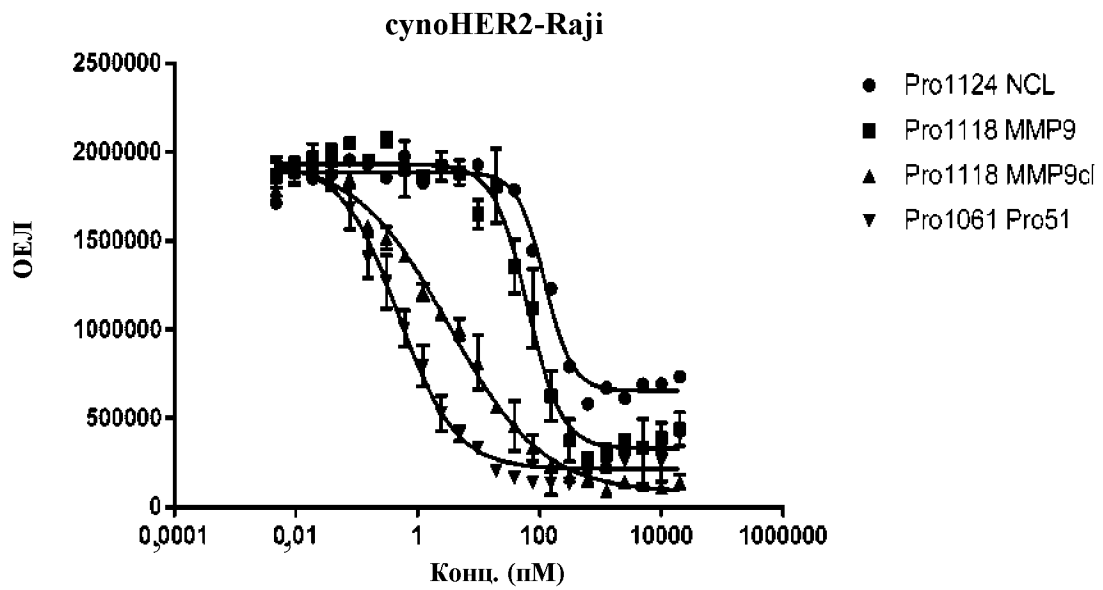
	EC50
Pro1112 NCL	4404
Pro1111 MMP9	1837
Pro1111 MMP9cl	35,97
Pro1064 Pro51	12,66
Pro1073 AD	48,88

Фиг. 30А



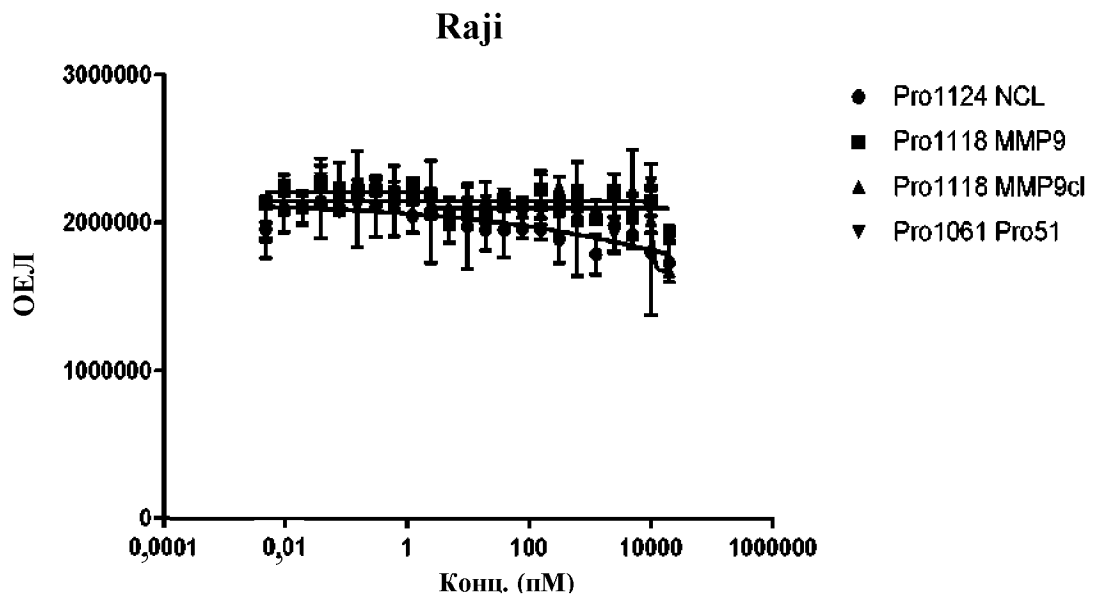
	EC50
Pro1124 NCL	150,1
Pro1118 MMP9	83,29
Pro1118 MMP9cl	6,191
Pro1061 Pro51	0,6503

Фиг. 30В



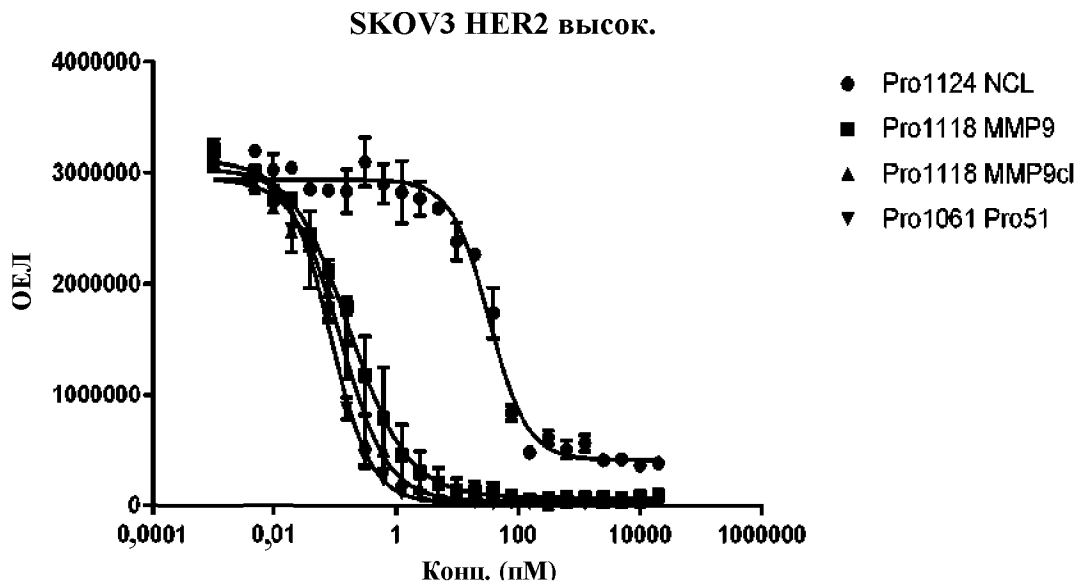
	EC50
Pro1124 NCL	122,5
Pro1118 MMP9	64,39
Pro1118 MMP9cl	3,295
Pro1061 Pro51	0,4918

Фиг. 30С



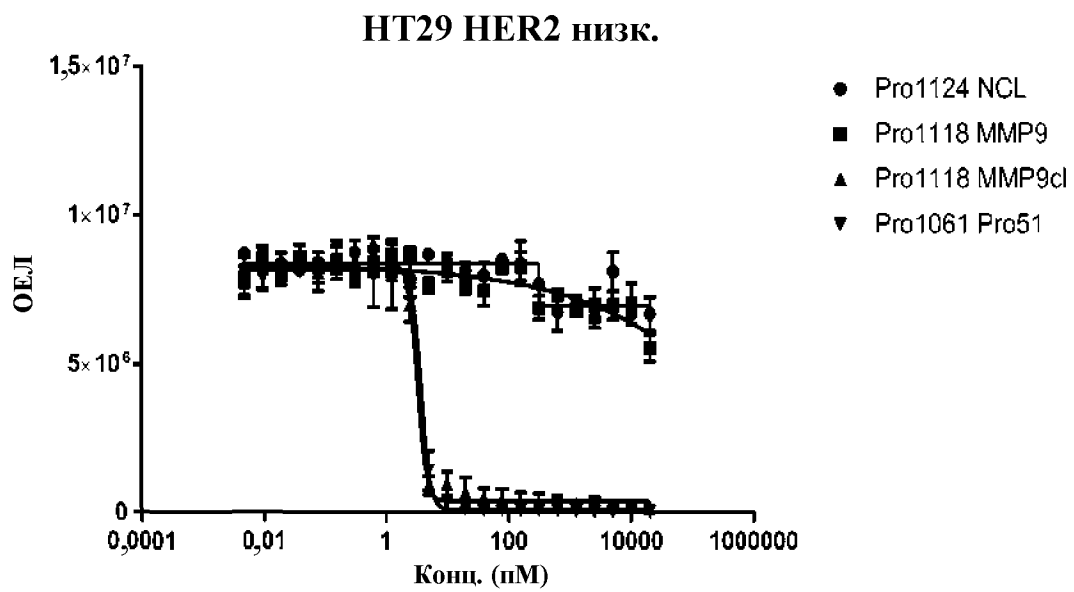
	EC50
Pro1124 NCL	279359
Pro1118 MMP9	~ 2,605
Pro1118 MMP9cl	~ 10630
Pro1061 Pro51	

Фиг. 30D



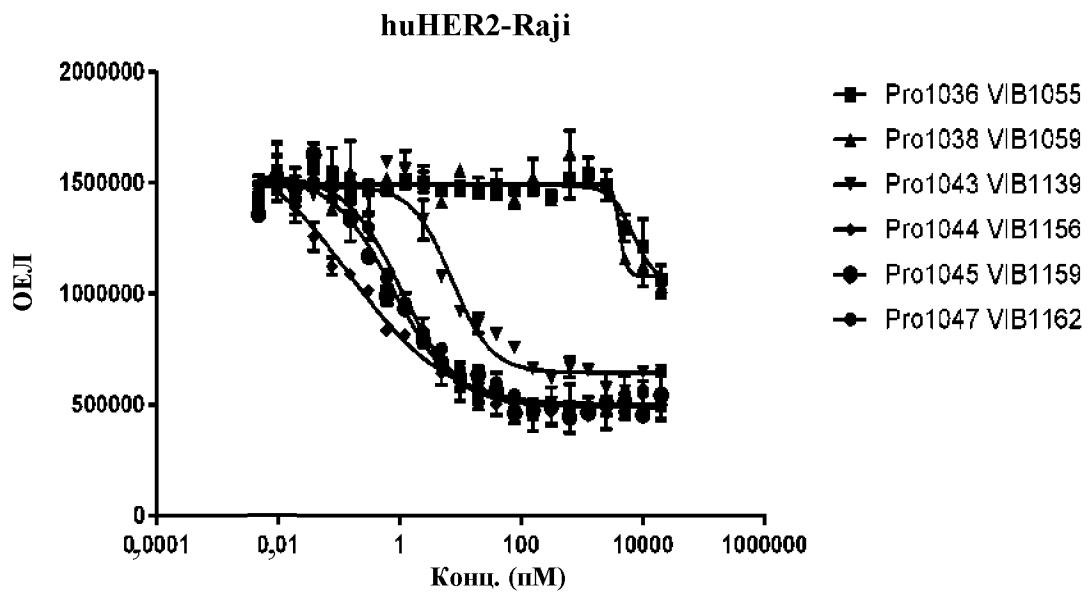
	EC50
Pro1124 NCL	33,66
Pro1118 MMP9	0,1668
Pro1118 MMP9cl	0,124
Pro1061 Pro51	0,08374

Фиг. 30Е



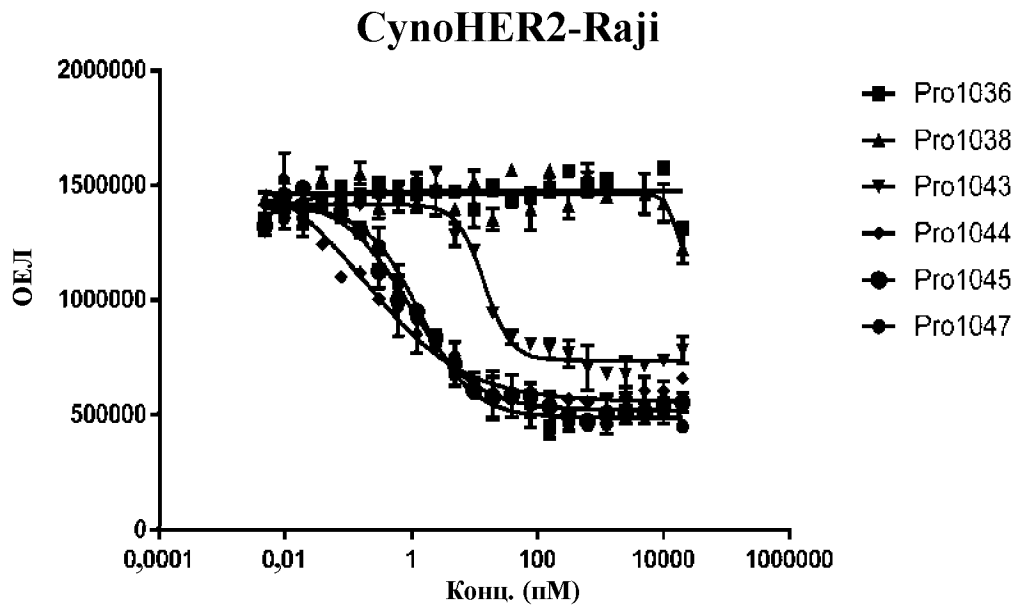
	EC50
Pro1124 NCL	~ 312,6
Pro1118 MMP9	~ 1048540939061
Pro1118 MMP9cl	3,171
Pro1061 Pro51	3,702

Фиг. 31А



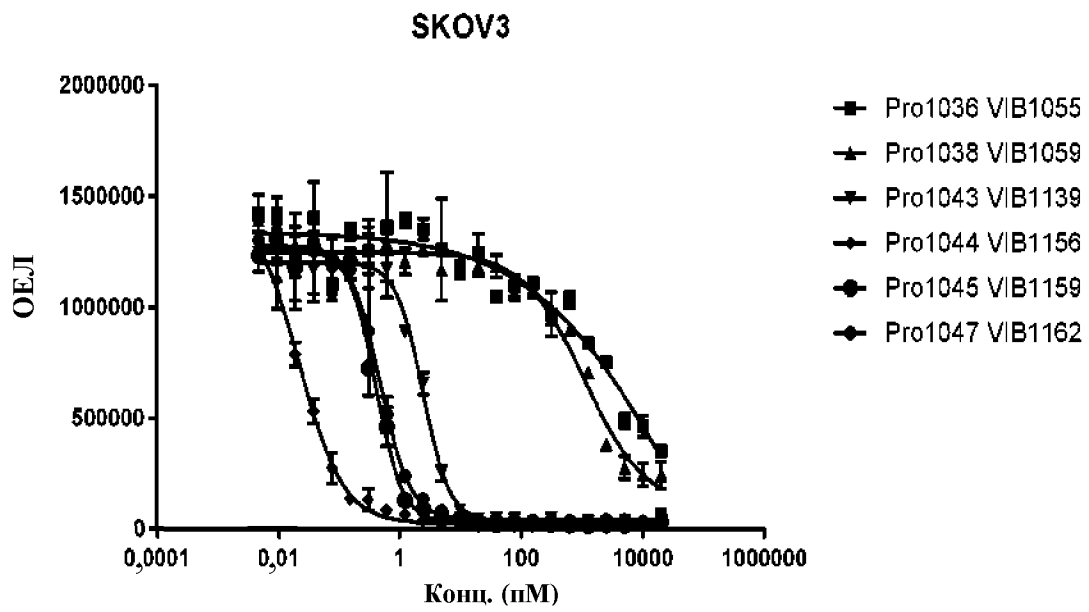
	EC50
Pro1036 VIB1055	6901
Pro1038 VIB1059	4123
Pro1043 VIB1139	7,189
Pro1044 VIB1156	0,1431
Pro1045 VIB1159	0,7976
Pro1047 VIB1162	1,069

Фиг. 31В



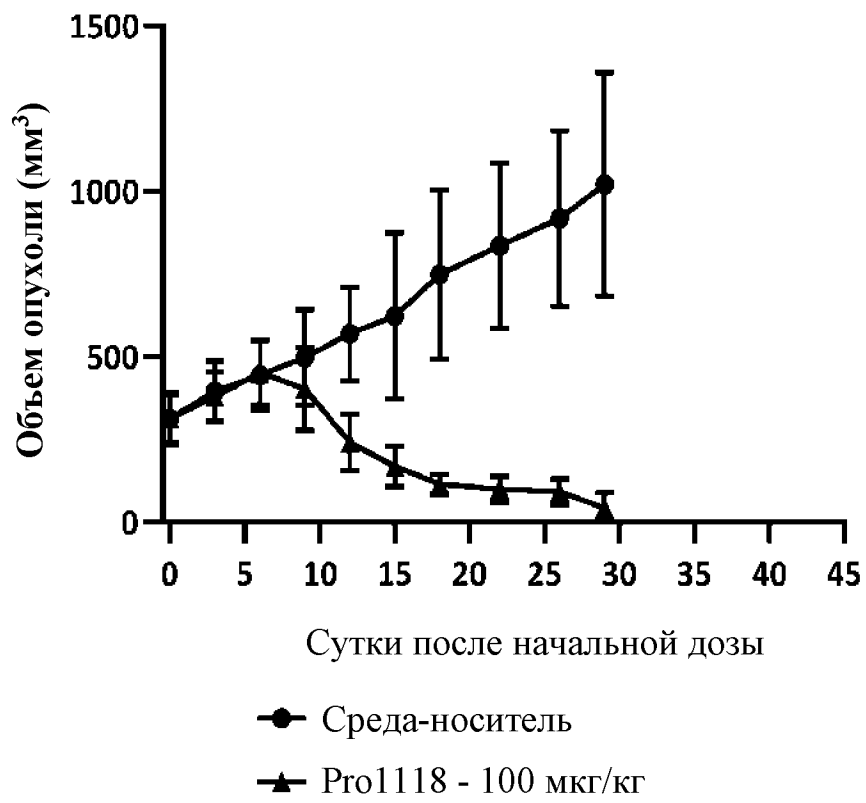
	EC50
Pro1036	~8,307e-005
Pro1038	16608
Pro1043	14,21
Pro1044	0,1837
Pro1045	0,8972
Pro1047	1,348

Фиг. 31С



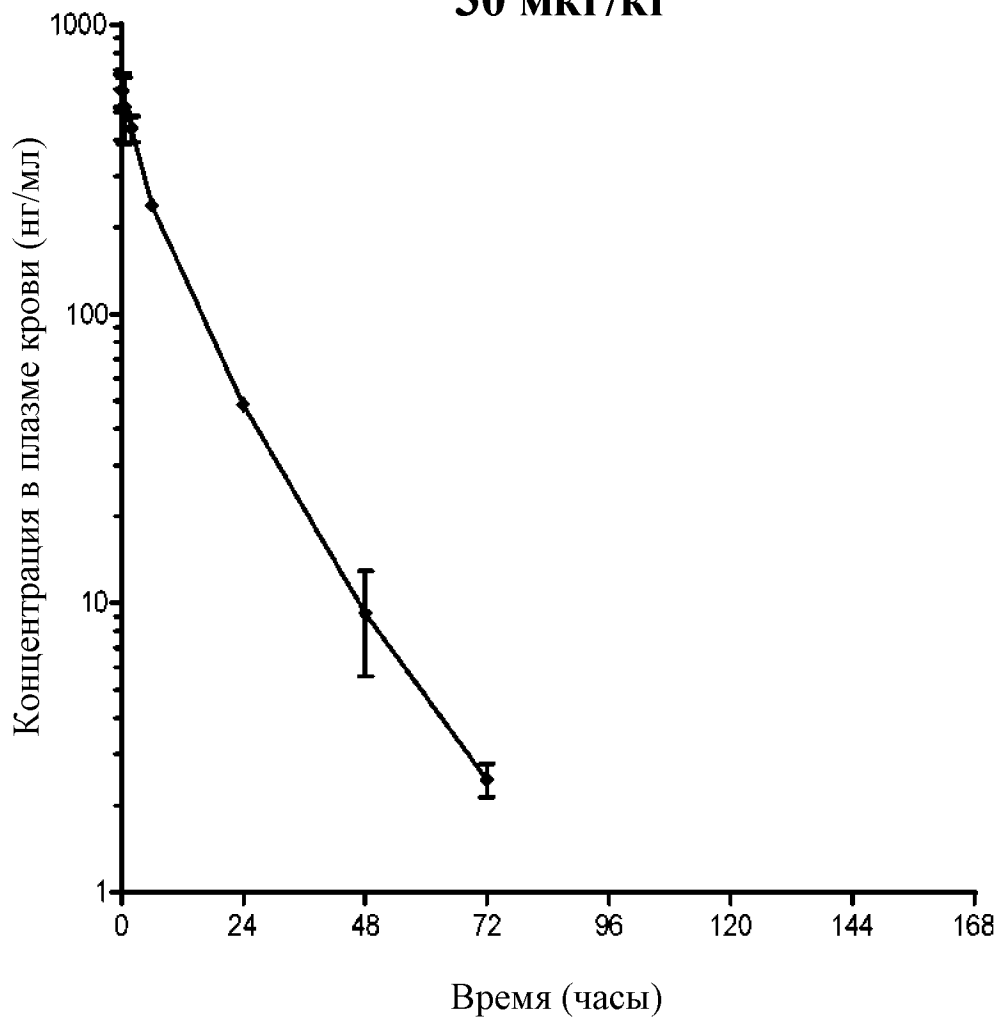
	EC50
Pro1036 VIB1055	29821
Pro1038 VIB1059	1084
Pro1043 VIB1139	2,401
Pro1044 VIB1156	0,02212
Pro1045 VIB1159	0,4071
Pro1047 VIB1162	0,4788

Фиг. 32



Фиг. 33

ФК у мыши: Pro111
30 мкг/кг

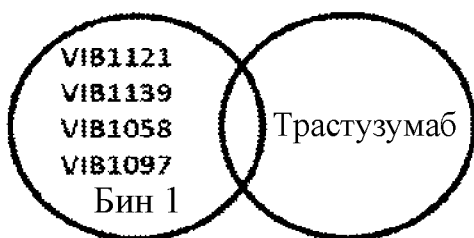


Фиг. 34

Конкурирующее антитело (100 нМ)

Насыщающее антитело (333 нМ)

	VIB1121	VIB1139	VIB1058	VIB1097	Трастузумаб	VIB1156	VIB1160	VIB1159	VIB1162
VIB1121	NB	NB	NB	NB	B	B	B	B	B
VIB1139	NB	NB	NB	NB	B	B	B	B	B
VIB1058	NB	NB	NB	NB	B	B	B	B	B
VIB1097	NB	NB	NB	NB	B	B	B	B	B
Трастузумаб	NB	NB	NB	NB	NB	B	B	B	B
VIB1156	B	B	B	B	B	NB	NB	B	B
VIB1160	B	B	B	B	B	NB	NB	B	B
VIB1159	B	B	B	B	B	B	B	NB	NB
VIB1162	B	B	B	B	B	B	B	NB	NB



B: связывание конкурирующего Ат
NB: нет связывания конкурирующего Ат

140/247

Фиг. 35

Конкурирующее антитело (100 нМ)

Насыщающее антитело
(333 нМ)

	pro1118	pro1111	Трастузумаб	Пертузумаб
pro1118	NB	B	B	B
pro1111	B	NB	B	B
Трастузумаб	B	B	NB	B
Пертузумаб	B	B	B	NB

B: связывание конкурирующего Ат

NB: нет связывания конкурирующего Ат

Фиг. 36

Картирование эпитопов HER2 sdAb h1156 (Pro 1061)		
Аминокислотное (АК) положение	Аминокислотная (АК) последовательность	SEQ ID NO:
AK147-148	WK	
AK157-161	LALTL (главная)	515
AK194-198	TRTVC	516

Картирование эпитопов HER2 sdAb h1162 (Pro1064)		
Аминокислотное (АК) положение	Аминокислотная (АК) последовательность	SEQ ID NO:
AK462-472	QLTFRNPHQALL	517

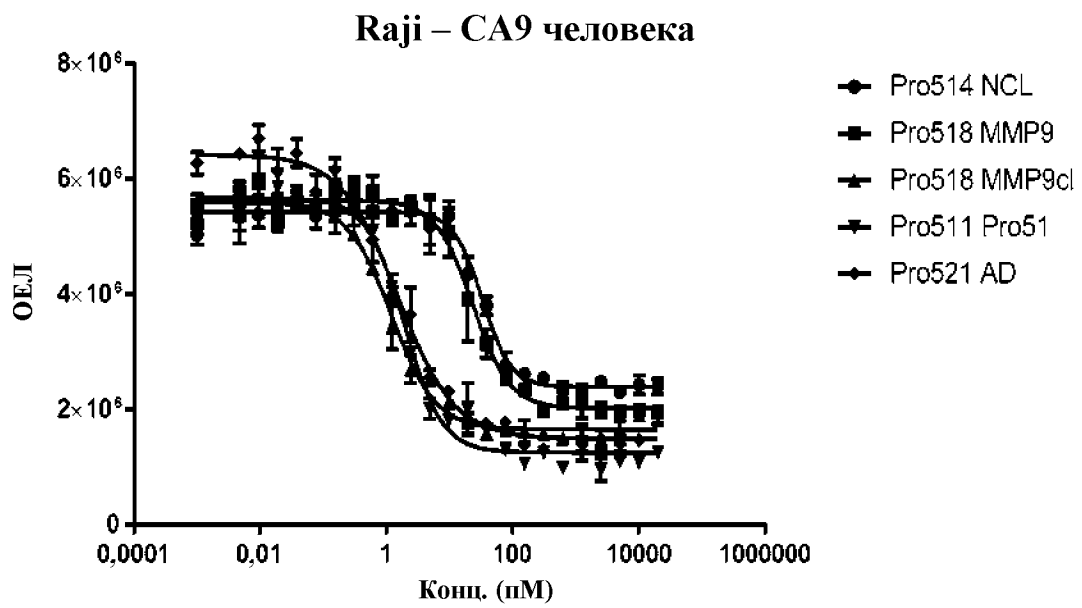
142/247

Фиг. 37

sdAb	Prodent	HER2 человека			HER2 яванской макаки			HER2 мыши		
		k_{on} (1/Мс)	k_{off} (1/с)	K_D (нМ)	k_{on} (1/Мс)	k_{off} (1/с)	K_D (нМ)	k_{on} (1/Мс)	k_{off} (1/с)	K_D (нМ)
1055	Pro1036	3,20E+05	1,70E-02	53,1	3,49E+05	2,44E-02	69,9	nb		
1058	Pro1037	2,15E+05	1,85E-03	8,6	3,15E+05	3,06E-03	9,7	nb		
1059	Pro1038	3,86E+05	8,86E-03	23,0	2,40E+05	2,04E-02	85,0	nb		
1091	Pro1039	1,19E+05	7,12E-04	6,0	1,36E+05	1,15E-03	8,5	nb		
1092	Pro1040	1,13E+05	3,49E-04	3,1	1,19E+05	5,39E-04	4,5	nb		
1097	Pro1041	1,20E+05	3,04E-04	2,5	1,46E+05	6,30E-04	4,3	nb		
1121	Pro1042	2,26E+05	8,53E-04	3,8	1,77E+05	8,09E-04	4,6	nb		
1139	Pro1043	3,08E+05	1,71E-03	5,6	3,91E+05	2,61E-03	6,7	nb		
1156	Pro1044	9,44E+03	6,24E-05	6,6	1,07E+04	9,58E-05	9,0	nb		
1159	Pro1045	2,57E+04	4,63E-04	18,0	2,68E+04	4,55E-04	17,0	4,20E+04	3,36E-03	80,0
1160	Pro1046	3,00E+03	1,70E-04	56,7	1,57E+04	1,69E-04	10,8	nb		
1162	Pro1047	1,52E+05	3,26E-03	21,4	1,72E+05	3,64E-03	21,2	1,36E+06	7,35E-02	54,0
h1058	Pro1056	2,28E+05	4,82E-03	21,1	2,83E+05	8,27E-03	29,2	nb		
h1092	Pro1057	1,11E+05	4,71E-04	4,2	1,68E+05	8,52E-04	5,1	nb		
h1097	Pro1058	1,05E+05	5,42E-04	5,2	2,05E+05	1,25E-03	6,1	nb		
h1121	Pro1059	3,09E+05	2,99E-03	9,7	3,02E+05	2,79E-03	9,2	nb		
h1139	Pro1060	3,12E+05	2,29E-03	7,3	5,16E+05	3,84E-03	7,4	nb		
h1156	Pro1061	1,66E+05	<1,0e-7	<0,01	1,88E+05	<1,0e-7	<0,01	nb		
h1159	Pro1062	8,41E+03	8,93E-04	106,2	2,36E+04	8,74E-04	37,0	2,71E+02	5,18E-03	19114,4
h1160	Pro1063	9,90E+03	4,22E-04	42,6	1,14E+04	5,10E-04	44,7	nb		
h1162	Pro1064	1,74E+05	3,99E-03	22,9	2,14E+05	4,67E-03	21,8	9,66E+05	1,18E-01	122,2

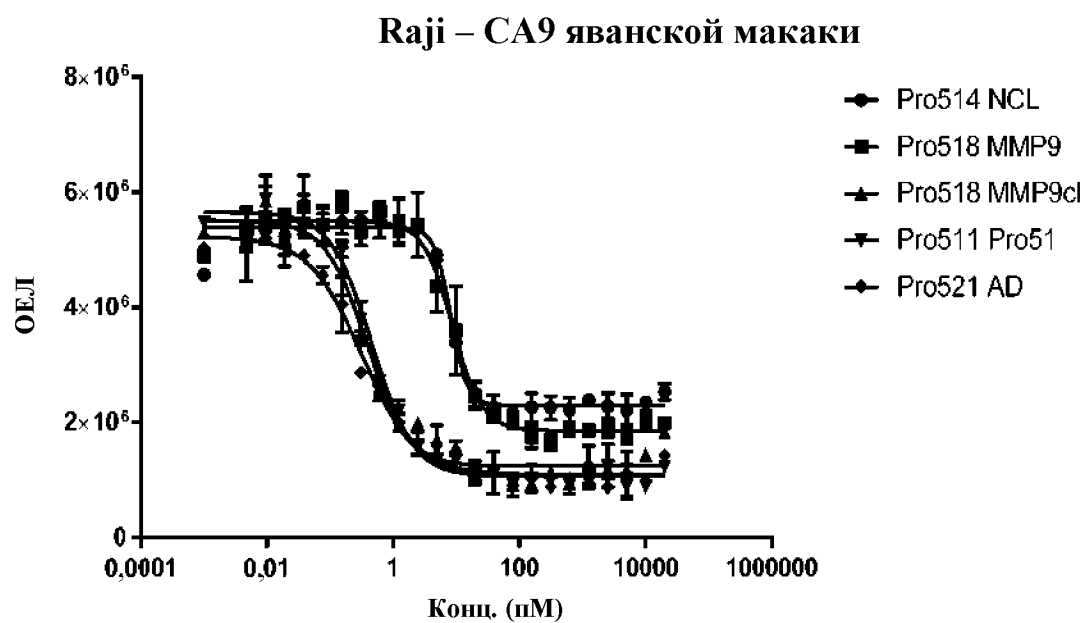
143/247

Фиг. 38А



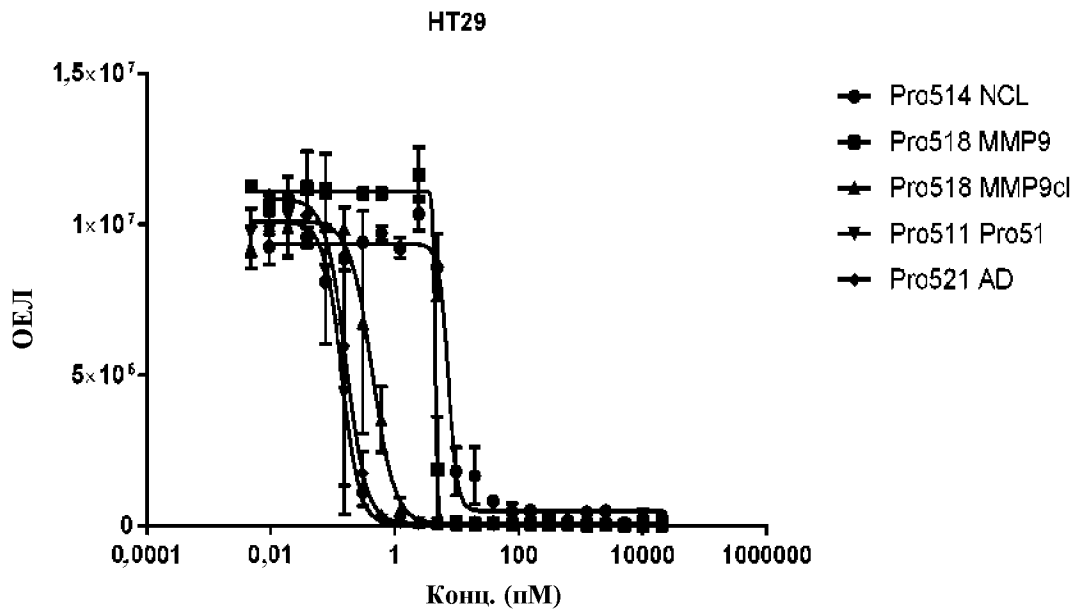
	EC50
Pro514 NCL	33,39
Pro518 MMP9	23,42
Pro518 MMP9cl	1,227
Pro511 Pro51	1,951
Pro521 AD	1,525

Фиг. 38В



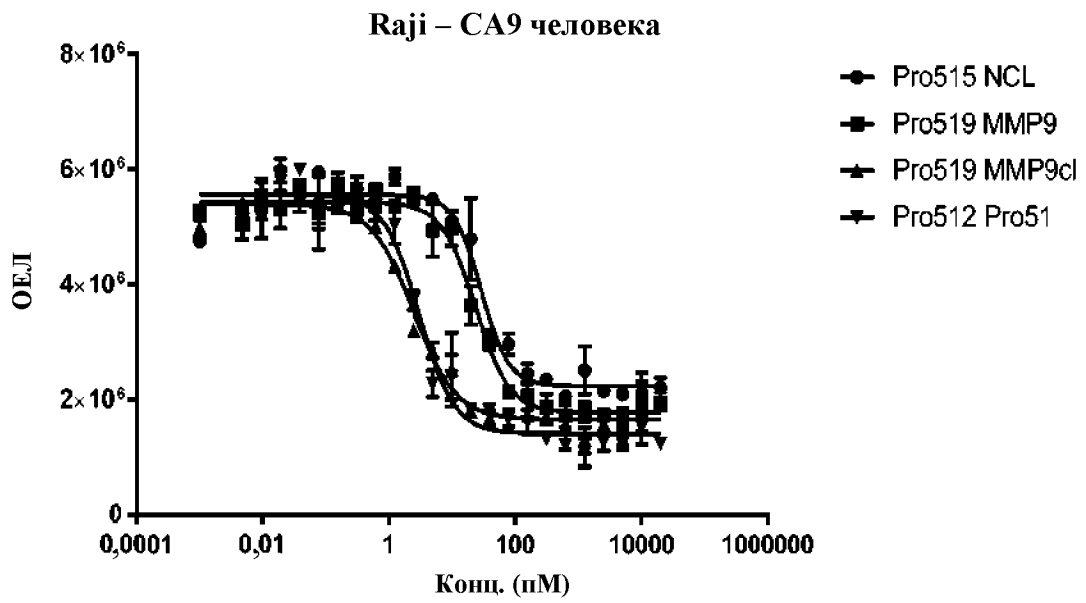
	EC50
Pro514 NCL	8,195
Pro518 MMP9	8,735
Pro518 MMP9cl	0,3825
Pro511 Pro51	0,4614
Pro521 AD	0,3216

Фиг. 38С



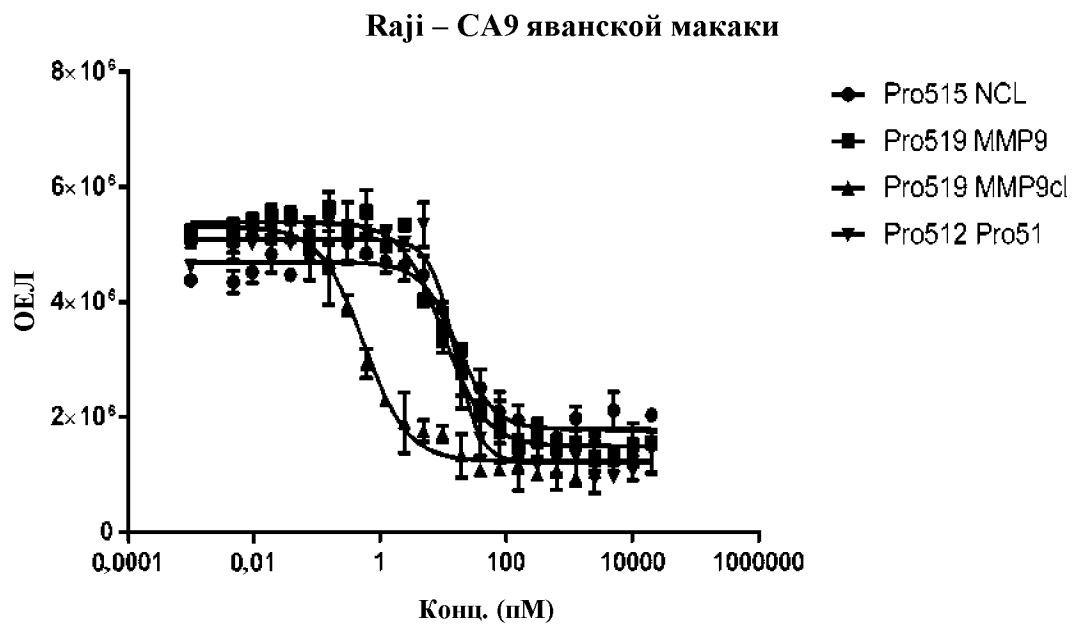
	EC50
Pro514 NCL	7,288
Pro518 MMP9	~ 4,544
Pro518 MMP9cl	0,4366
Pro511 Pro51	0,1392
Pro521 AD	0,163

Фиг. 39А



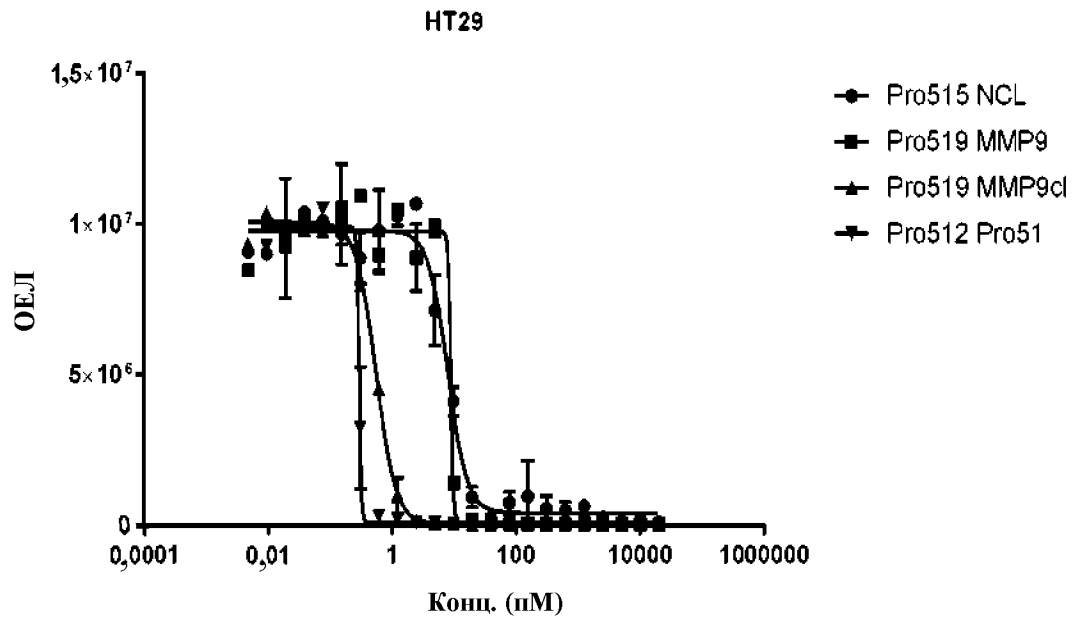
	EC50
Pro515 NCL	28,91
Pro519 MMP9	23,5
Pro519 MMP9cl	2,466
Pro512 Pro51	2,984

Фиг. 39В



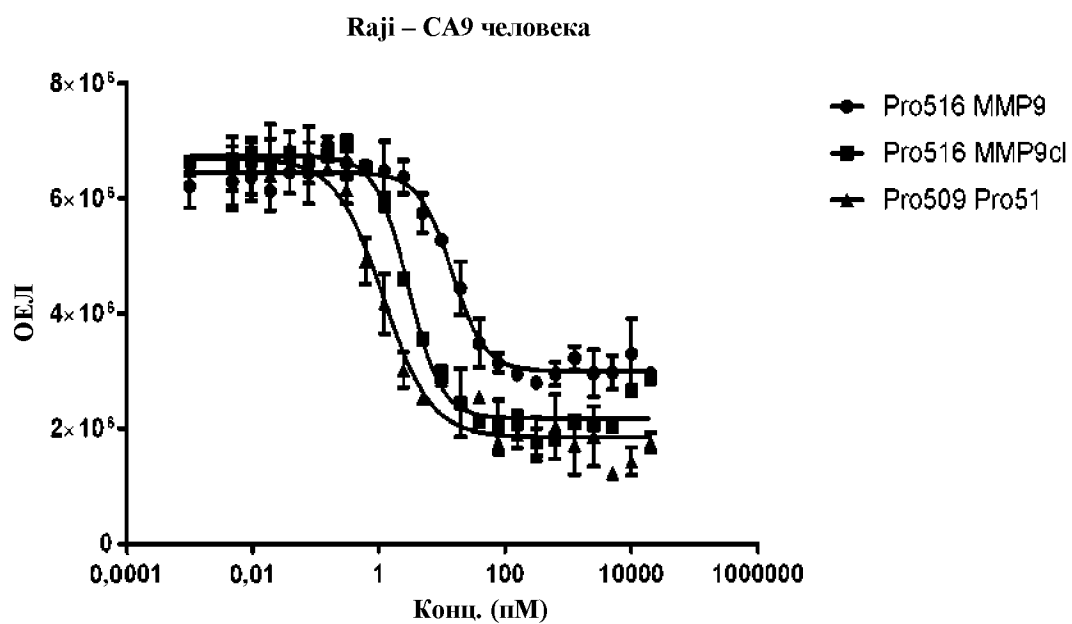
	EC50
Pro515 NCL	16,85
Pro519 MMP9	10,16
Pro519 MMP9cl	0,5591
Pro512 Pro51	15,59

Фиг. 39С



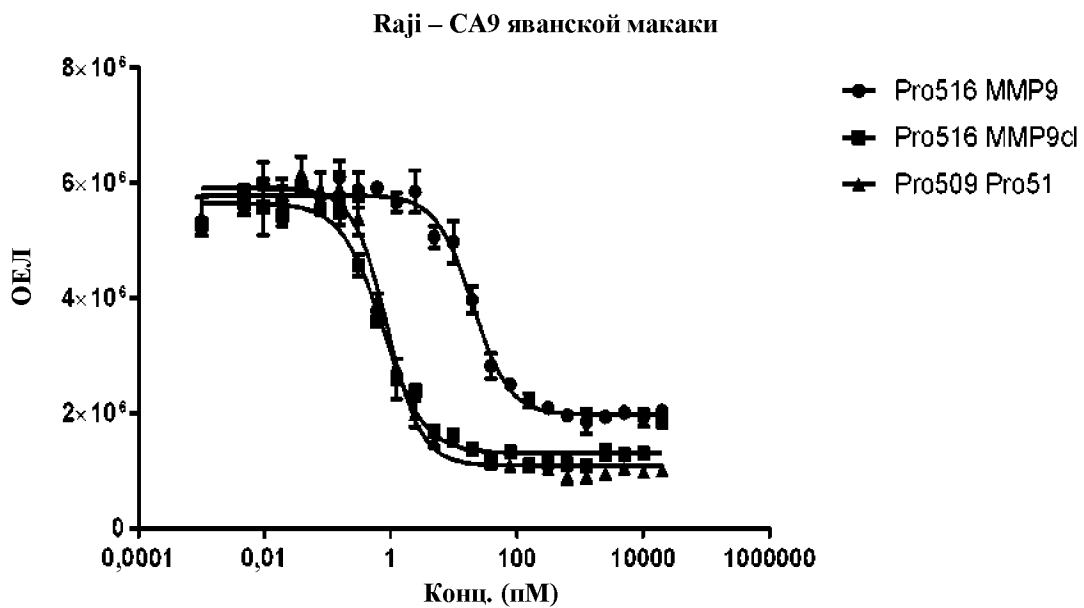
	EC50
Pro515 NCL	7,886
Pro519 MMP9	~ 8,91
Pro519 MMP9cl	0,5514
Pro512 Pro51	~ 0,2946

Фиг. 40А



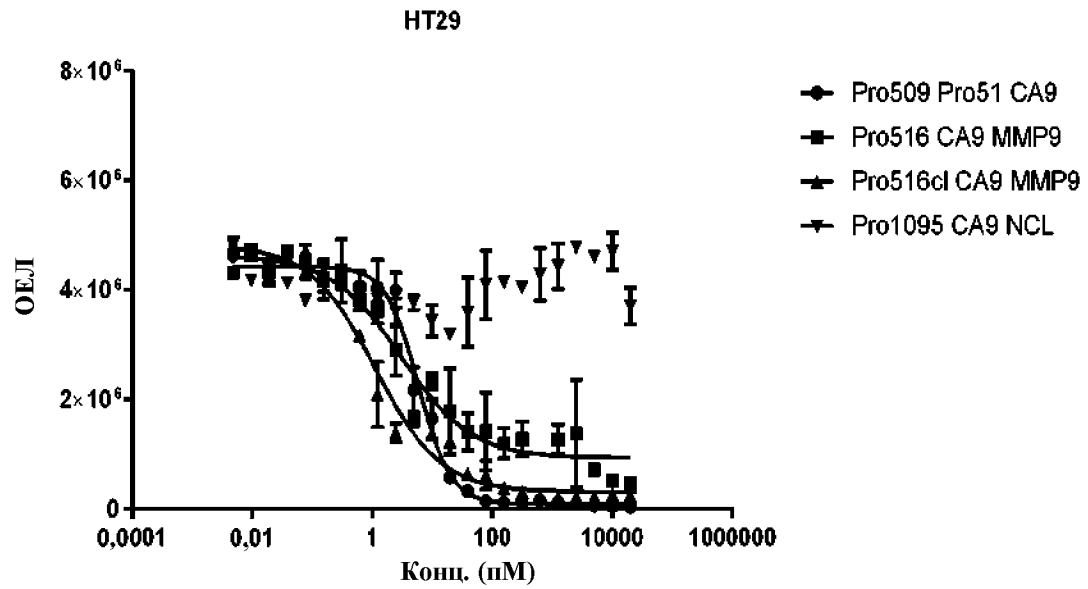
	EC50
Pro516 MMP9	14,4
Pro516 MMP9cl	2,941
Pro509 Pro51	1,183

Фиг. 40В



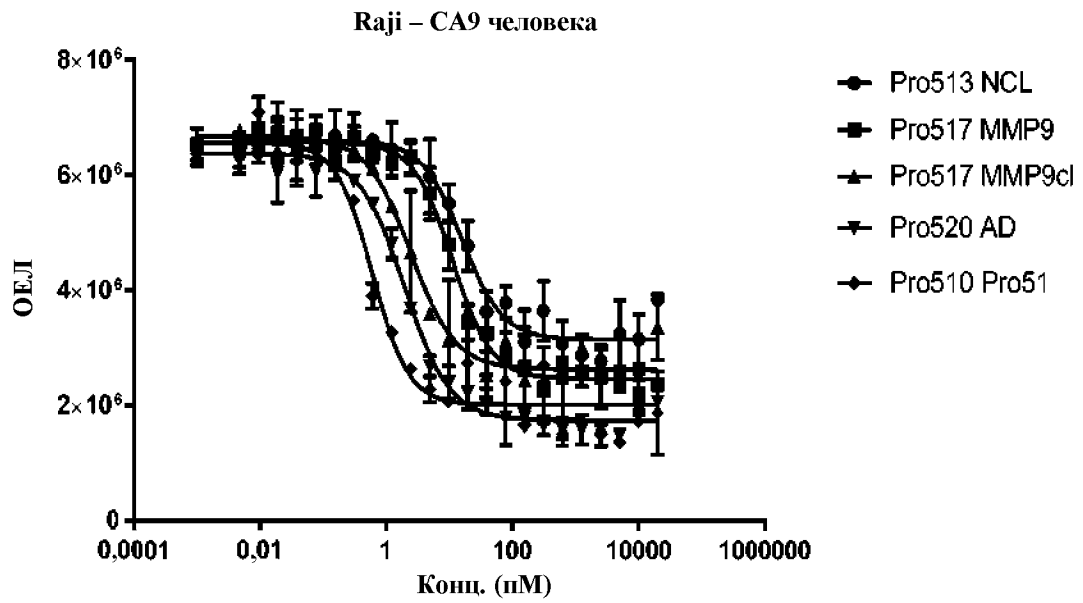
	EC50
Pro516 MMP9	20,04
Pro516 MMP9cl	0,7469
Pro509 Pro51	0,8831

Фиг. 40С



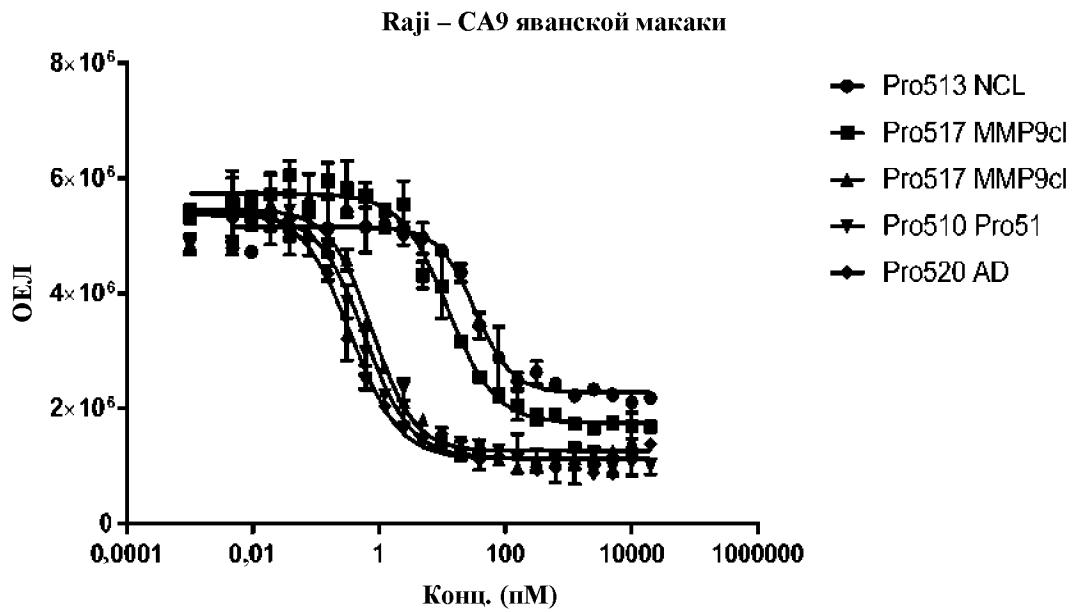
	EC50
Pro509 Pro51 CA9	5,862
Pro516 CA9 MMP9	3,016
Pro516cl CA9MMP9	1,122
Pro1095 CA9 NCL	

Фиг. 41А



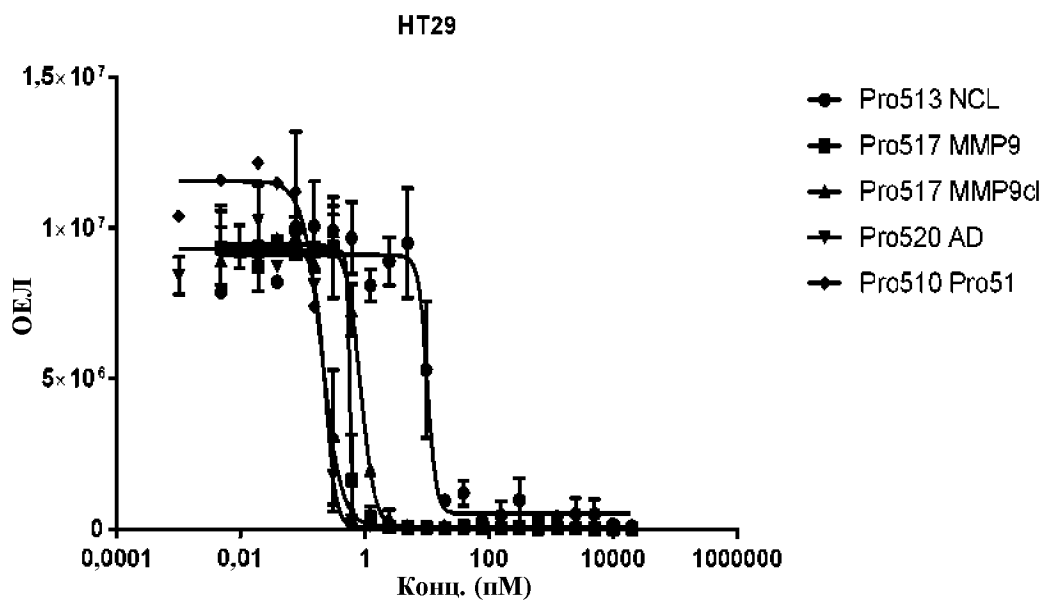
	EC50
Pro513 NCL	16,09
Pro517 MMP9	11,28
Pro517 MMP9cl	2,455
Pro520 AD	1,946
Pro510 Pro51	0,6043

Фиг. 41В



	EC50
Pro513 NCL	32,98
Pro517 MMP9cl	12,19
Pro517 MMP9cl	0,771
Pro510 Pro51	0,5913
Pro520 AD	0,3539

Фиг. 41С



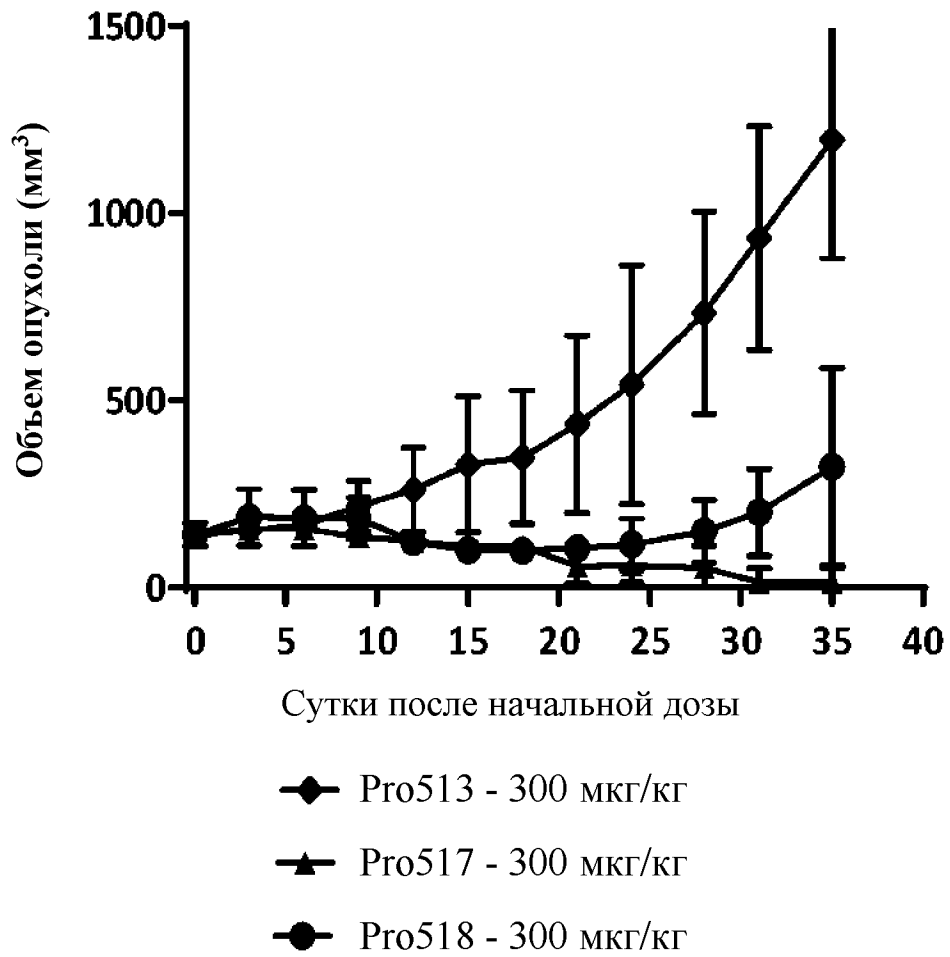
	EC50
Pro513 NCL	10,17
Pro517 MMP9	~ 0,5645
Pro517 MMP9cl	0,8497
Pro520 AD	0,2265
Pro510 Pro51	0,2015

Фиг. 42

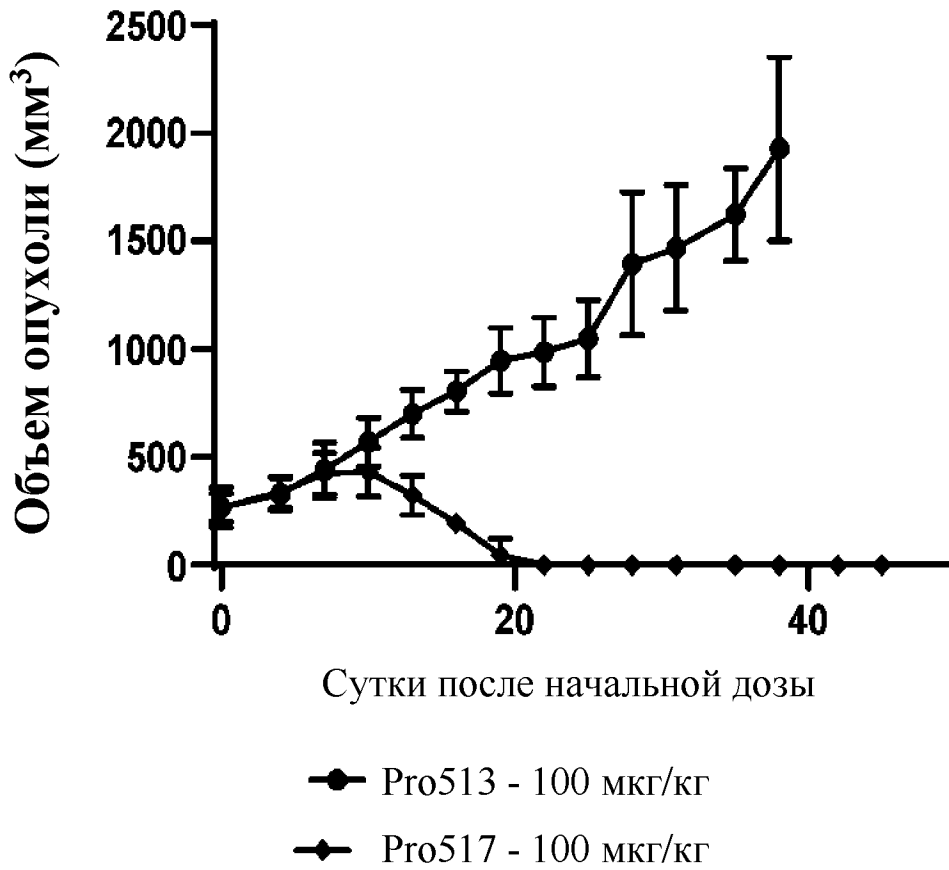
sdAb	Prodent	K _D (нМ)		
		СА9 человека	СА9 яванской макаки	СА9 мыши
407		1,0	<0,001	nb
445		2,6	3,4	nb
456		2,1	7,2	8,2
472		3,5	4,0	nb
476		1,7	2,1	nb
h445	Pro512	3,1	4,9	nb
h456	Pro509	0,7	1,1	1,4
h476	Pro510	1,6	1,2	nb

Фиг. 43А

Опухоль: SNU-16

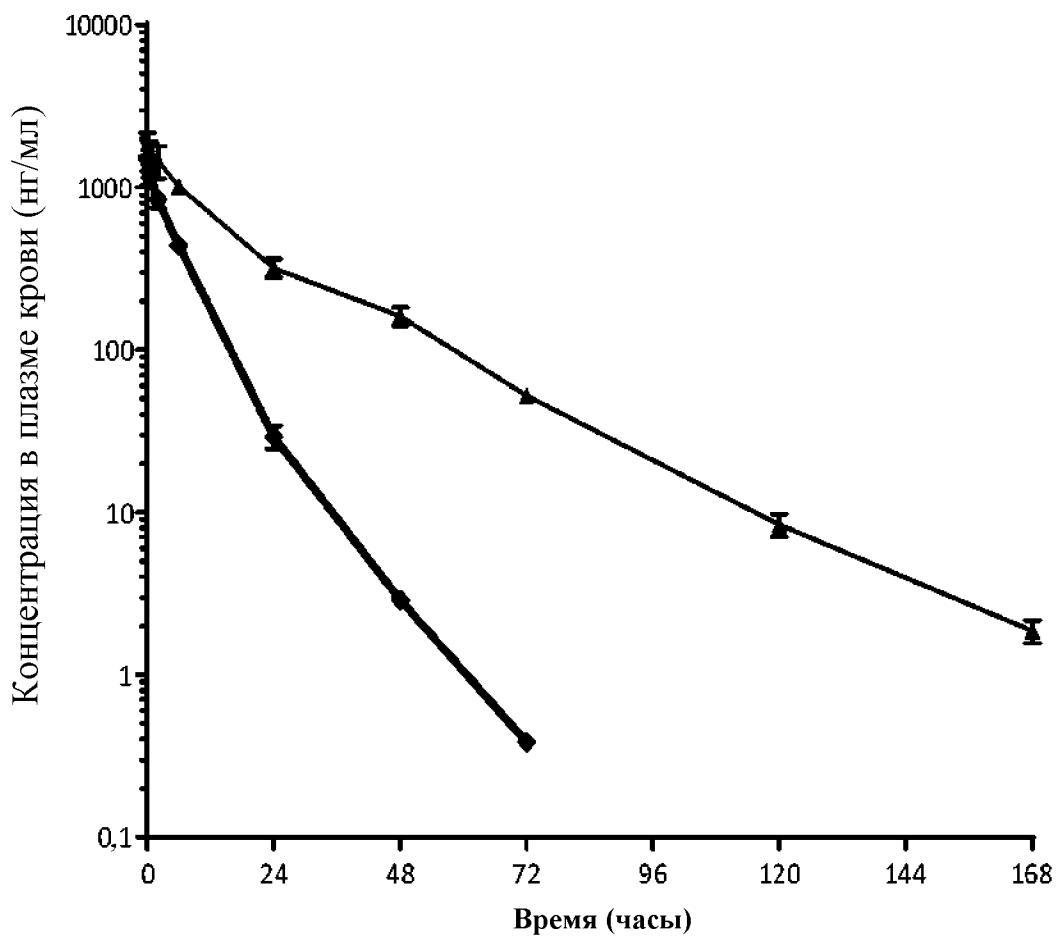


Фиг. 43В

Опухоль: 786-О

159/247

Фиг. 44



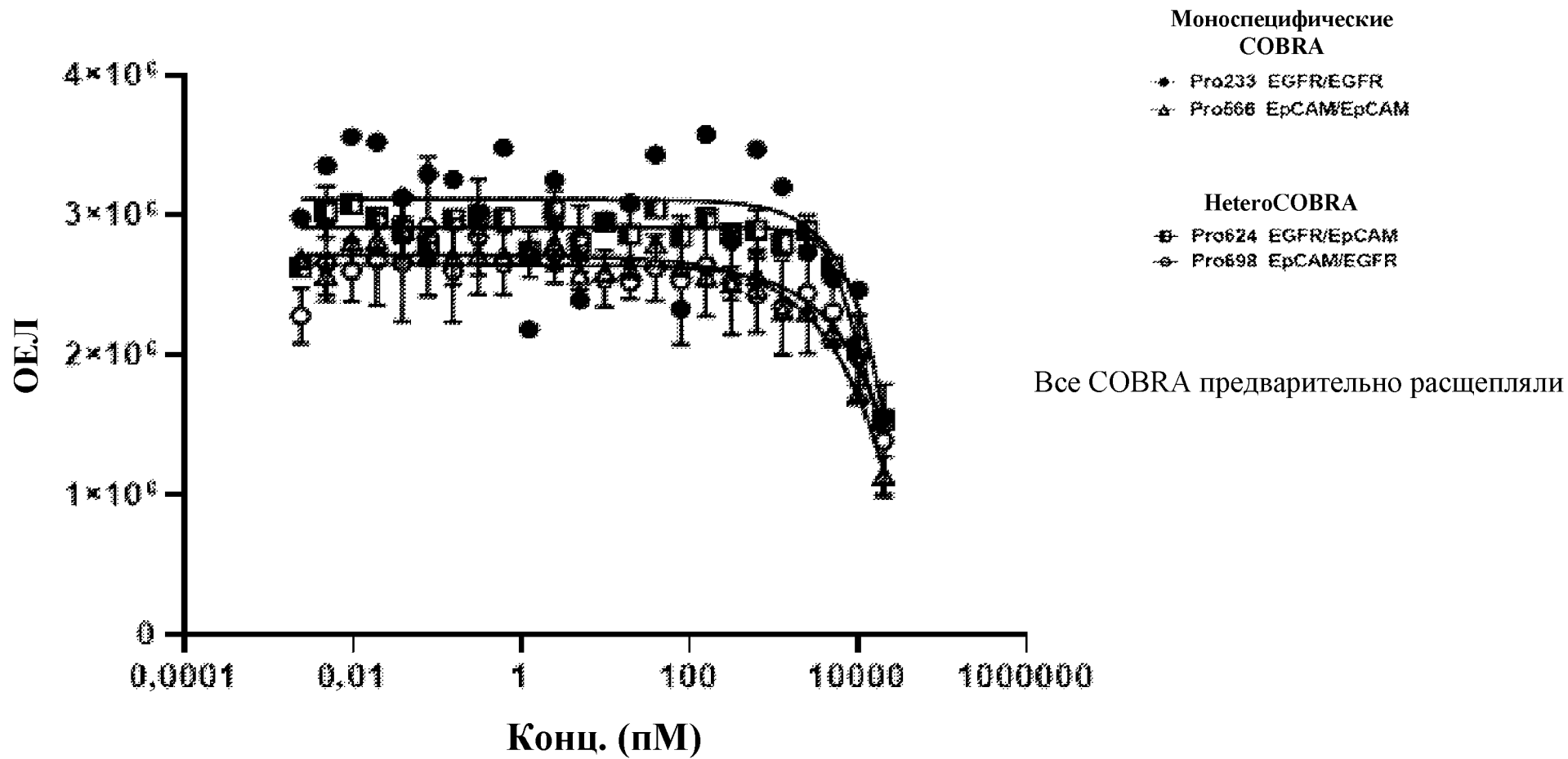
▲ Pro517 - 100 мкг/кг

◆ Pro516 - 100 мкг/кг

HeteroCOBRA EGFR/EpCAM индуцируют ТКЗКЦ клеток, экспрессирующих один или оба антигена

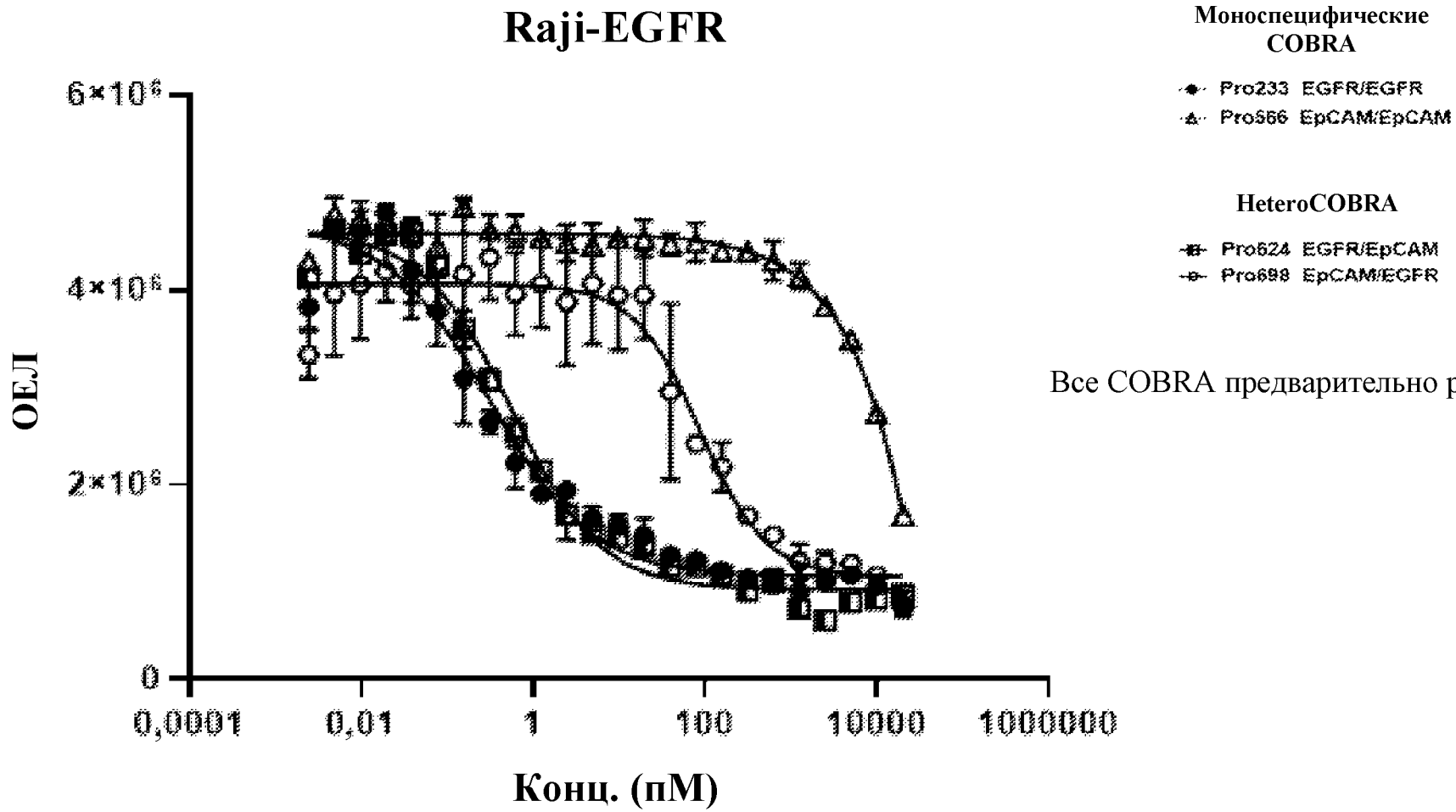
Фиг. 45А

Родительские Рајі



160/247

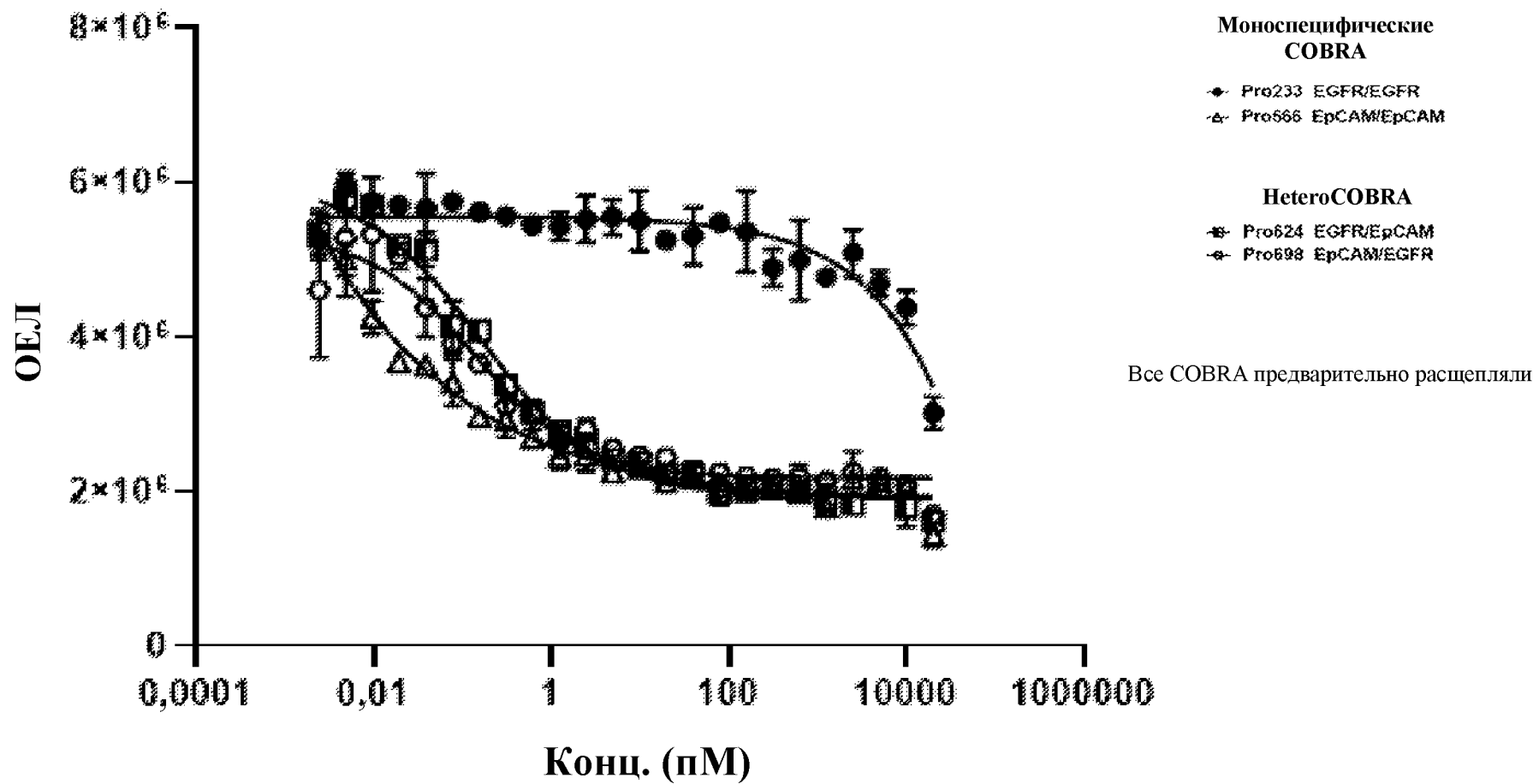
Фиг. 45В



161/247

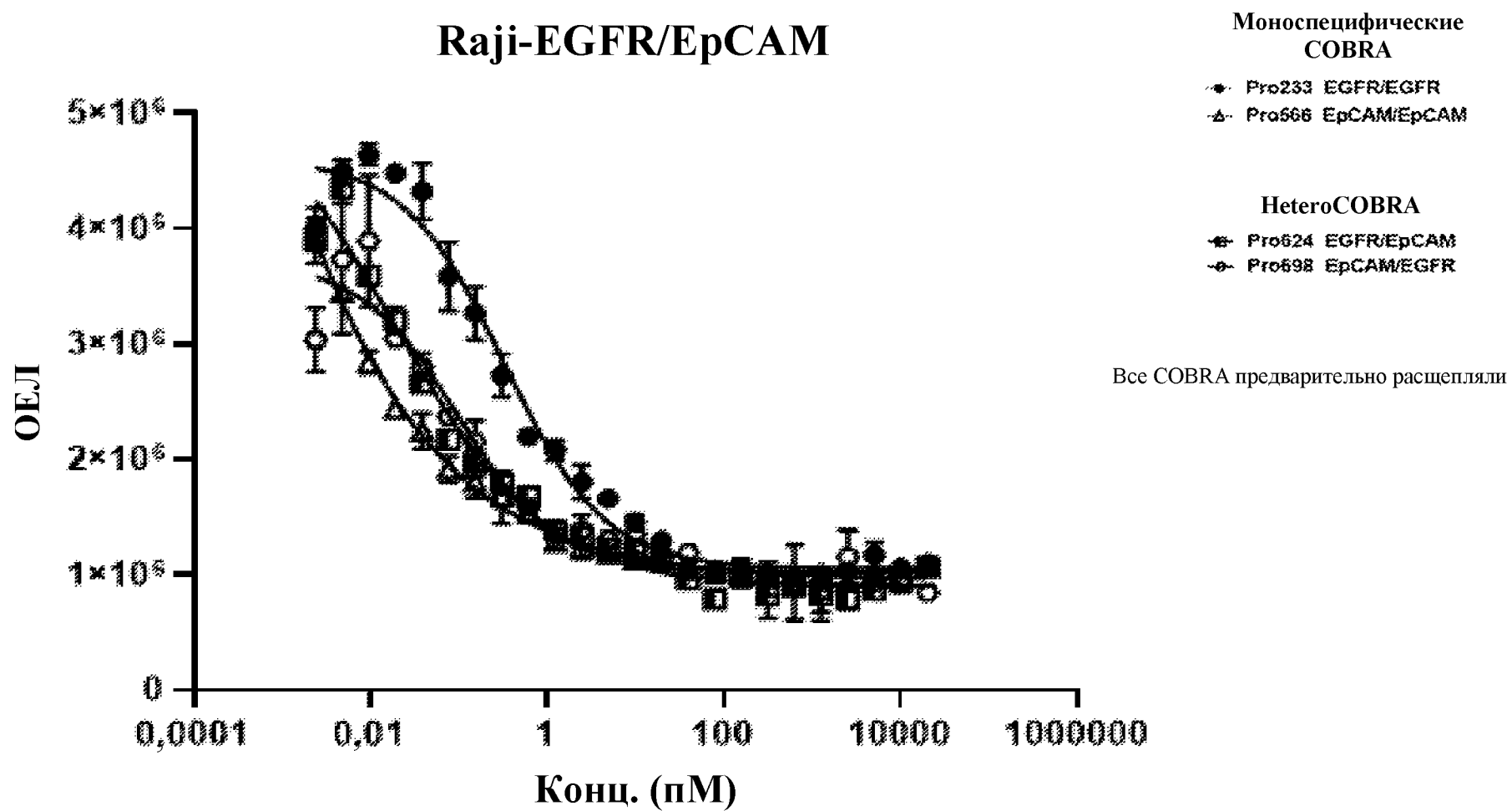
Фиг. 45С

Raji-EpCAM



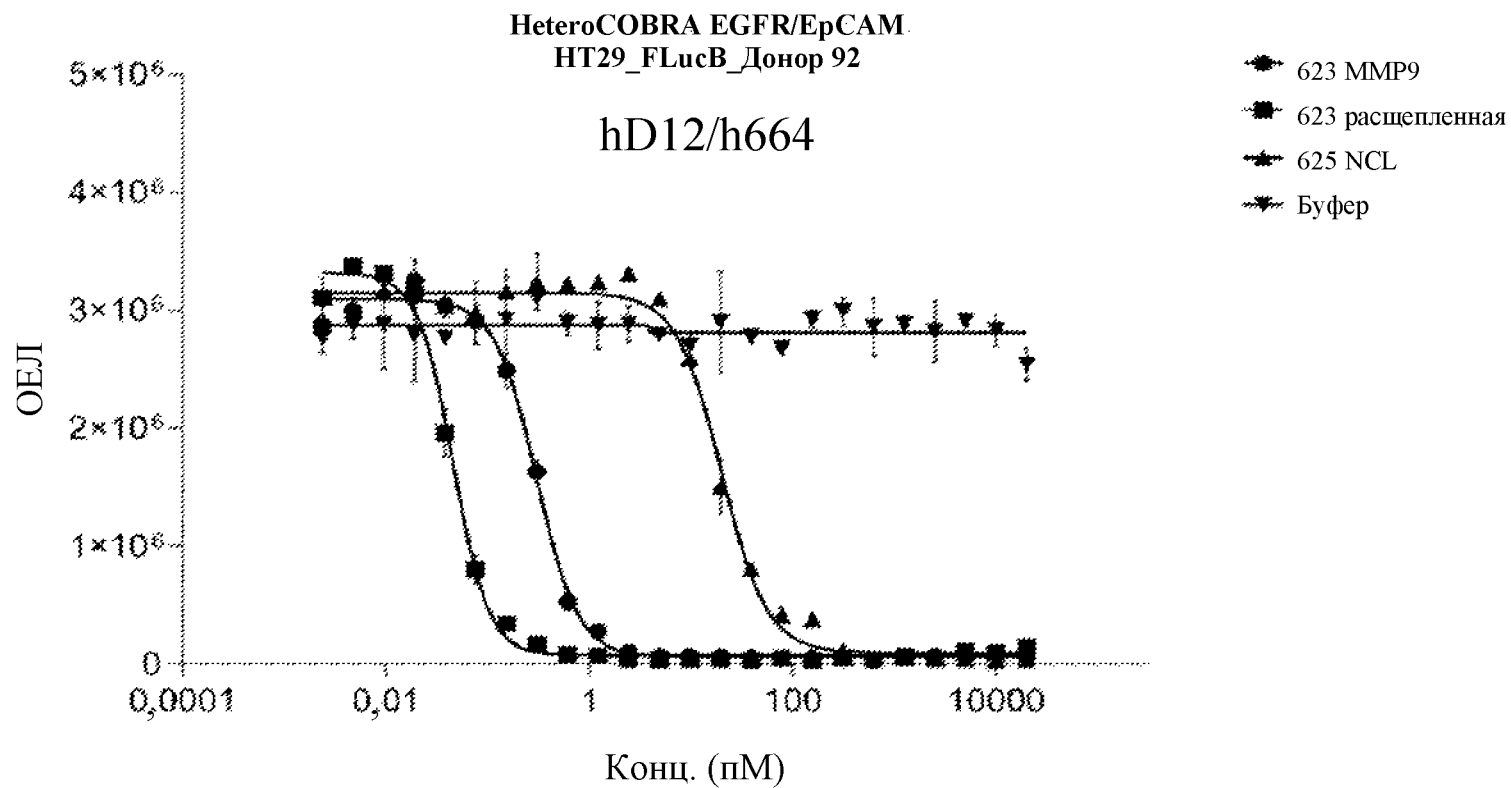
162/247

Фиг. 45D



163/247

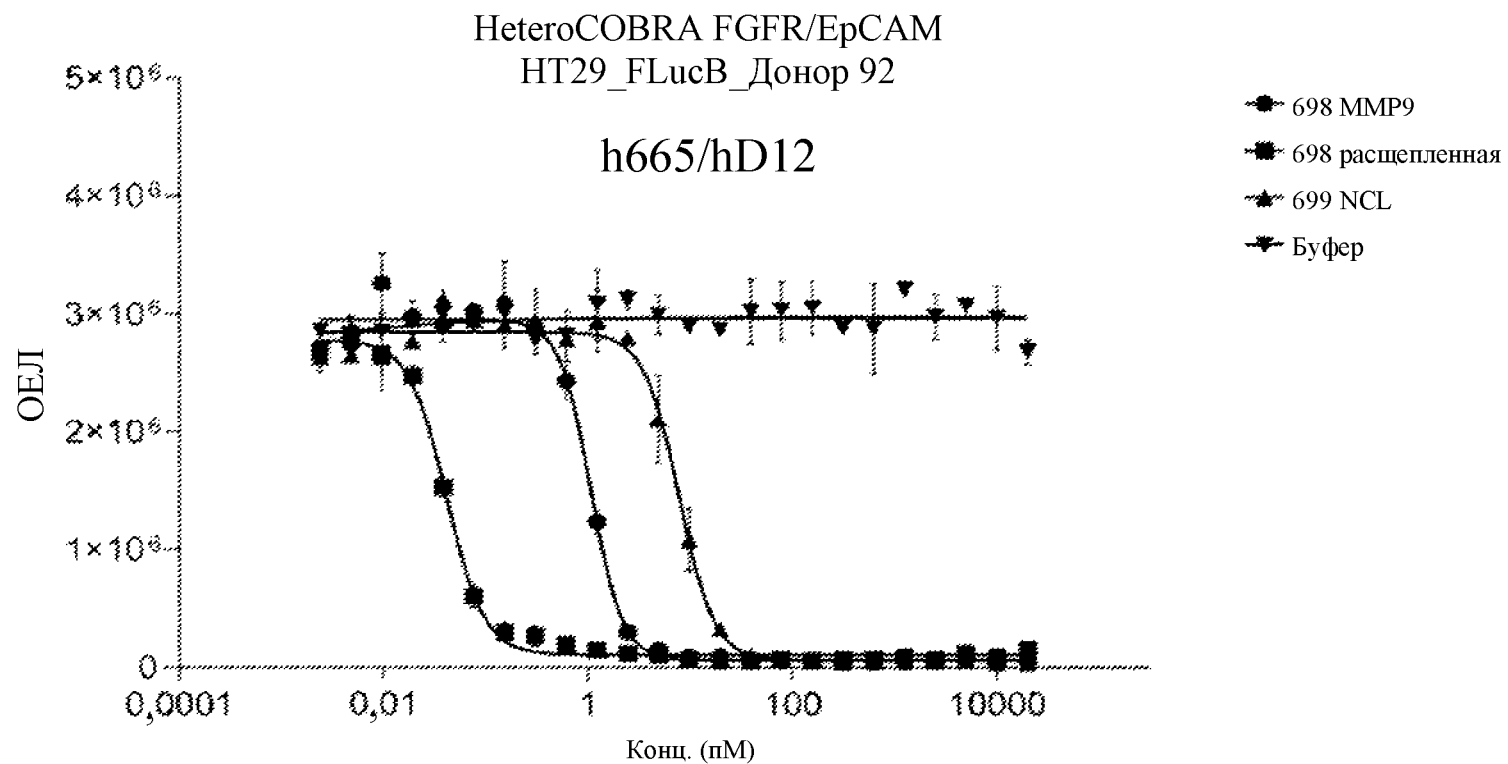
Фиг. 46А



	EC ₅₀ (пМ)
623	0,303
623расщепленная	0,046
625	20,076

164/247

Фиг. 46В



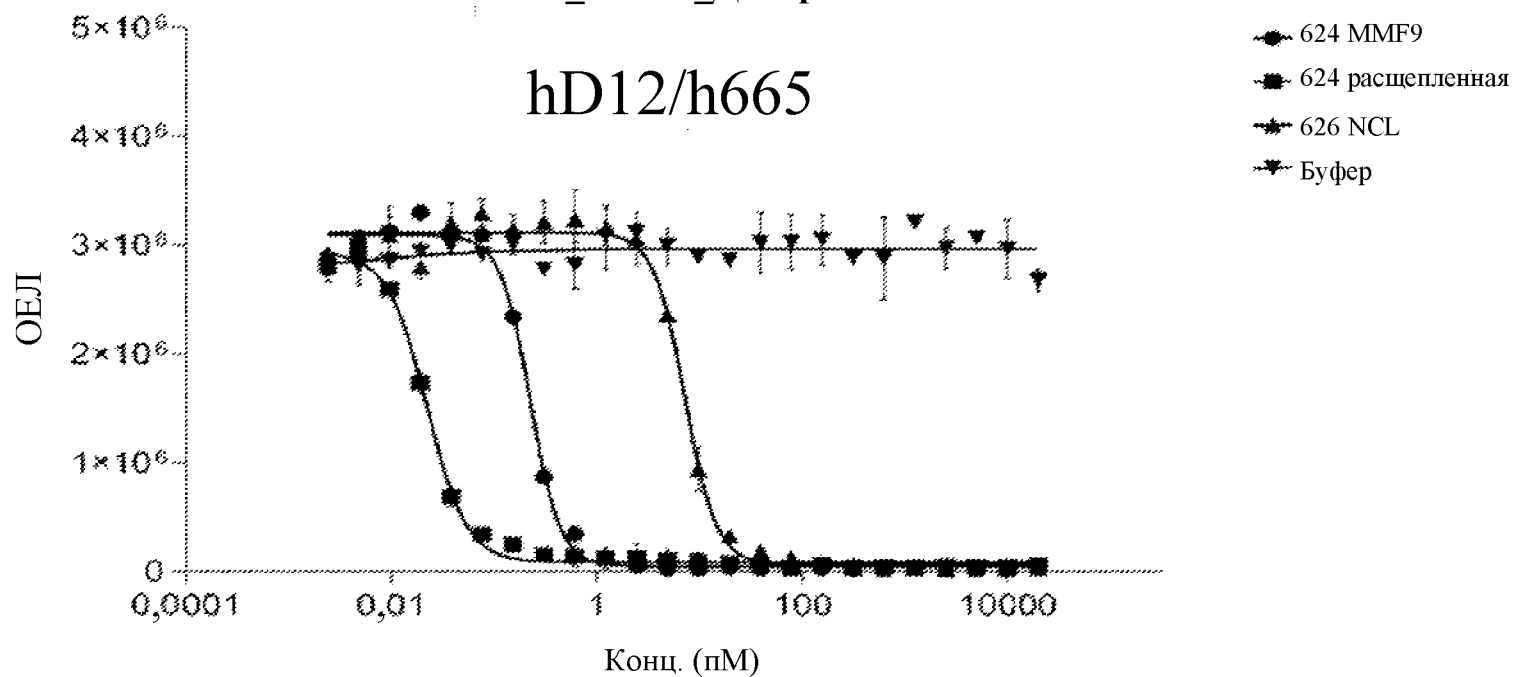
	EC ₅₀ (пМ)
698	1,062
698 расщепленная	0,041
699	7,772

165/247

Фиг. 46С

HeteroCOBRA EGFR/ErCAM
HT29_FLucВ_Донор 92

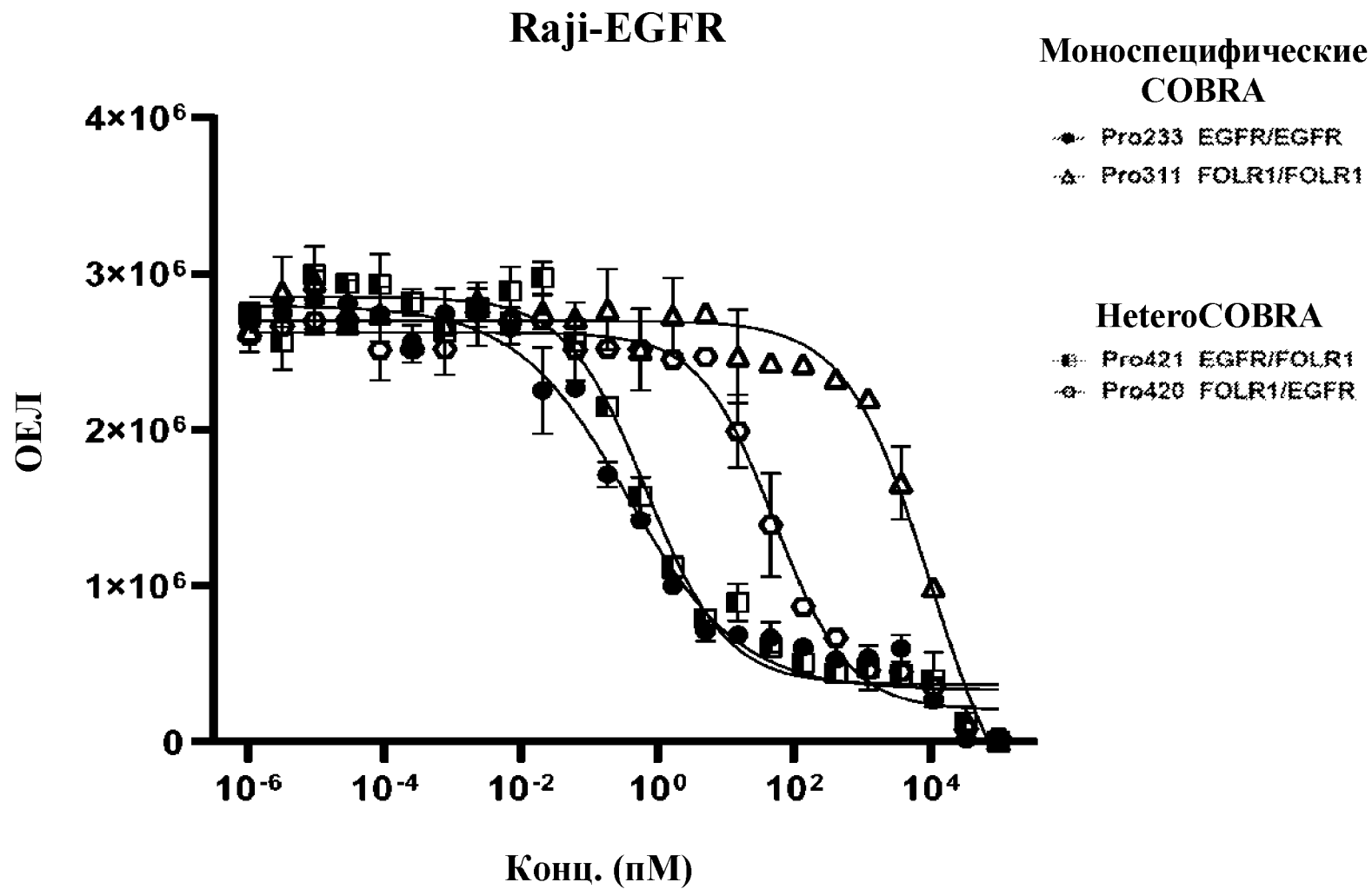
hD12/h665



	EC ₅₀ (пМ)
624	0,225
624 расщепленная	0,022
626	7,236
Буфер	0,005

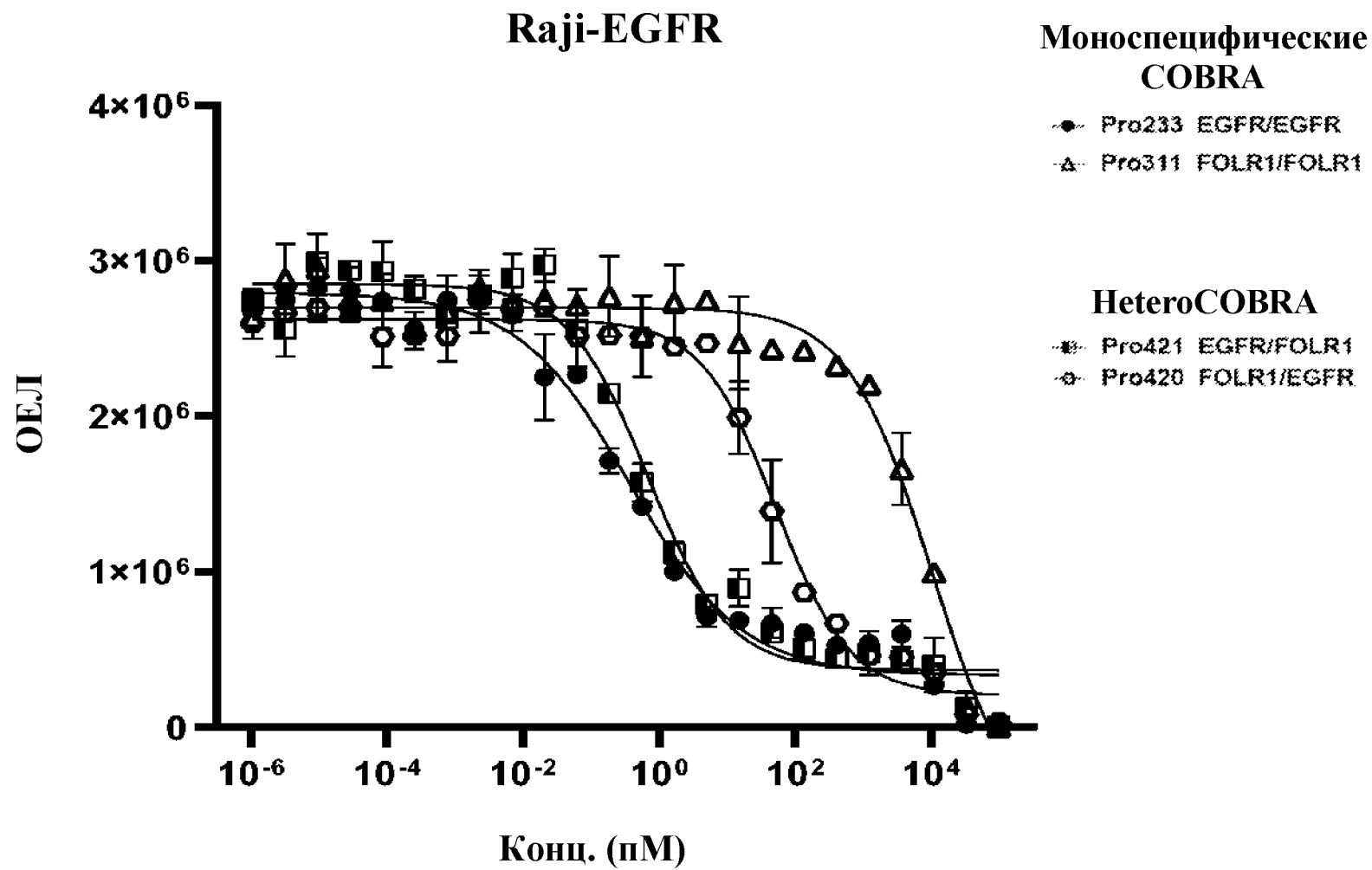
166/247

Фиг. 47А



167/247

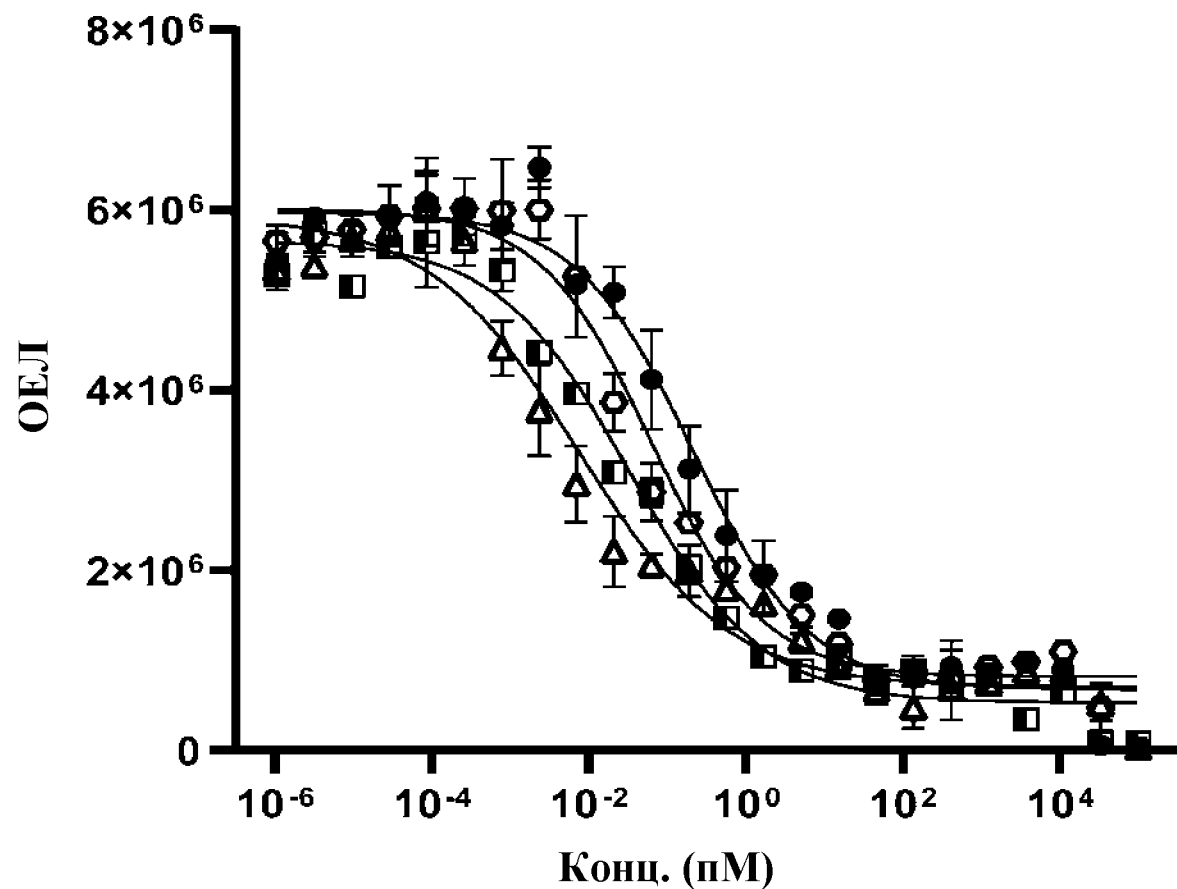
Фиг. 47А



168/247

Фиг. 47С

Raji-EGFR/FOLR1



Моноспецифические COBRA

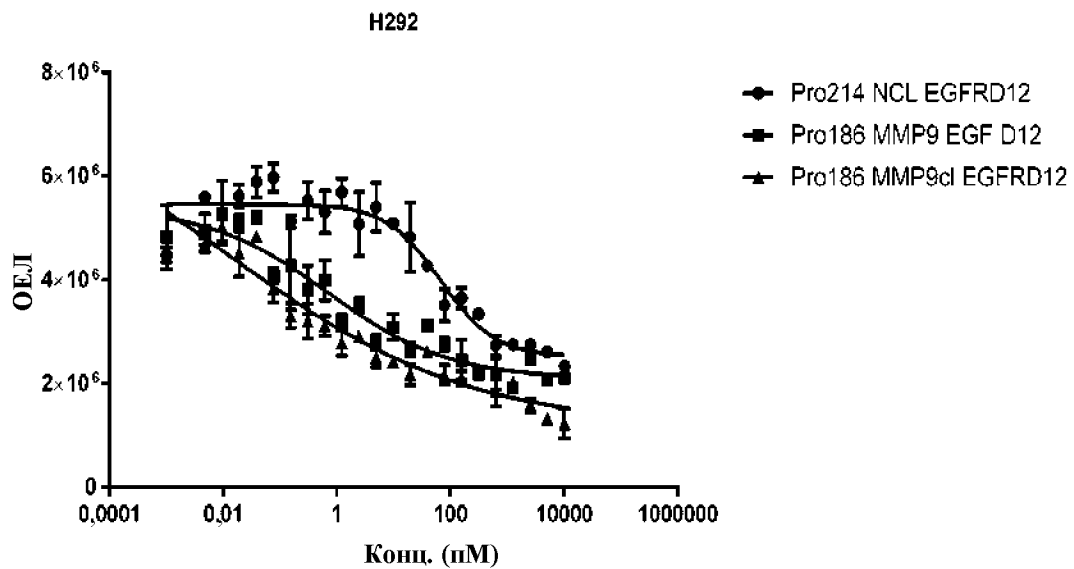
- Pro233 EGFR/EGFR
- ▲ Pro311 FOLR1/FOLR1

HeteroCOBRA

- ◻ Pro421 EGFR/FOLR1
- ◉ Pro420 FOLR1/EGFR

169/247

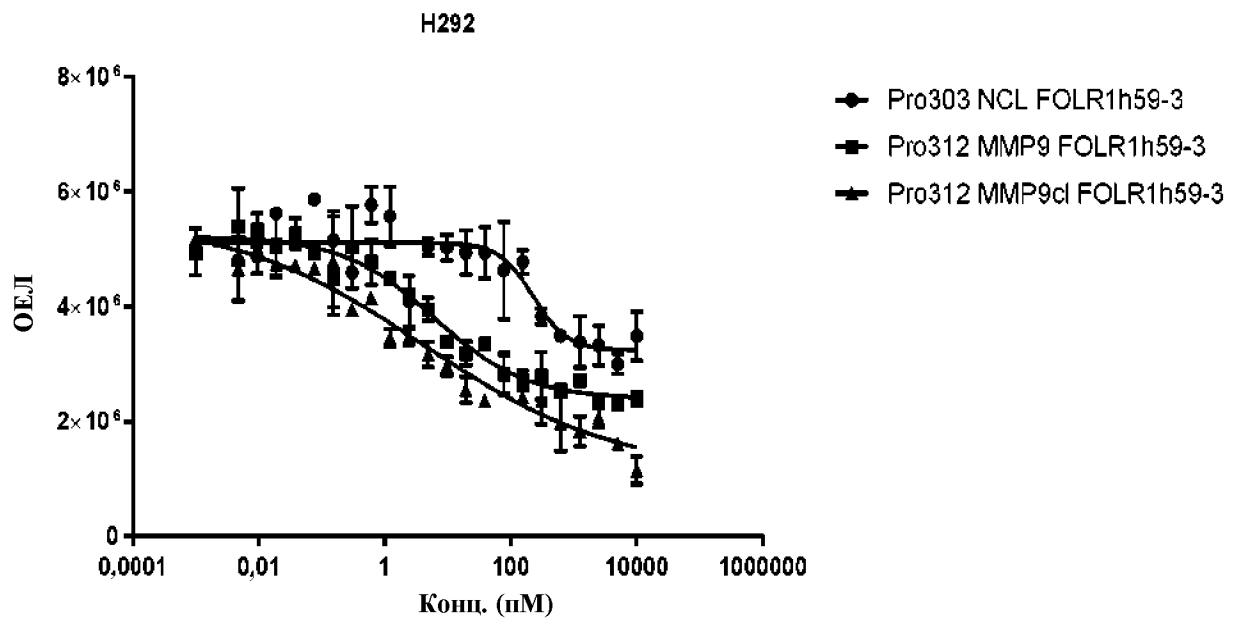
Фиг. 48А



	EC50
Pro214 NCL EGFRD12	67,09
Pro186 MMP9 EGF D12	0,714
Pro186 MMP9cl	0,01319

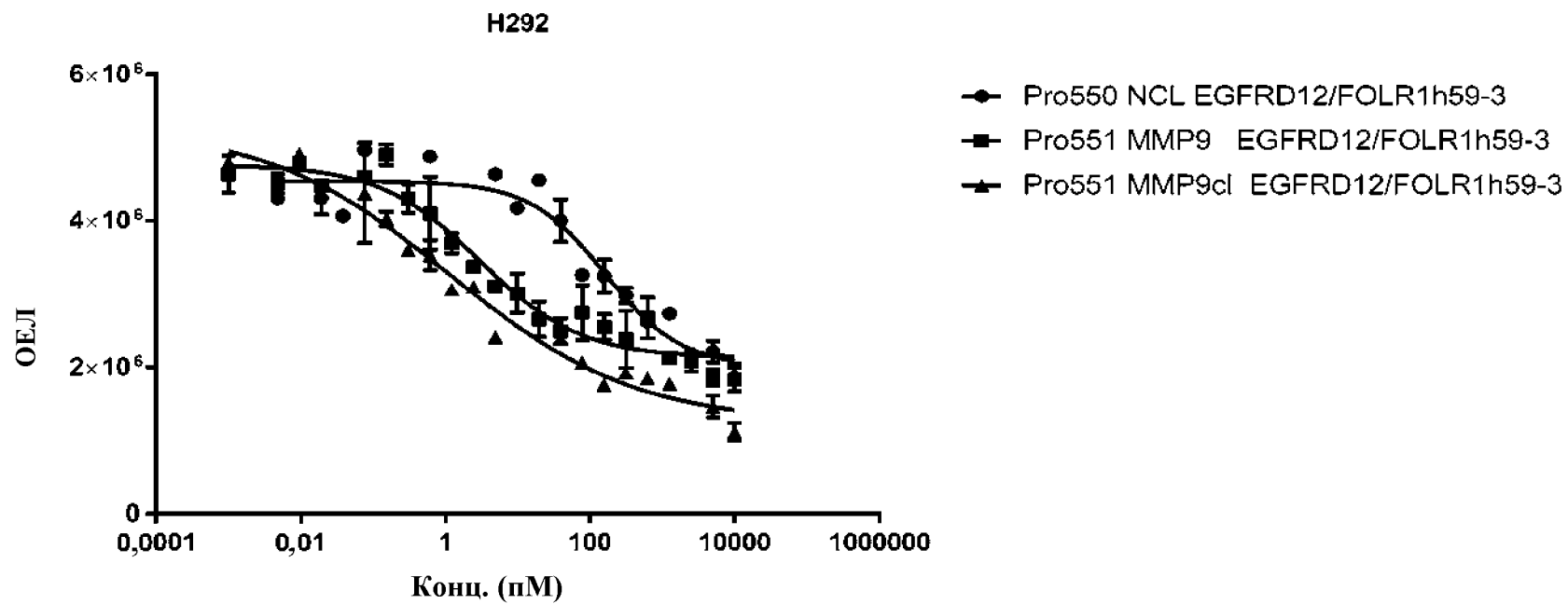
Фиг. 48В

аFOLR1(h59-3)/аEGFR (D12) уничтожает опухолевые клеточные линии, экспрессирующие и FOLR1, и EGFR,conditionally



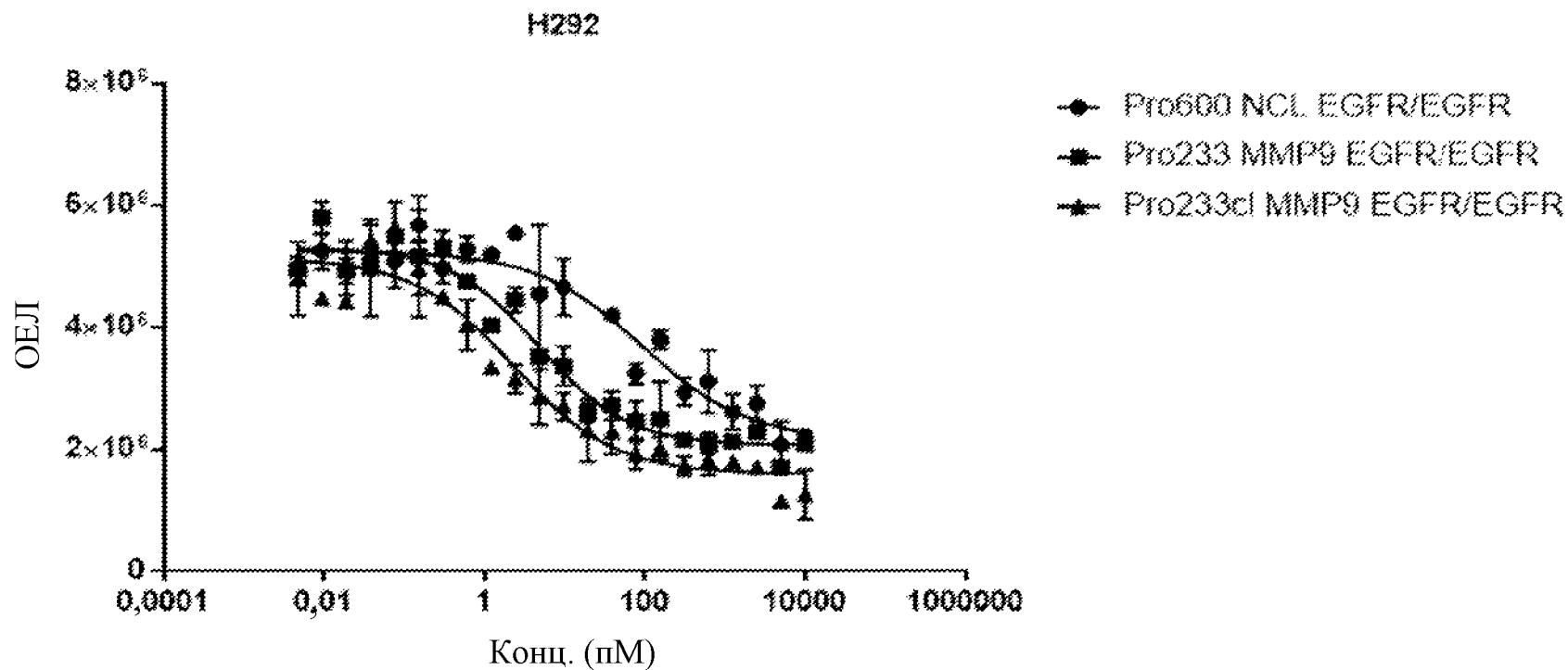
	EC50
Pro303 NCL FOLR1h59-3	231,3
Pro312 MMP9 FOLR1h59-3	6,128
Pro312 MMP9cl FOLR1h59-3	4,303

Фиг. 48С



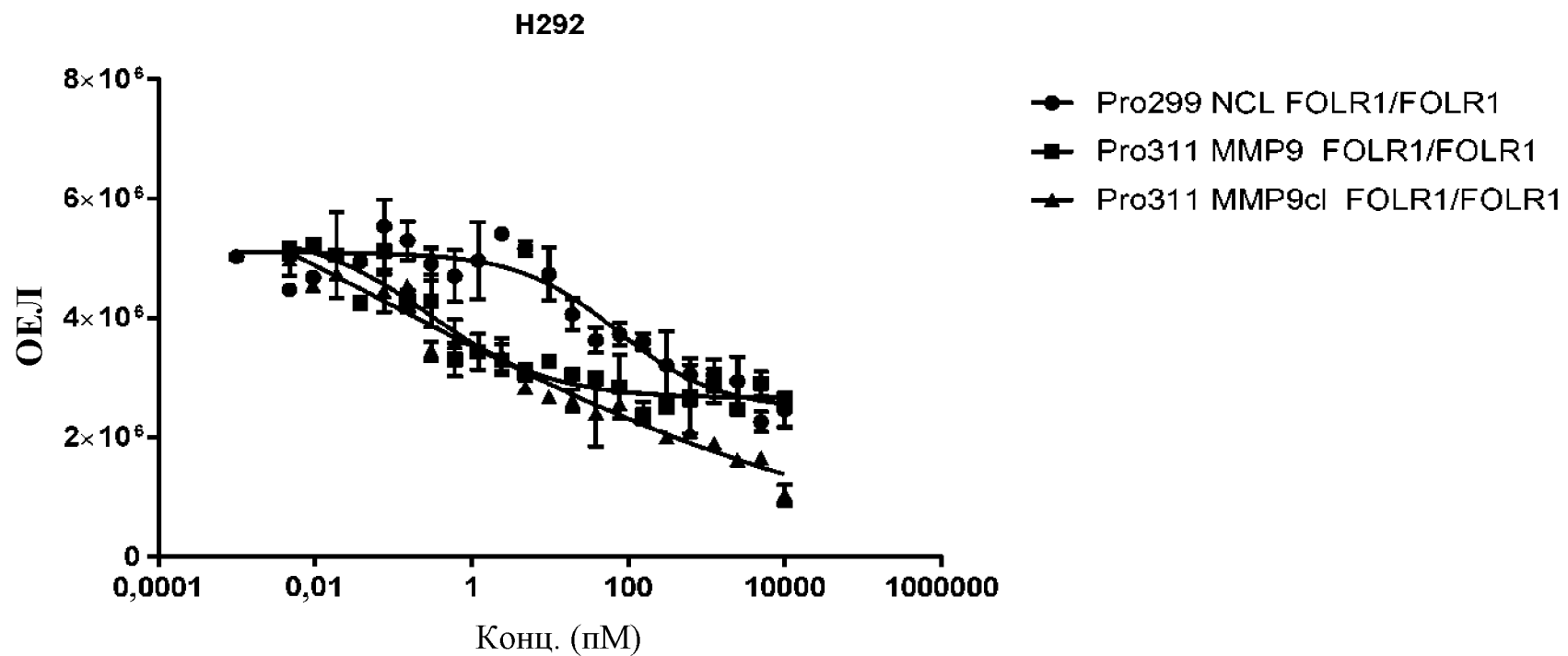
	EC50
Pro550 NCL EGFRD12/FOLR1h59-3	164,7
Pro551 MMP9 EGFRD12/FOLR1h59	33,048
Pro551 MMP9cl EGFRD12/FOLR1h59	13,165

Фиг. 49А



	EC50
Pro600 NCL EGFR/EGFR	92,05
Pro233 MMP9 EGFR/EGFR	4,779
Pro233cl MMP9 EGFR/EGFR	2,328

Фиг. 49В

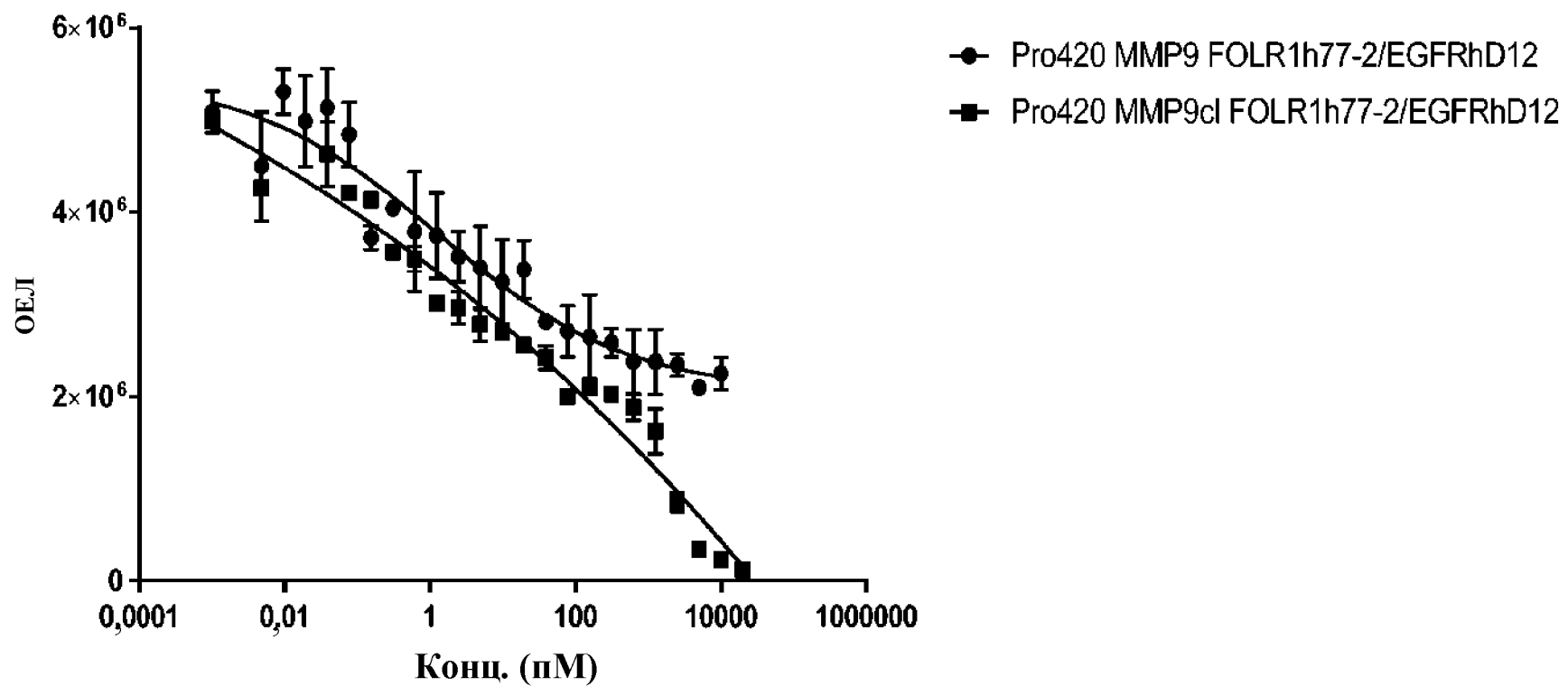


	EC50
Pro299 NCL FOLR1/FOLR1	72,42
Pro311 MMP9 FOLR1/FOLR1	0,3001
Pro311 MMP9cl FOLR1/FOLR1	0,07157

174/247

Фиг. 49С

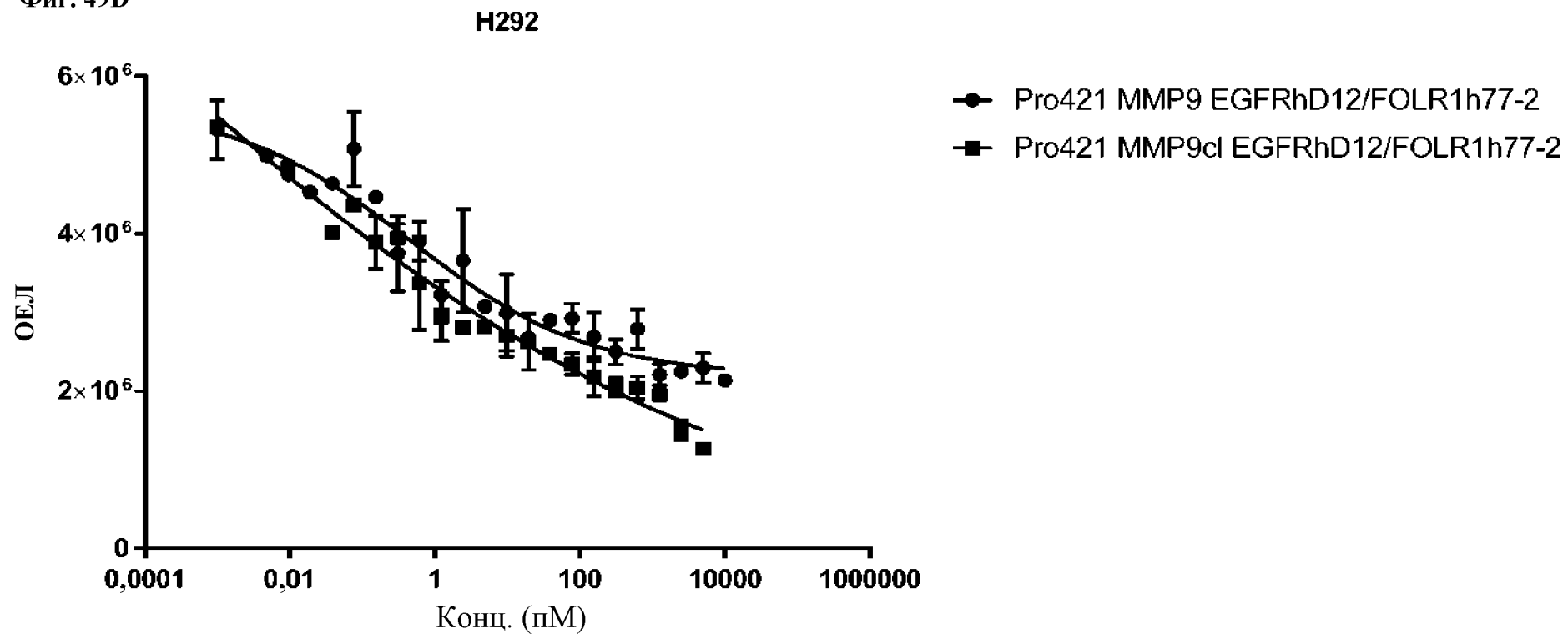
H292



	EC50
Pro420 MMP9 FOLR1h77-2/EGFRhD12	1,262
Pro420 MMP9cl FOLR1h77-2/EGFRhD12	~2,119e+041

175/247

Фиг. 49D



	EC50
Pro421 MMP9 EGFRhD12/FOLR1h77	-20,4515
Pro421 MMP9cl EGFRhD12/FOLR1h77	-23,124e-005

176/247

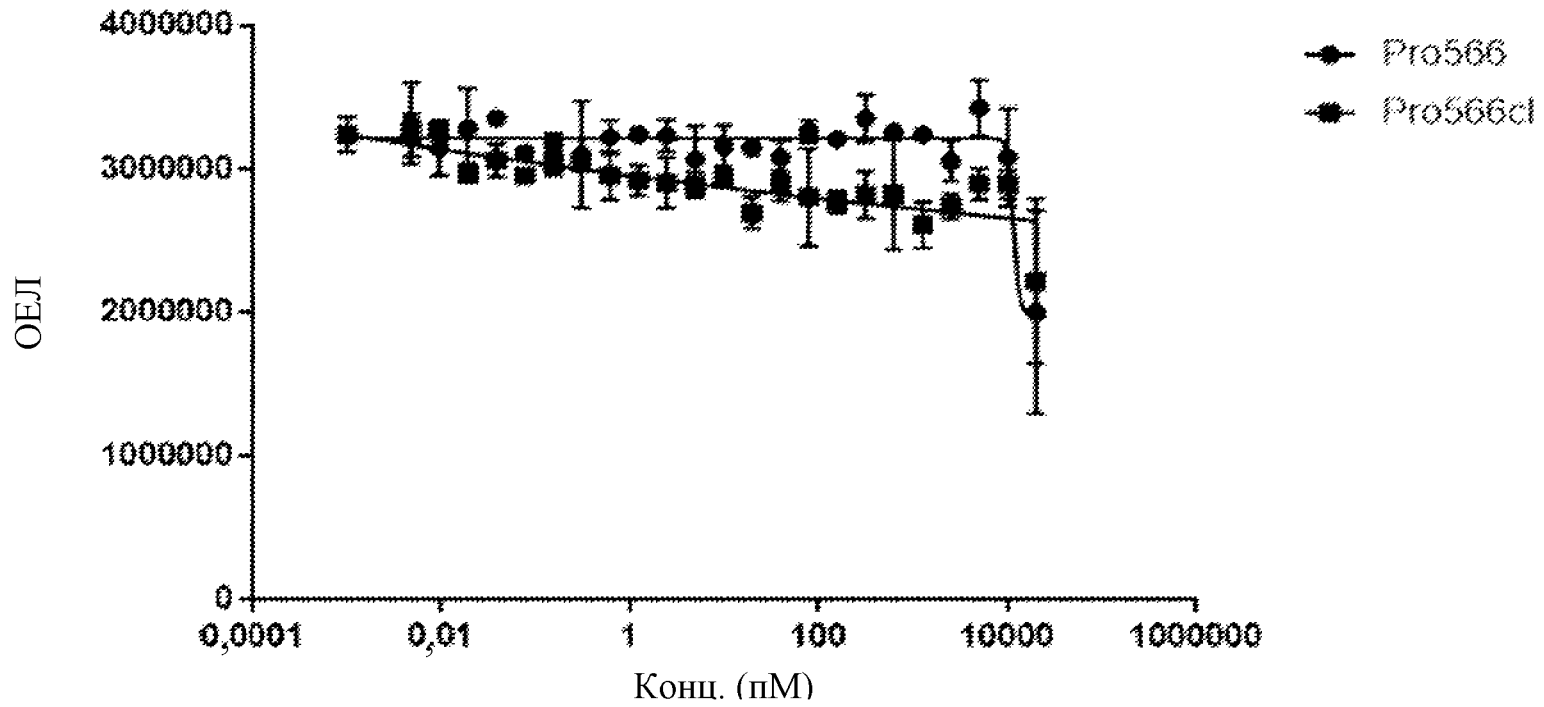
Фиг. 50

Prodent	Тип молекулы	1-е / 2-е положение	K _D (нМ)		
			huEGFR	huFOLR1	huEGFR + huFOLR1
Pro473	NCL	EGFR/FOLR1	5,1	3	0,15
Pro51	Pro51	EGFR/-	2,5		
Pro300	Pro51	FOLR1/-		2,1	

177/247

Фиг. 51А

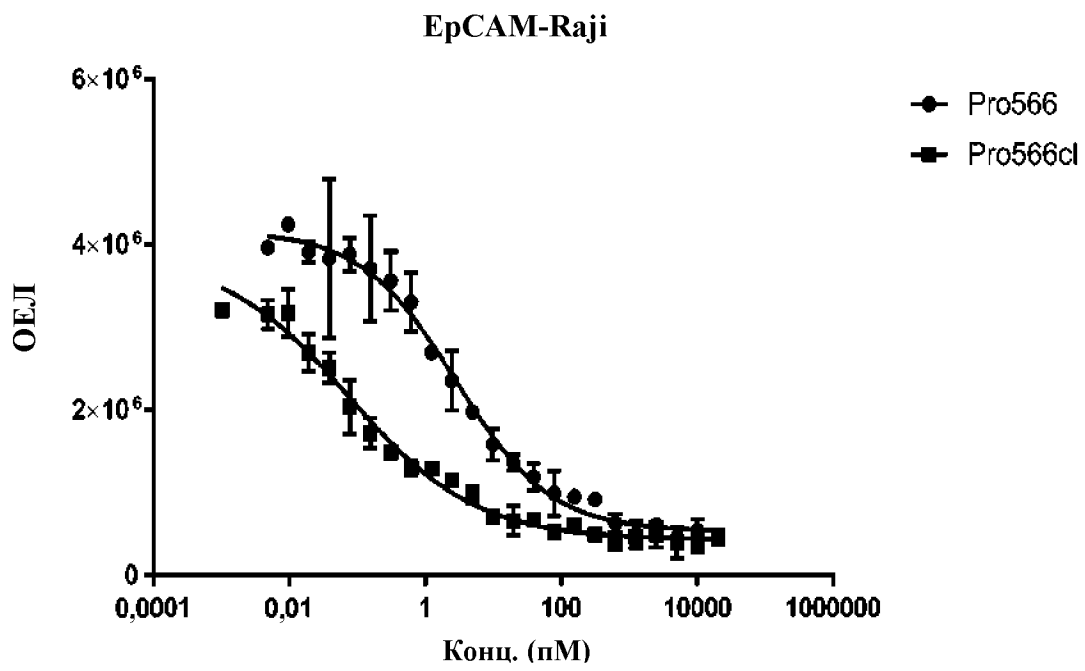
TROP2-Raji



	EC50
Pro566	~ 11547
pro566cl	~ 9,137e-037

178/247

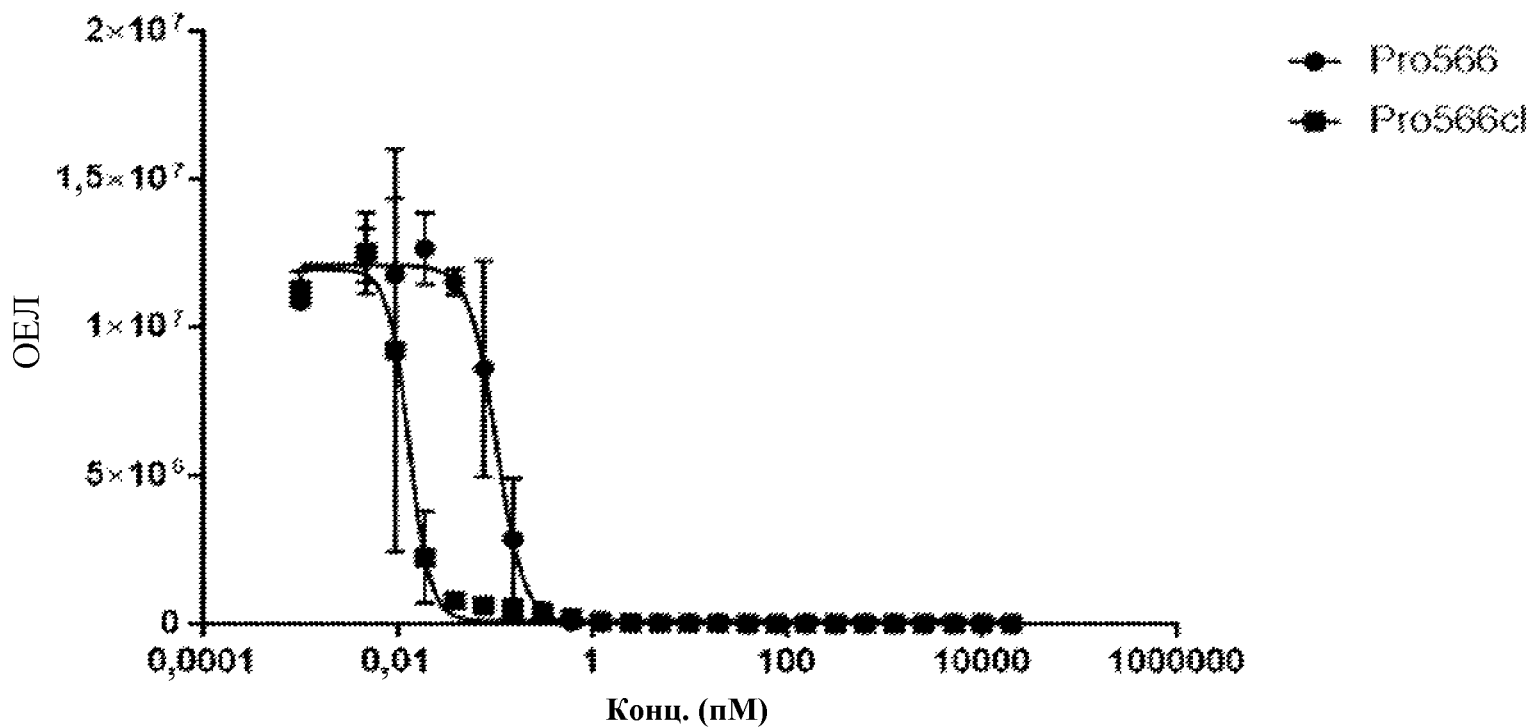
Фиг. 51В



	EC50
Pro566	2,814
Pro566cl	0,07468

Фиг. 51С

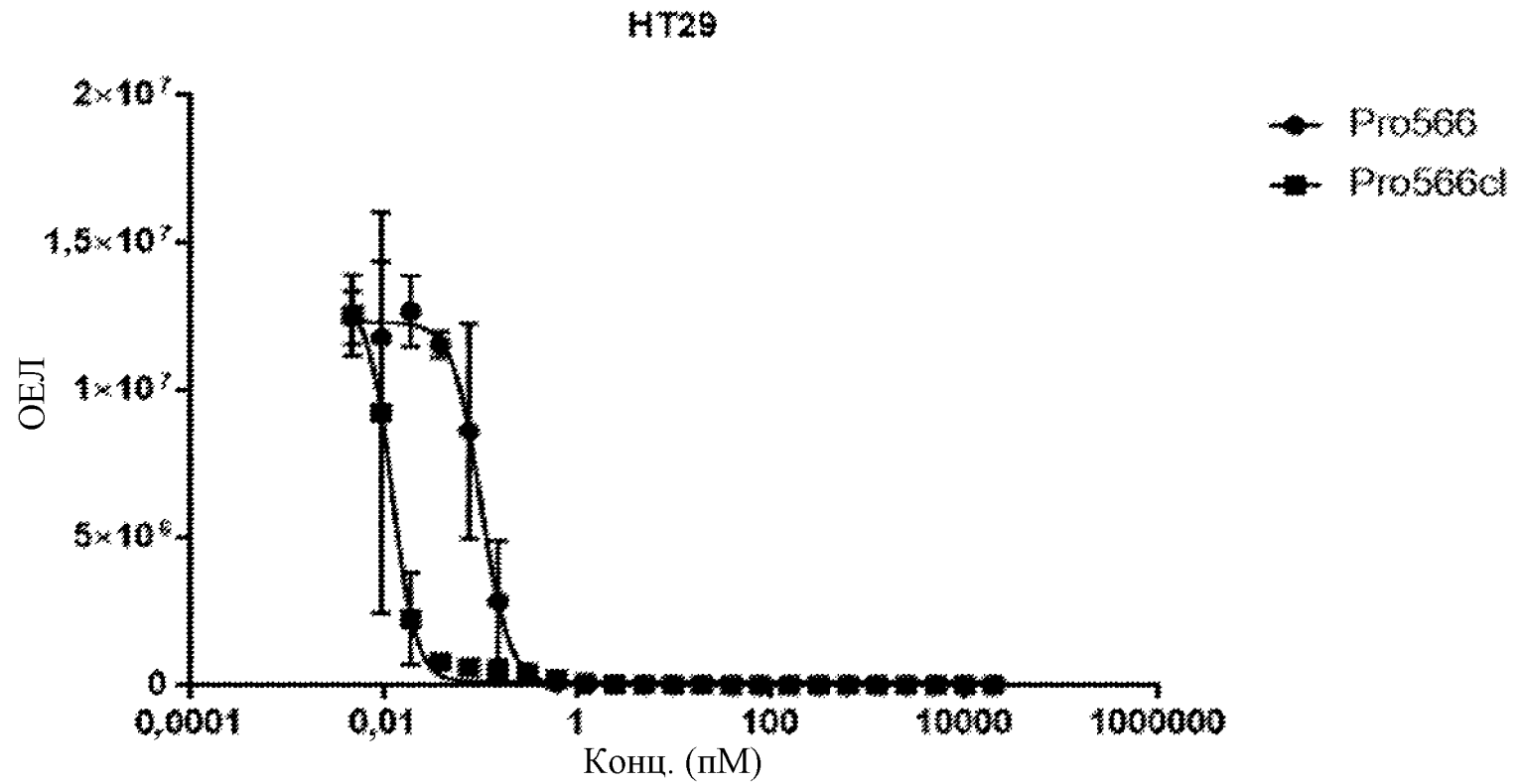
SKOV3



	EC50
Pro566	0,103
Pro566cl	0,01306

180/247

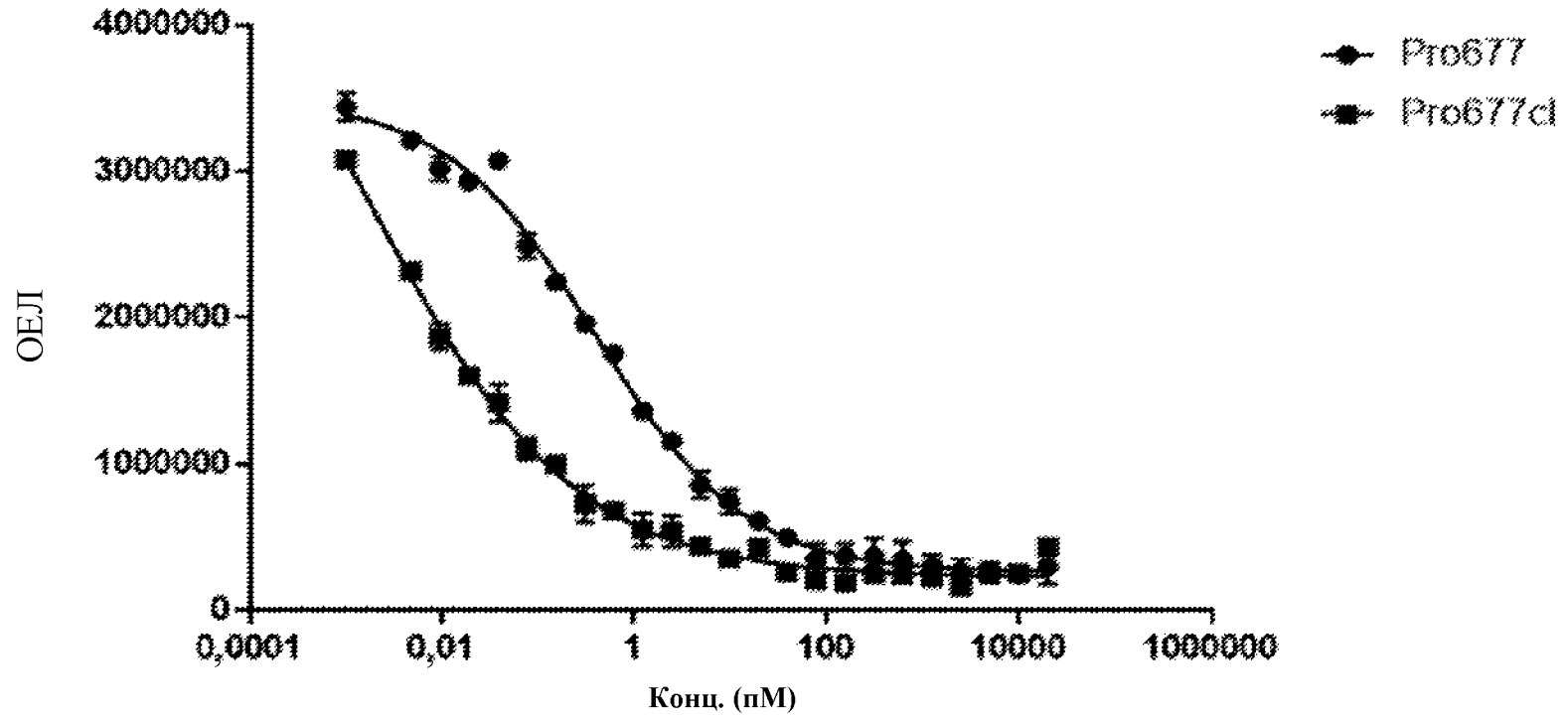
Фиг. 51D



	EC50
Pro566	0,1014
Pro566cl	0,01221

Фиг. 52А

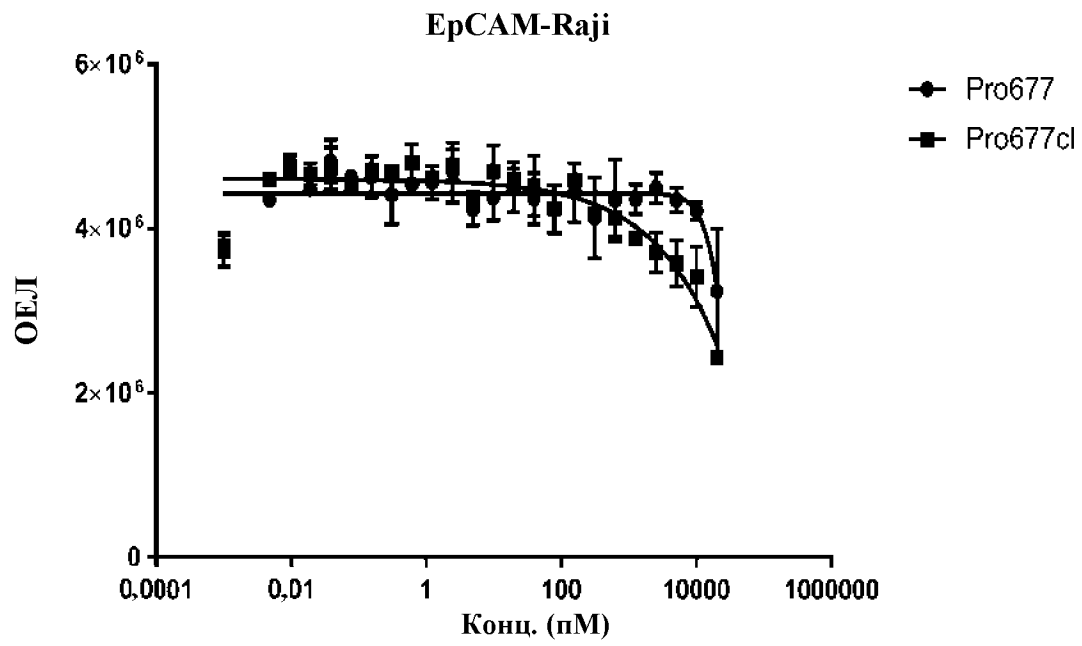
TROP2-Raji



	EC50
Pro677	0,3978
Pro677cl	0,001626

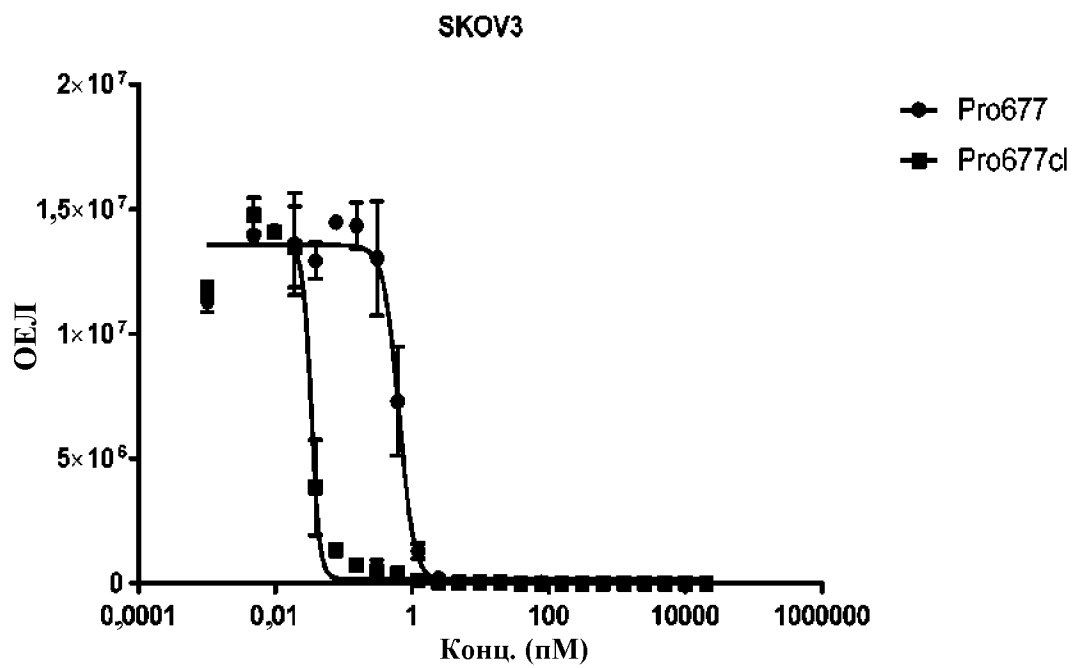
182/247

Фиг. 52В



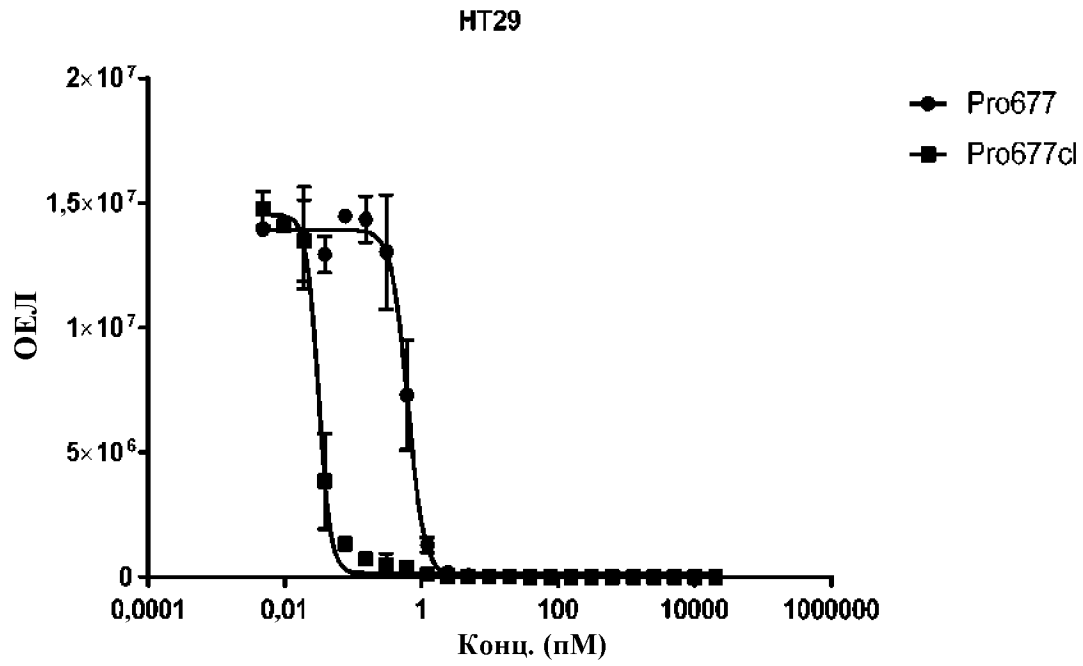
	EC50
Pro677	~ 57683
Pro677cl	~ 2435724881

Фиг. 52С



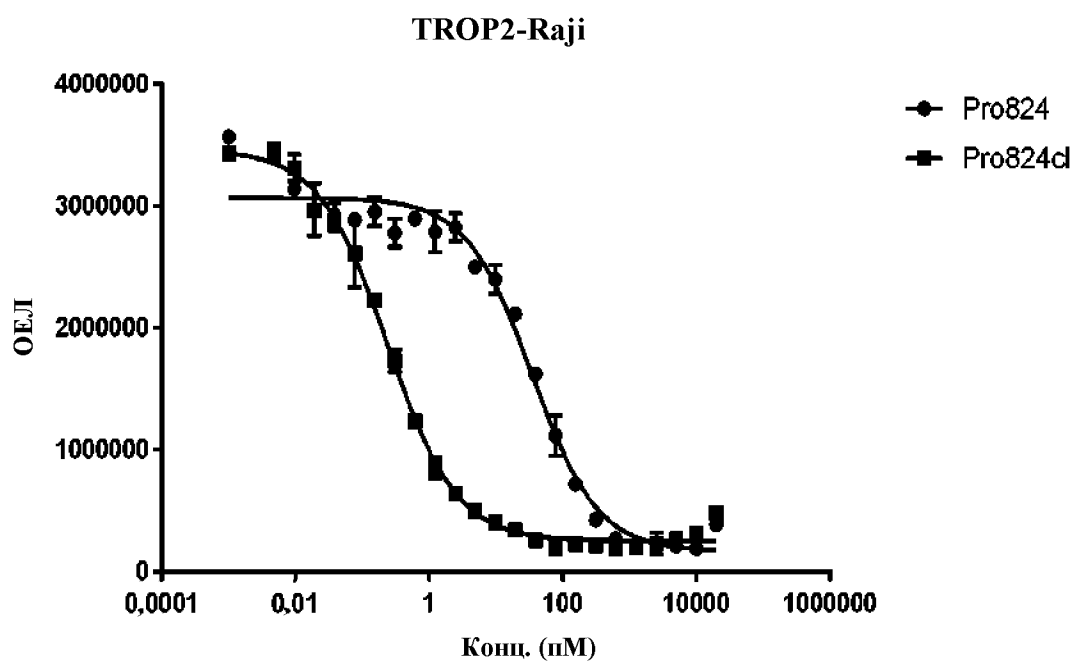
	EC50
Pro677	0,6403
Pro677cl	0,03325

Фиг. 52D



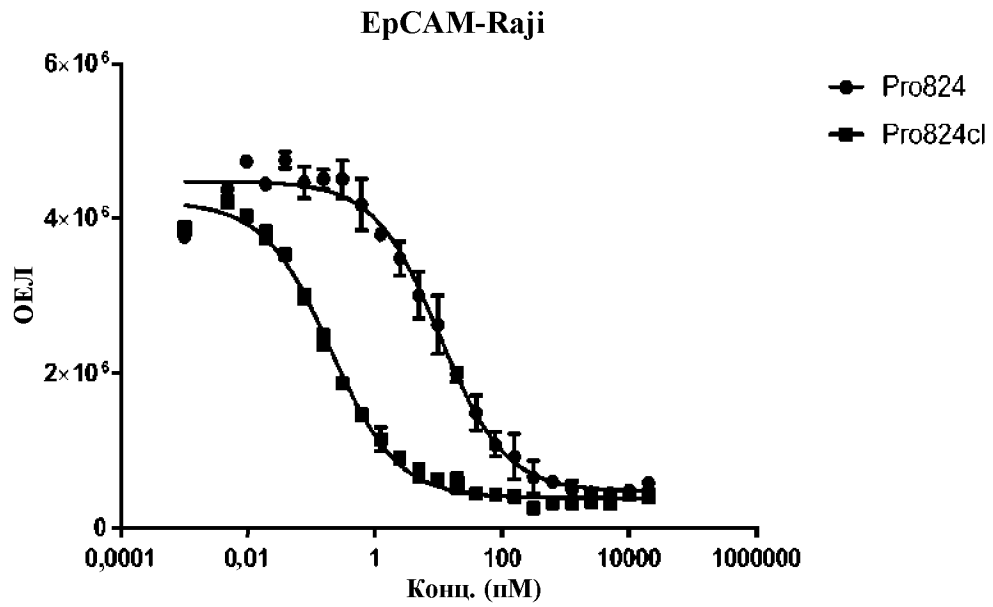
	EC50
Pro677	0,6294
Pro677cl	0,03098

Фиг. 53А



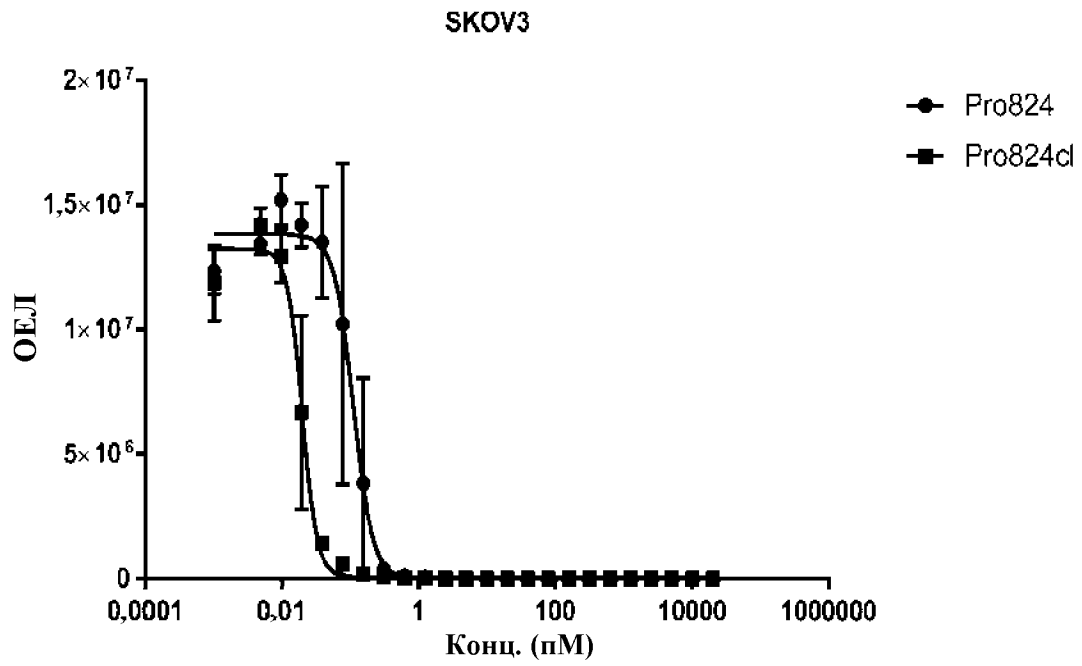
	EC50
Pro824	34,79
Pro824cl	0,2403

Фиг. 53В



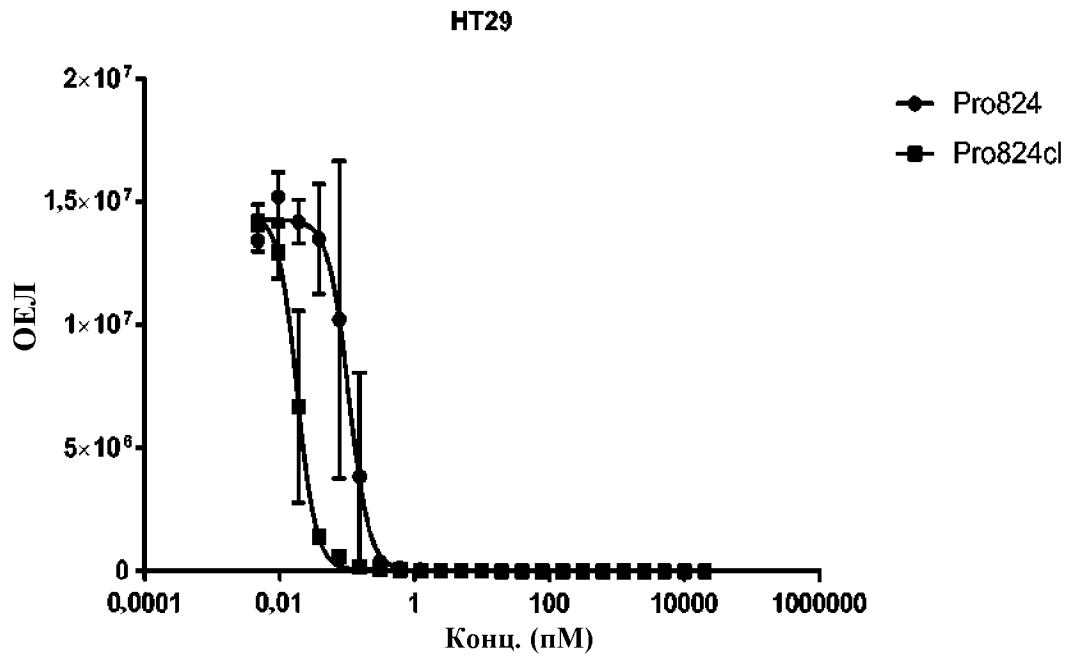
	EC50
Pro824	10,48
Pro824cl	0,2012

Фиг. 53С



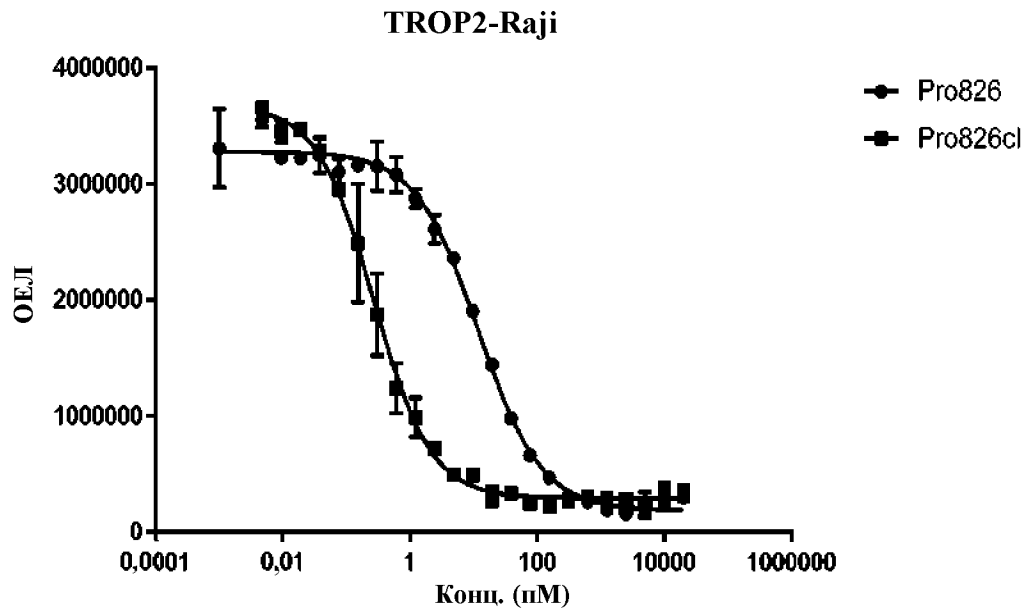
	EC50
Pro824	0,1095
Pro824cl	0,01946

Фиг. 53D



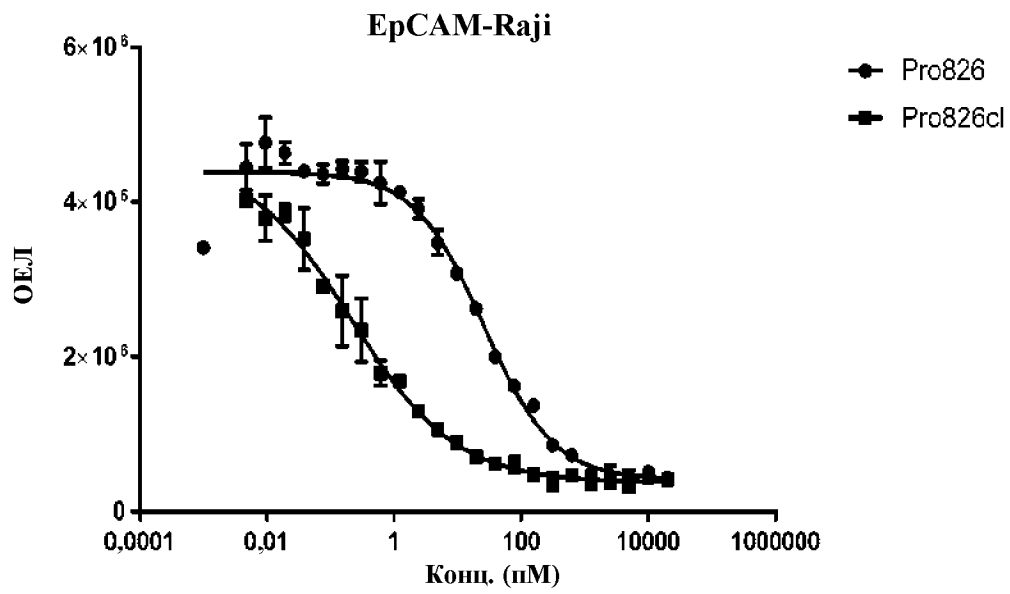
	EC50
Pro824	0,1058
Pro824cl	0,0182

Фиг. 54А



	EC50
Pro826	12,03
Pro826cl	0,2736

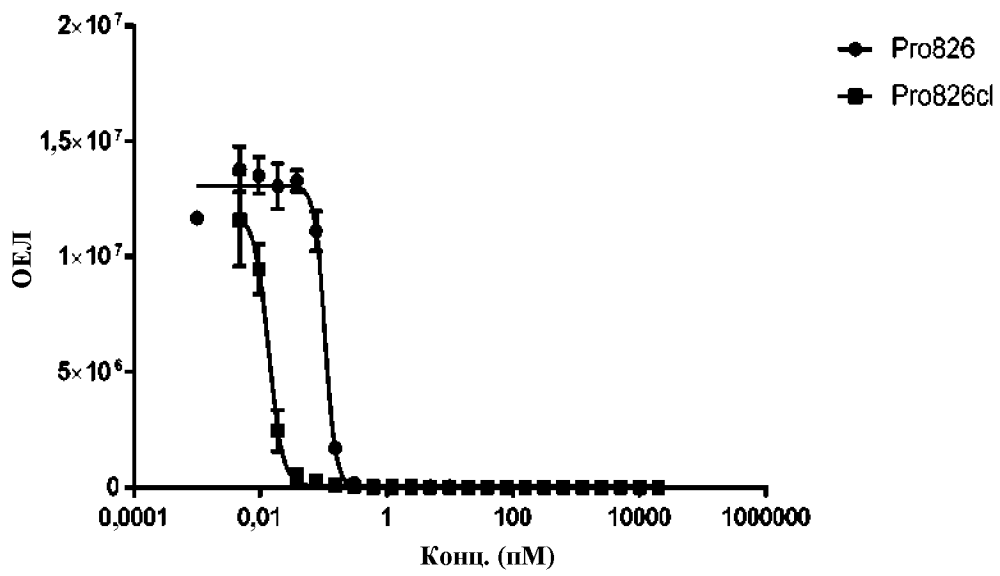
Фиг. 54В



	EC50
Pro826	25,98
Pro826cl	0,2171

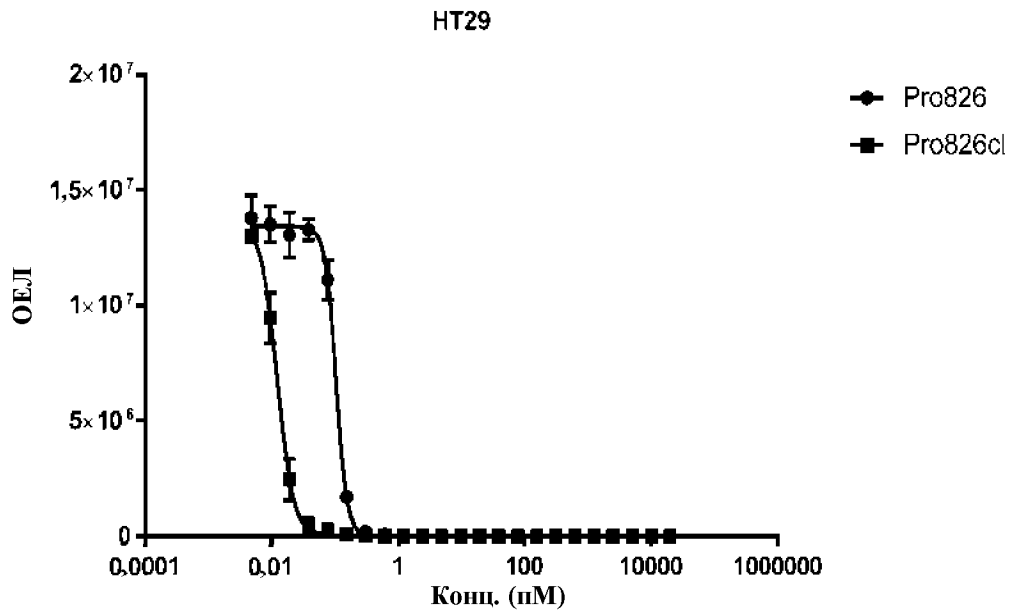
Фиг. 54С

SKOV3



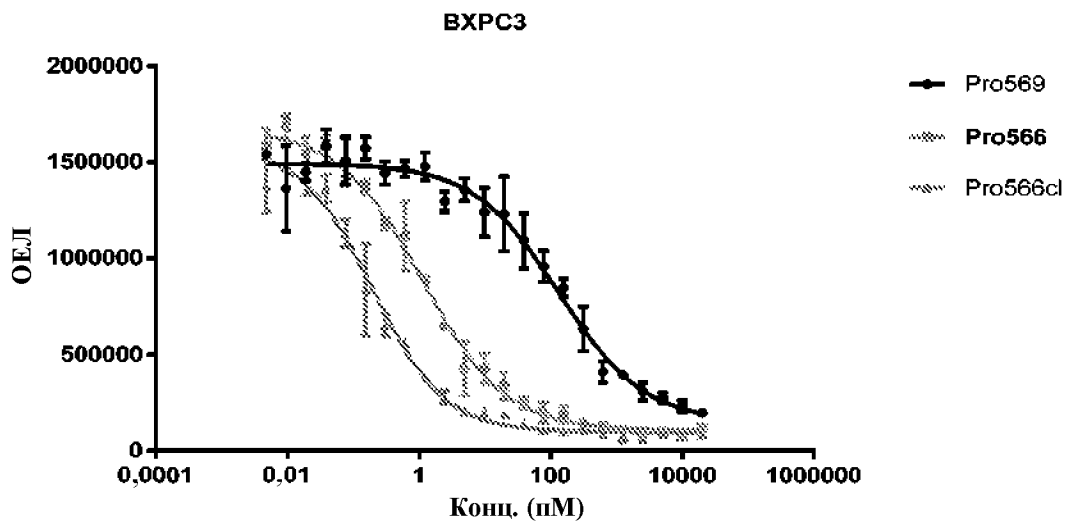
	EC50
Pro826	0,1062
Pro826cl	0,01356

Фиг. 54D



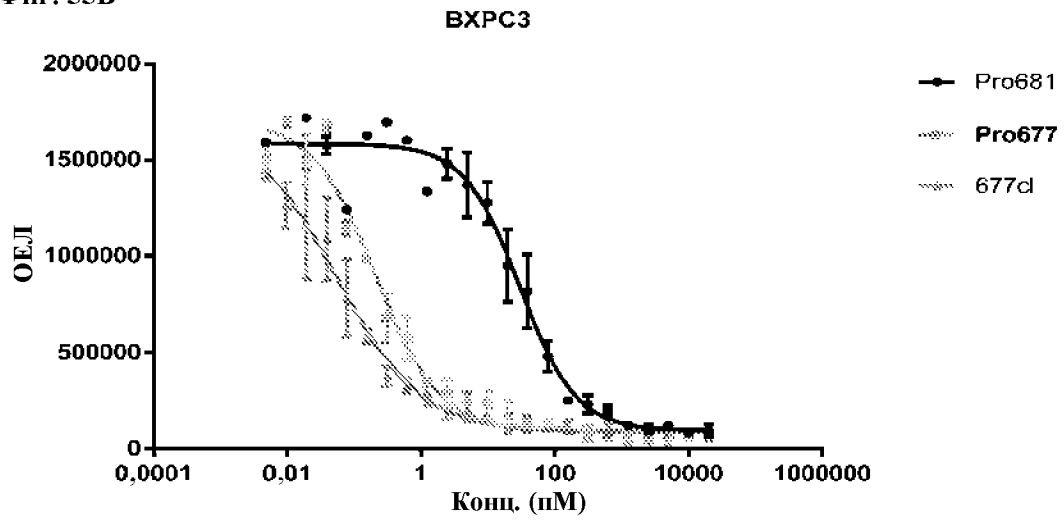
	EC50
Pro826	0,104
Pro826cl	0,01217

Фиг. 55А



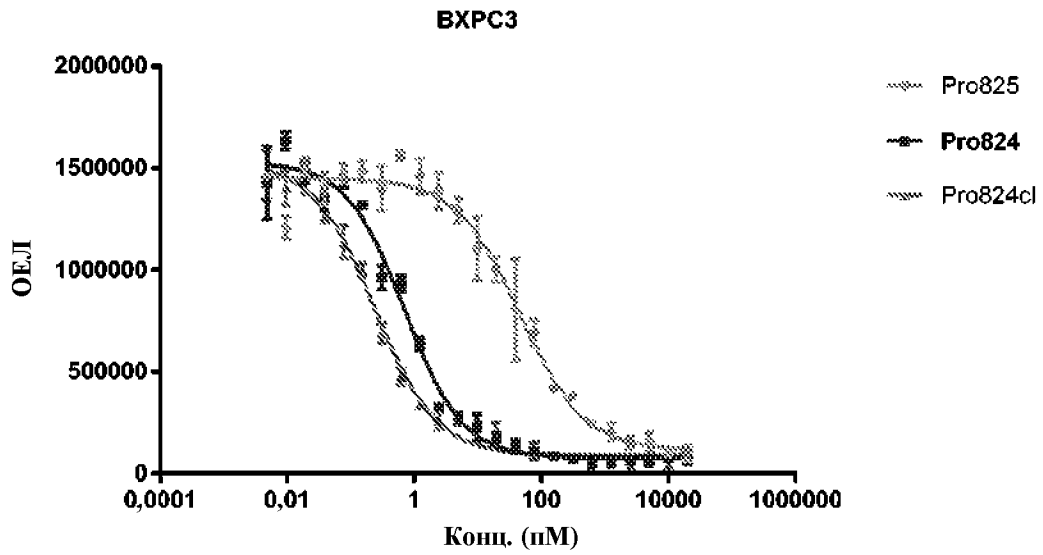
	EC50
Pro569	132,4
Pro566	1,119
Pro566cl	0,1972

Фиг. 55В



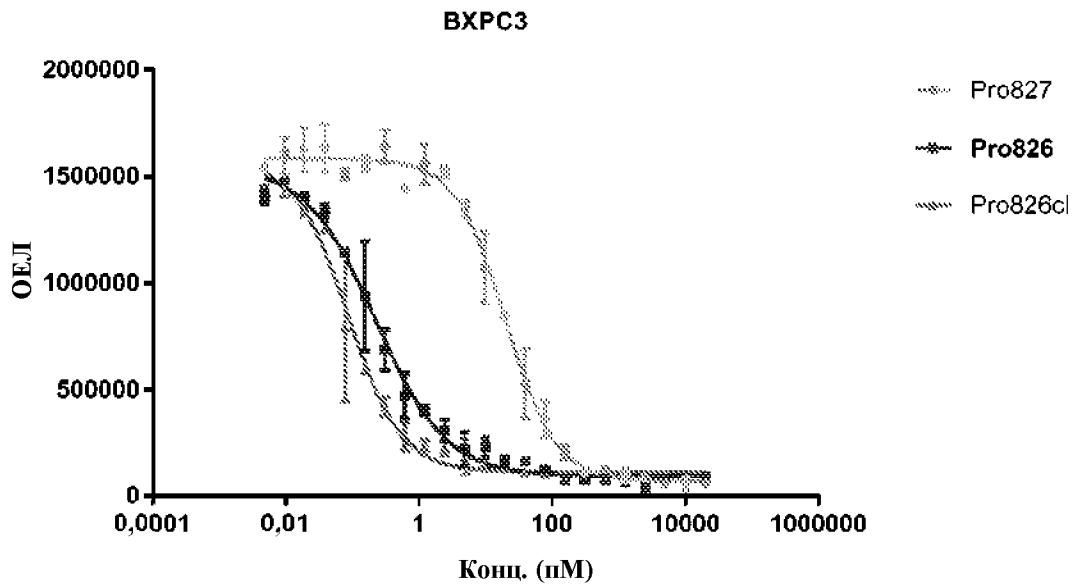
	EC50
Pro681	30,12
Pro677	0,2075
677cI	0,05422

Фиг. 55С



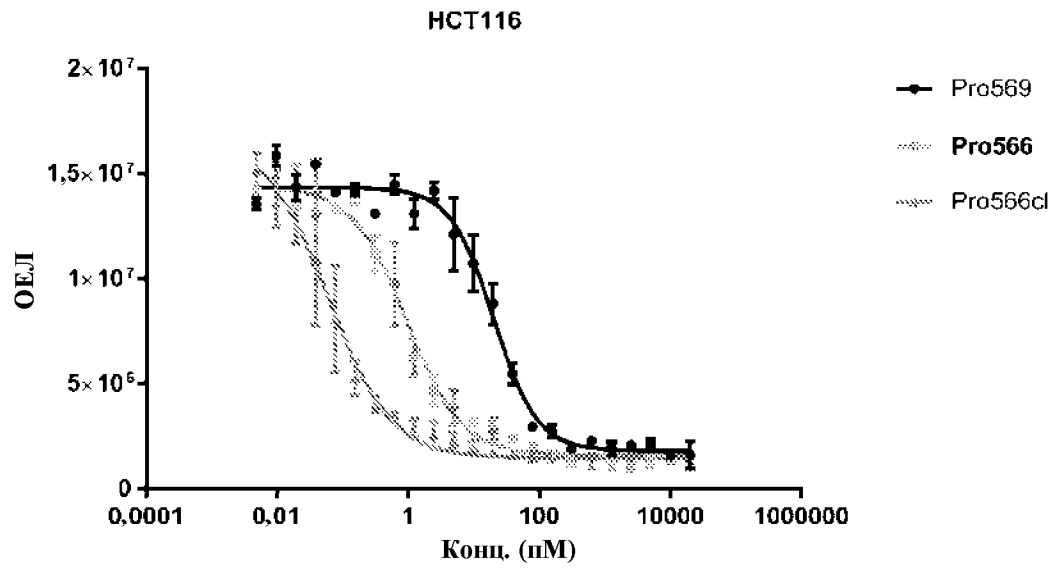
	EC50
Pro825	46,44
Pro824	0,7032
Pro824cl	0,2398

Фиг. 55D



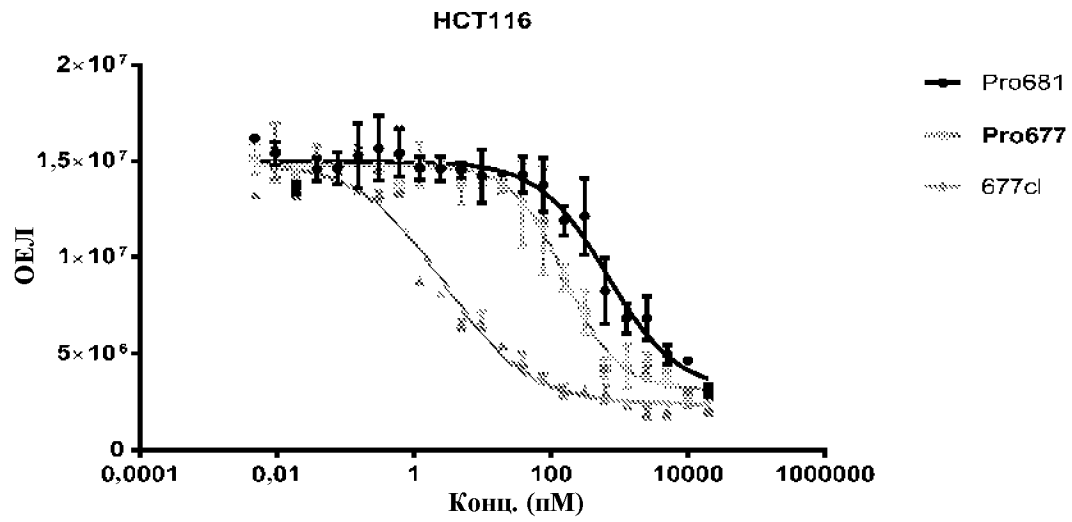
	EC50
Pro827	19,84
Pro826	0,2265
Pro826cl	0,08672

Фиг. 56А



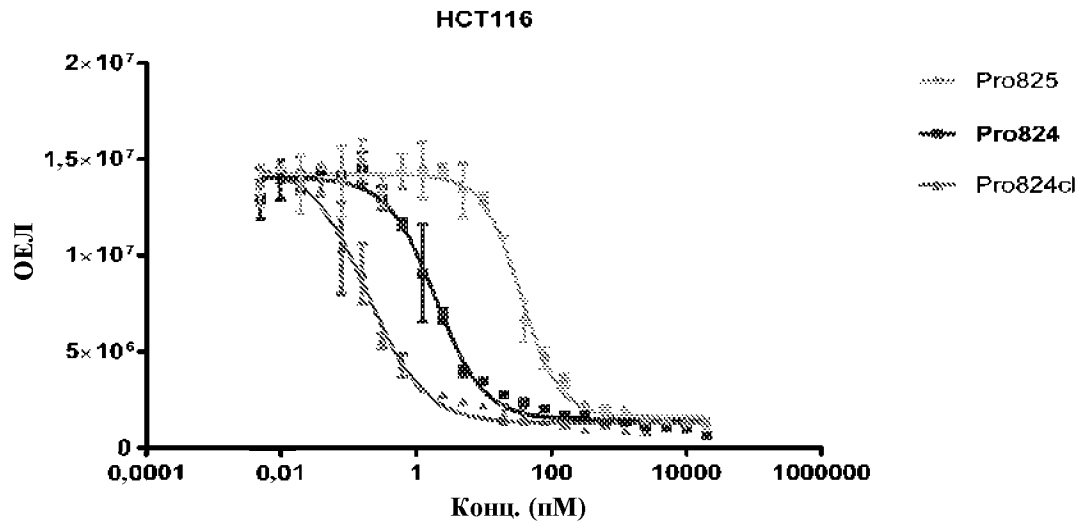
	EC50
Pro569	20,07
Pro566	0,9365
Pro566cl	0,06059

Фиг. 56В



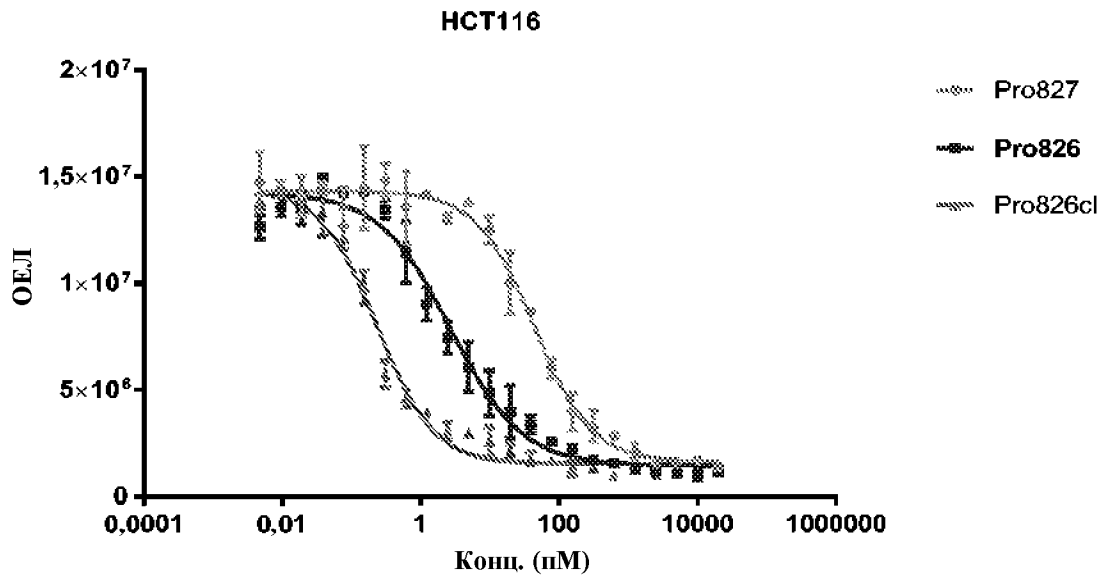
	EC50
Pro681	676,7
Pro677	161,5
677cl	2,767

Фиг. 56С



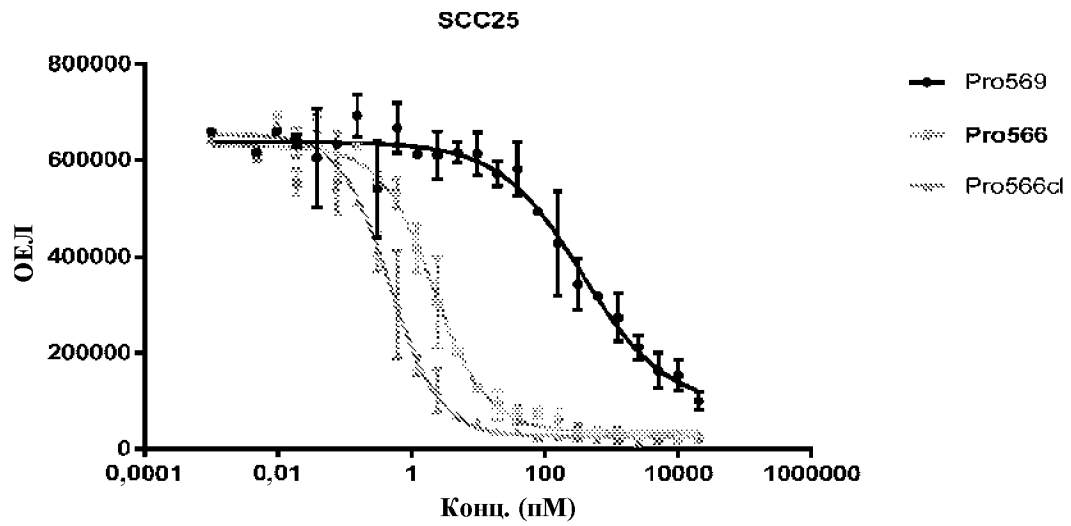
	EC50
Pro825	35,39
Pro824	1,913
Pro824cl	0,1867

Фиг. 56D



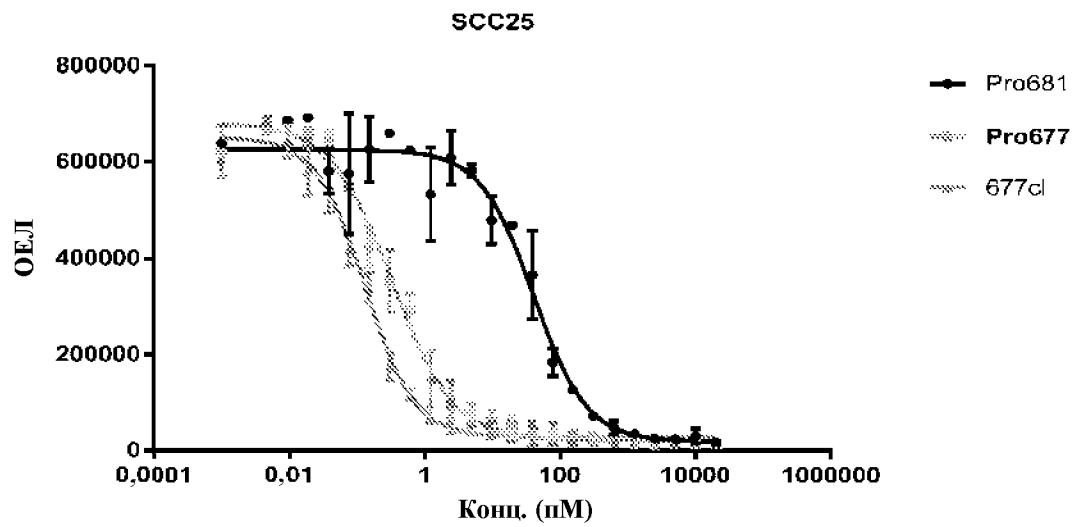
	EC50
Pro827	43,65
Pro826	2,723
Pro826cl	0,2354

Фиг. 57А



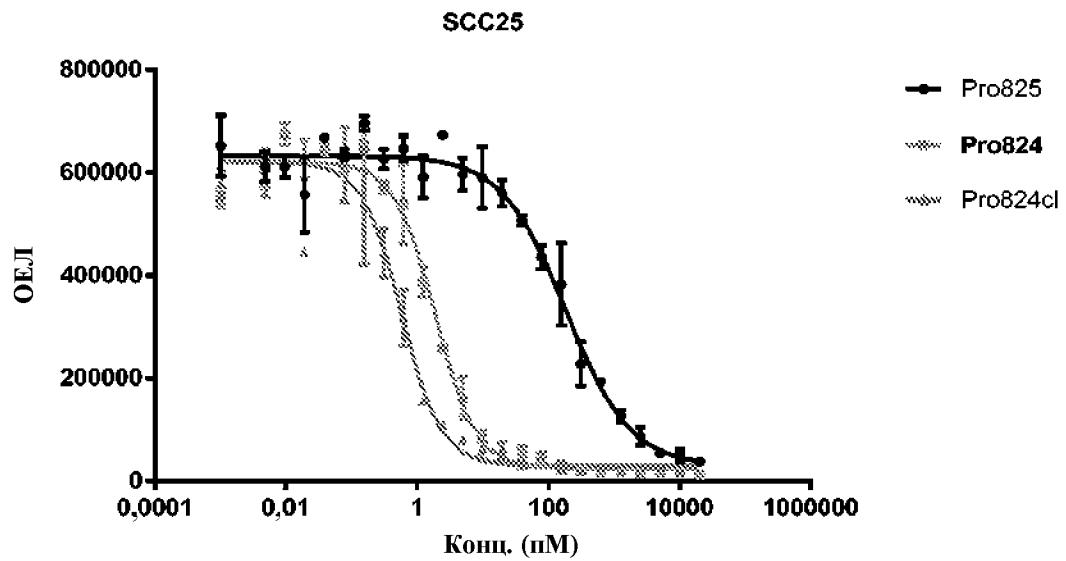
	EC50
Pro569	361,9
Pro566	2,159
Pro566cl	0,4776

Фиг. 57В



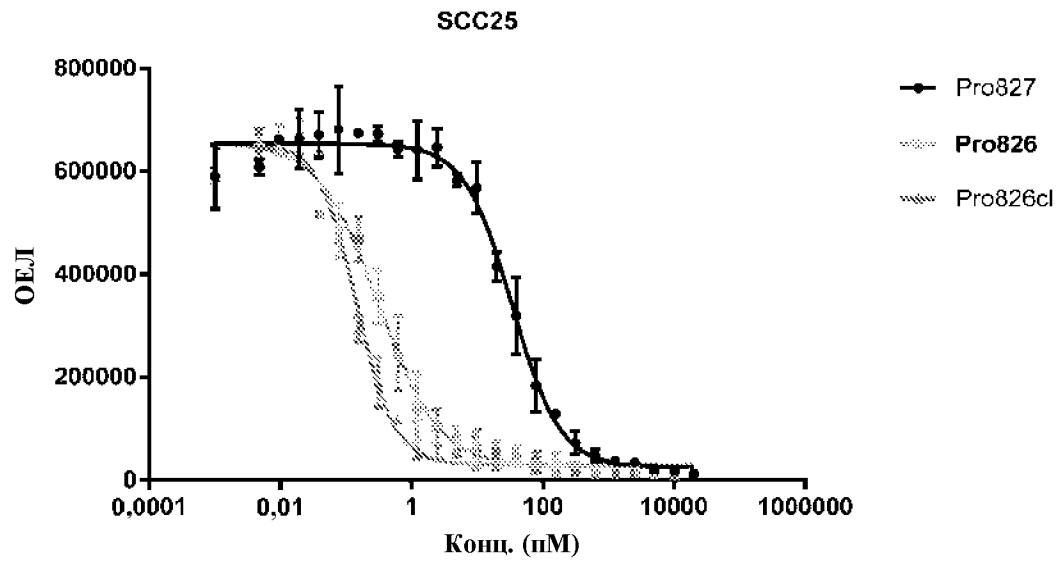
	EC50
Pro681	40,82
Pro677	0,3296
677cl	0,1328

Фиг. 57С



	EC50
Pro825	184,5
Pro824	1,88
Pro824cl	0,5736

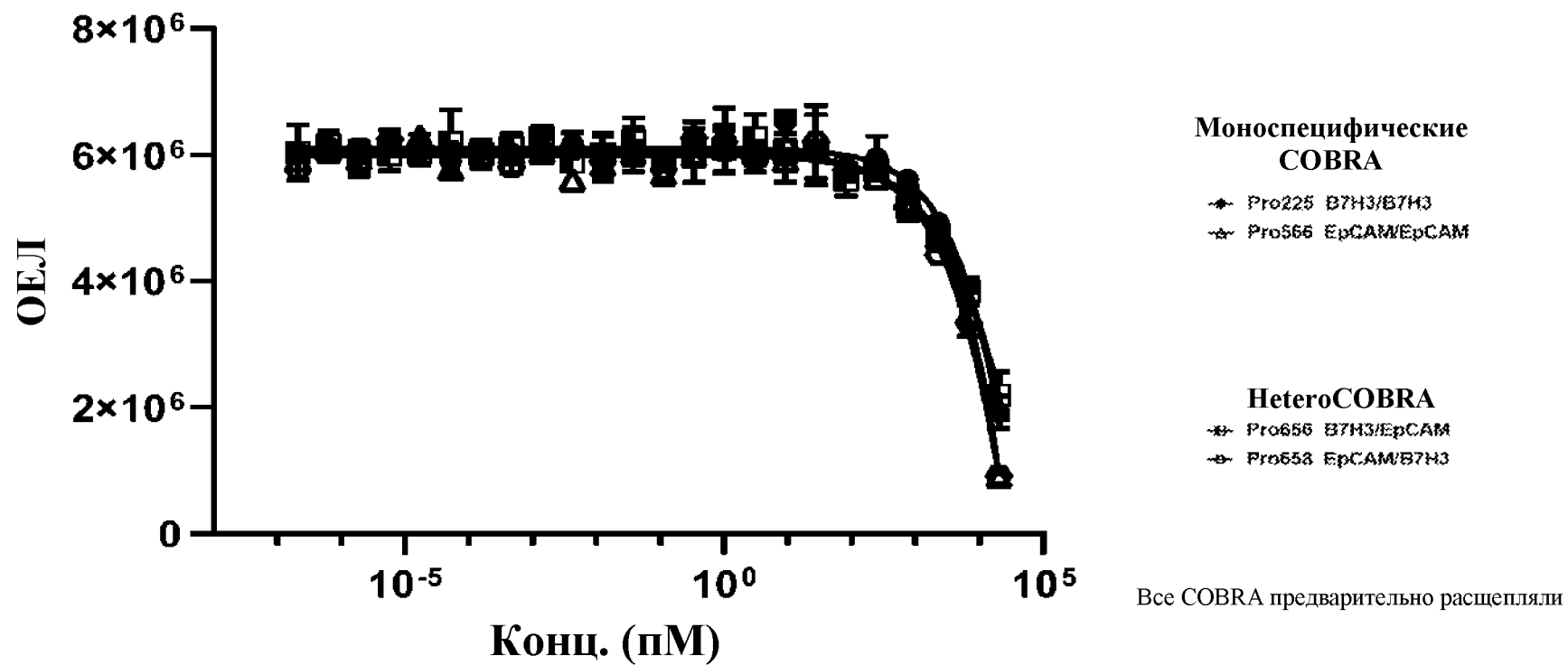
Фиг. 57D



	EC50
Pro827	34,01
Pro826	0,313
Pro826cl	0,1443

Фиг. 58А

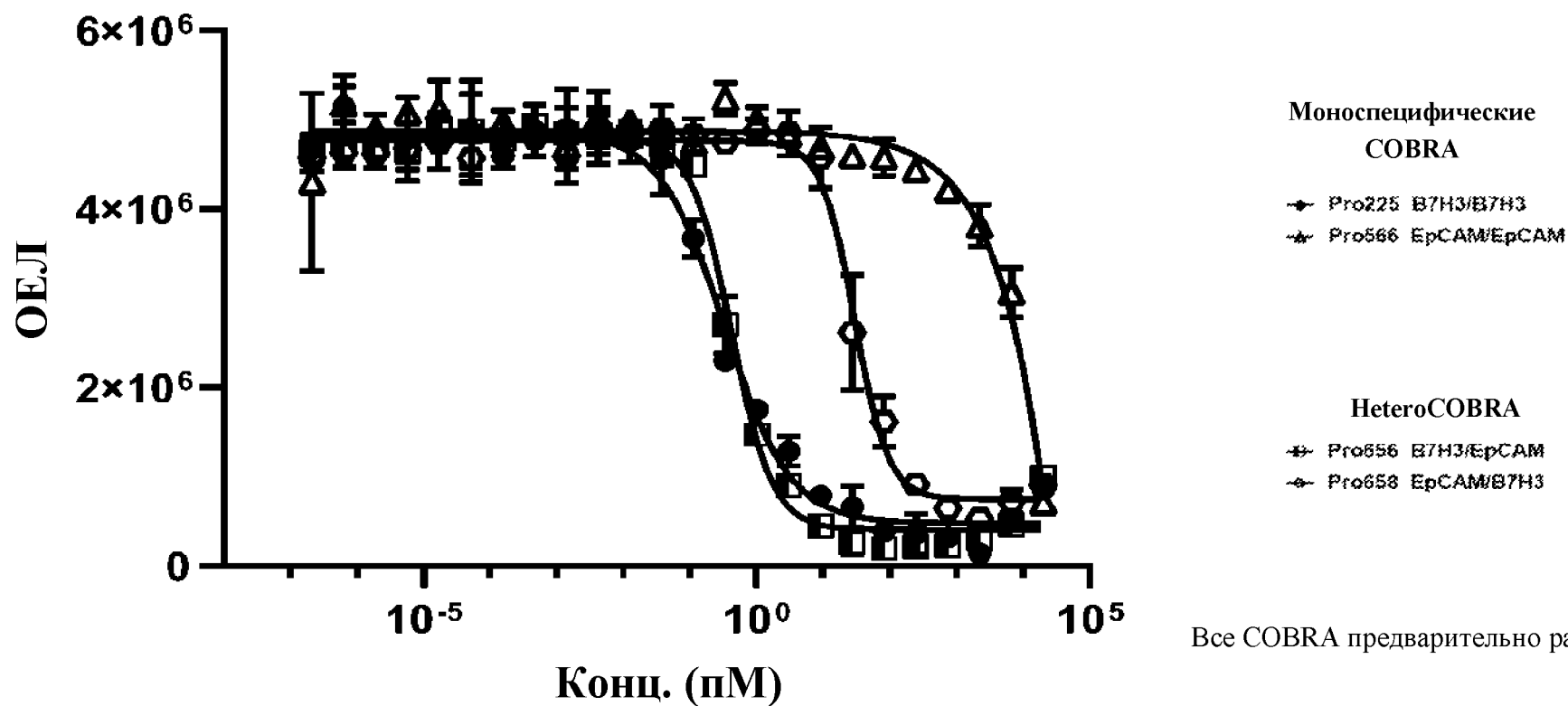
Родительские Раји



206/247

Фиг. 58В

Raji-B7H3

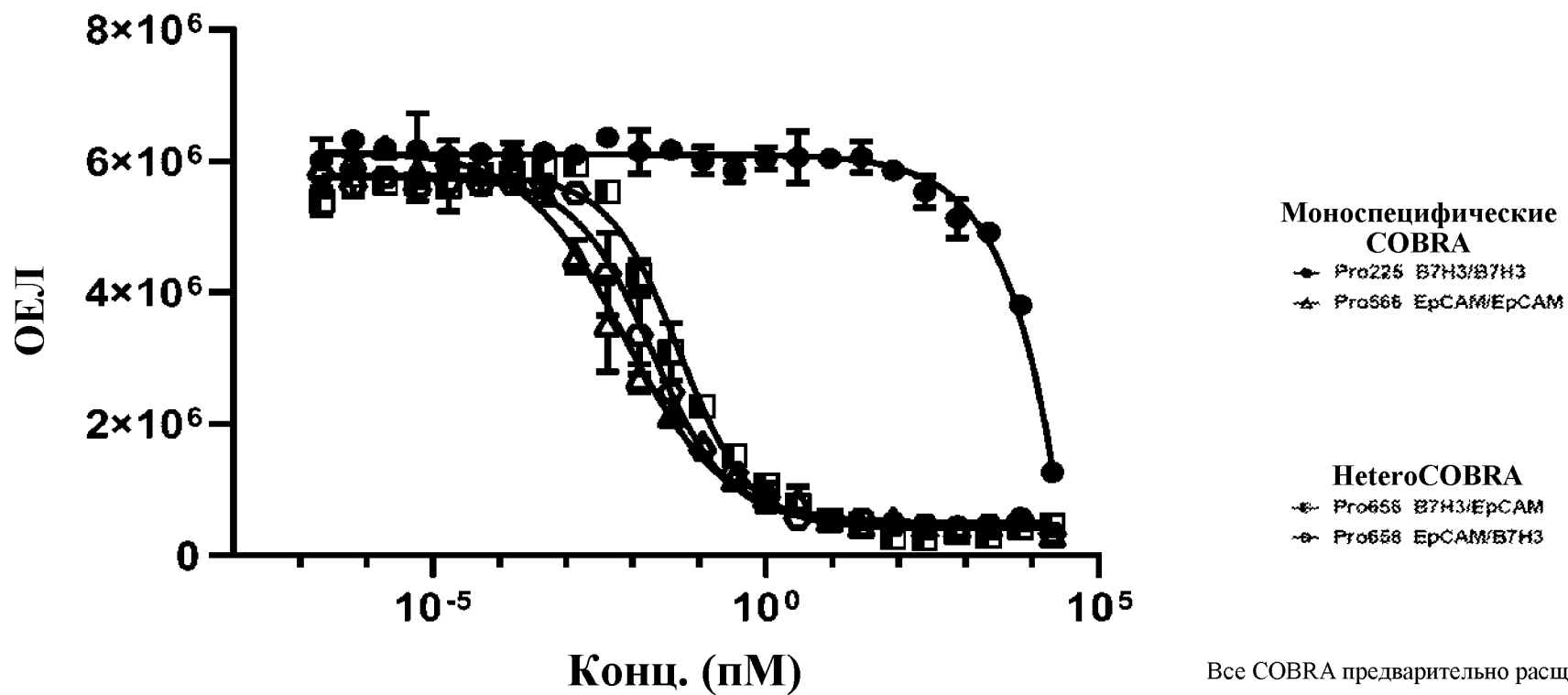


Все COBRA предварительно расщепляли

207/247

Фиг. 58С

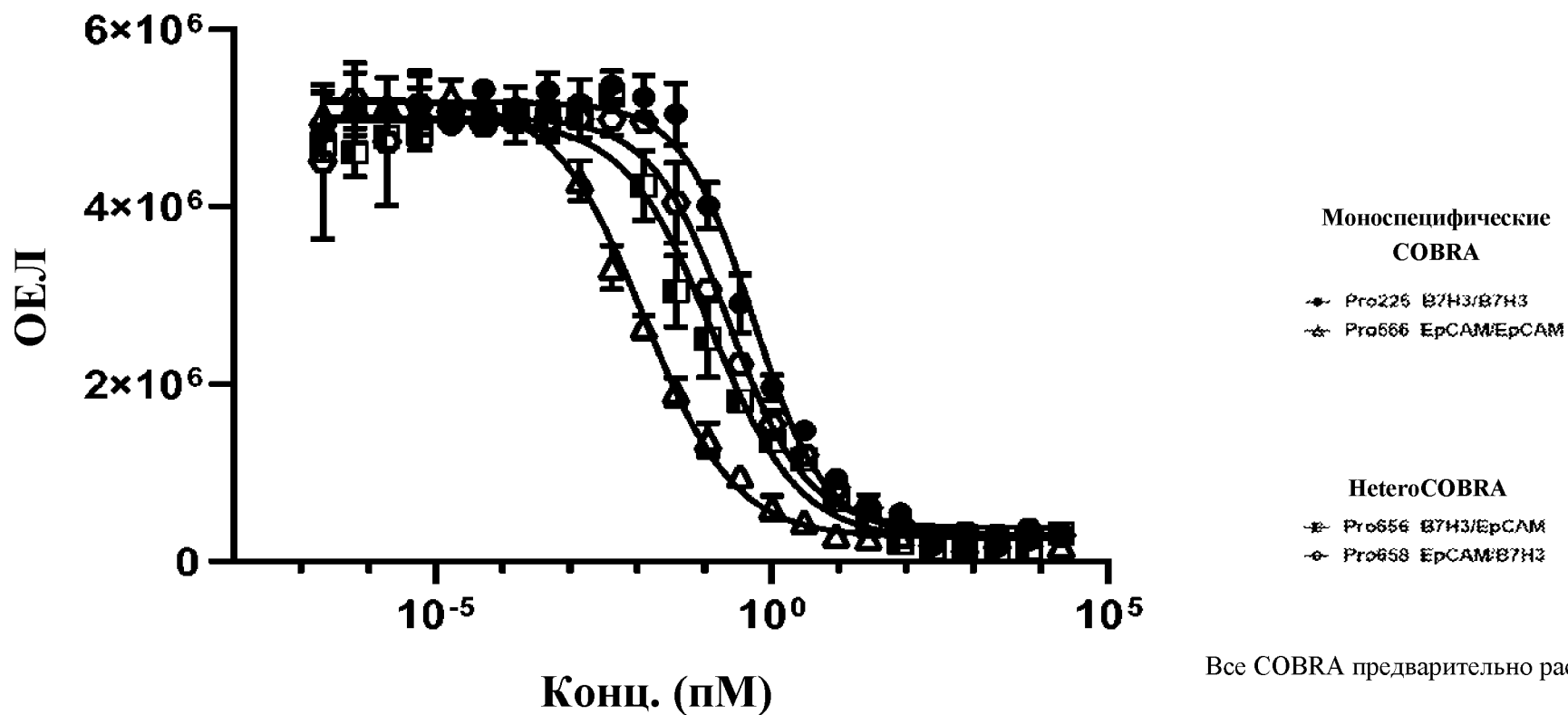
Raji-EpCAM



208/247

Фиг. 58D

Raji-B7H3/EpCAM

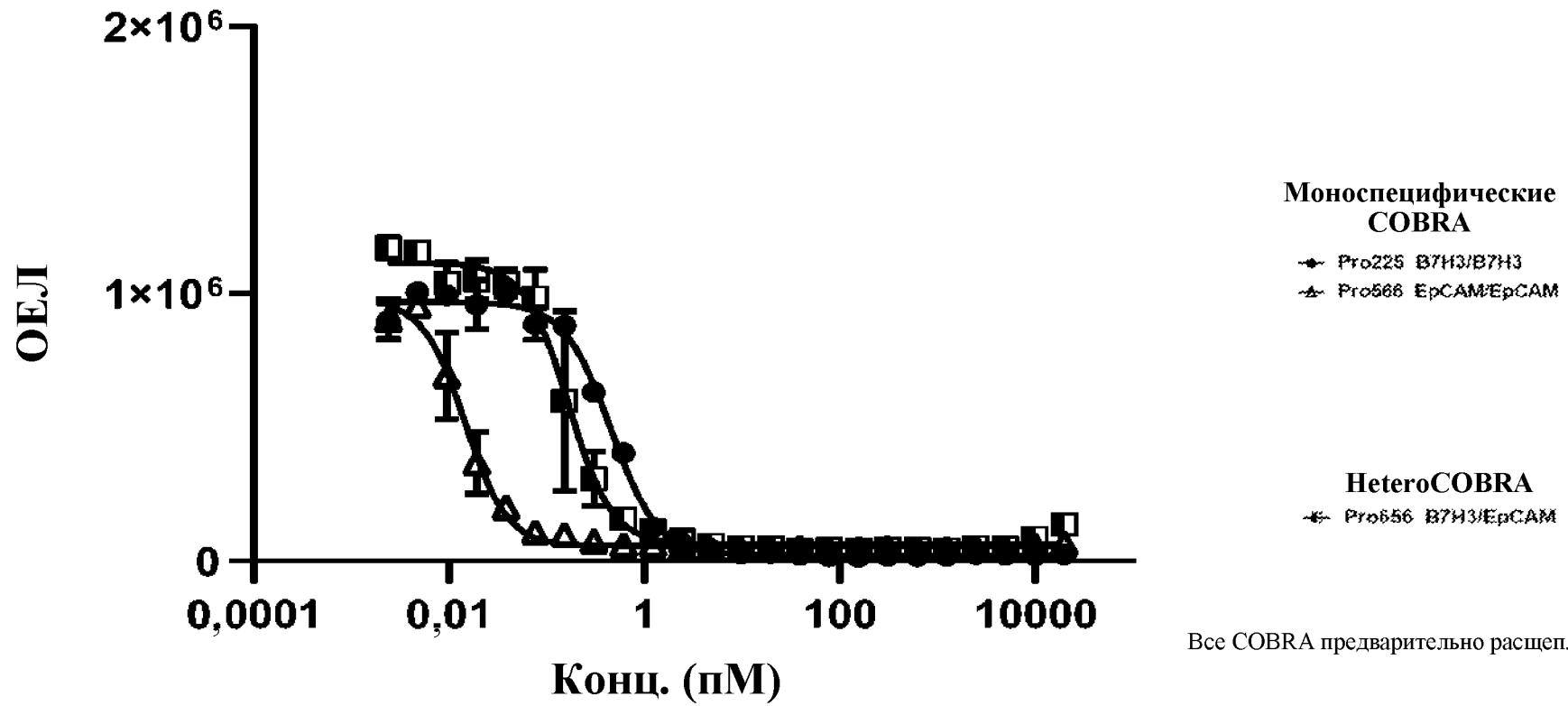


Все COBRA предварительно расщепляли

209/247

Фиг. 59А

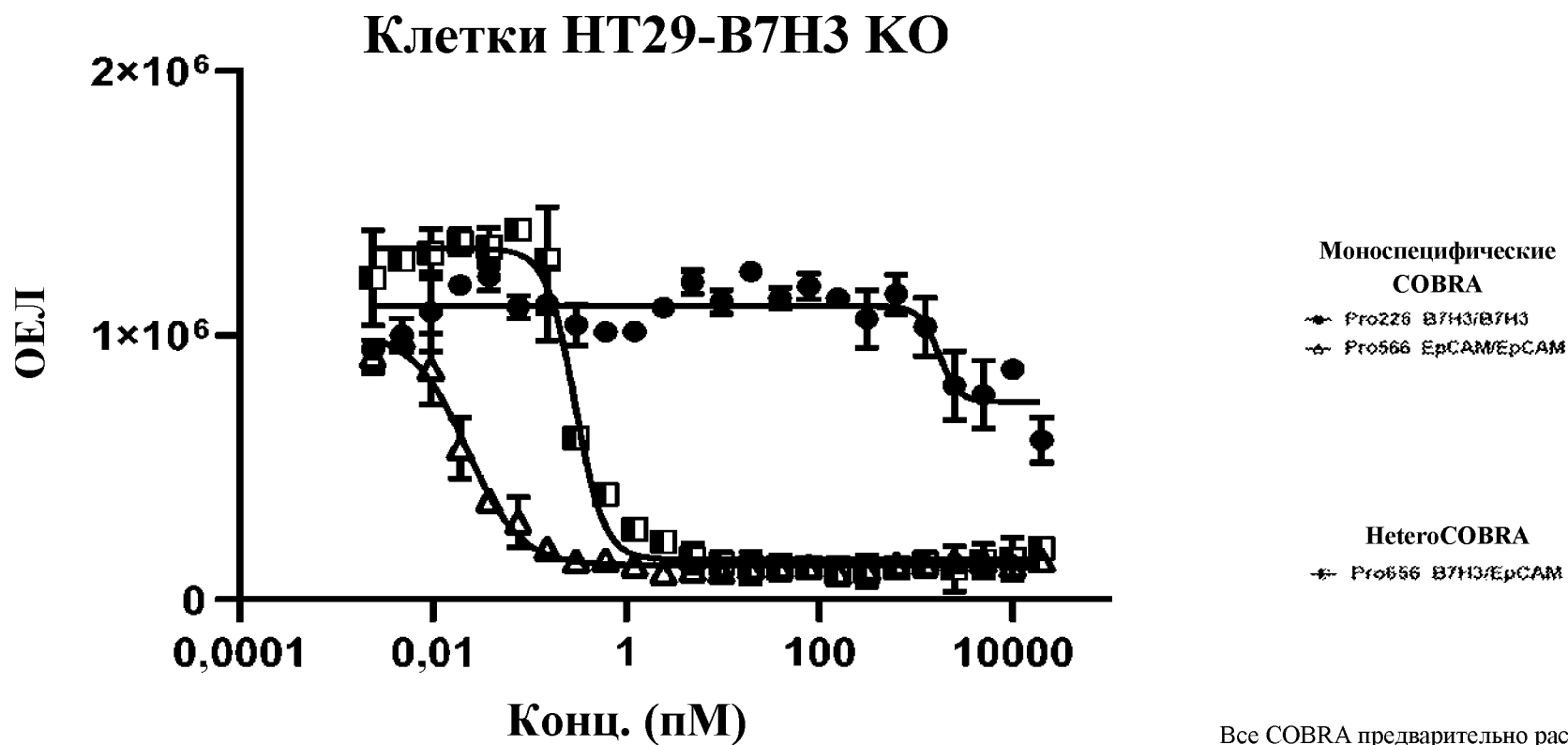
HT29



Все COBRA предварительно расщепляли

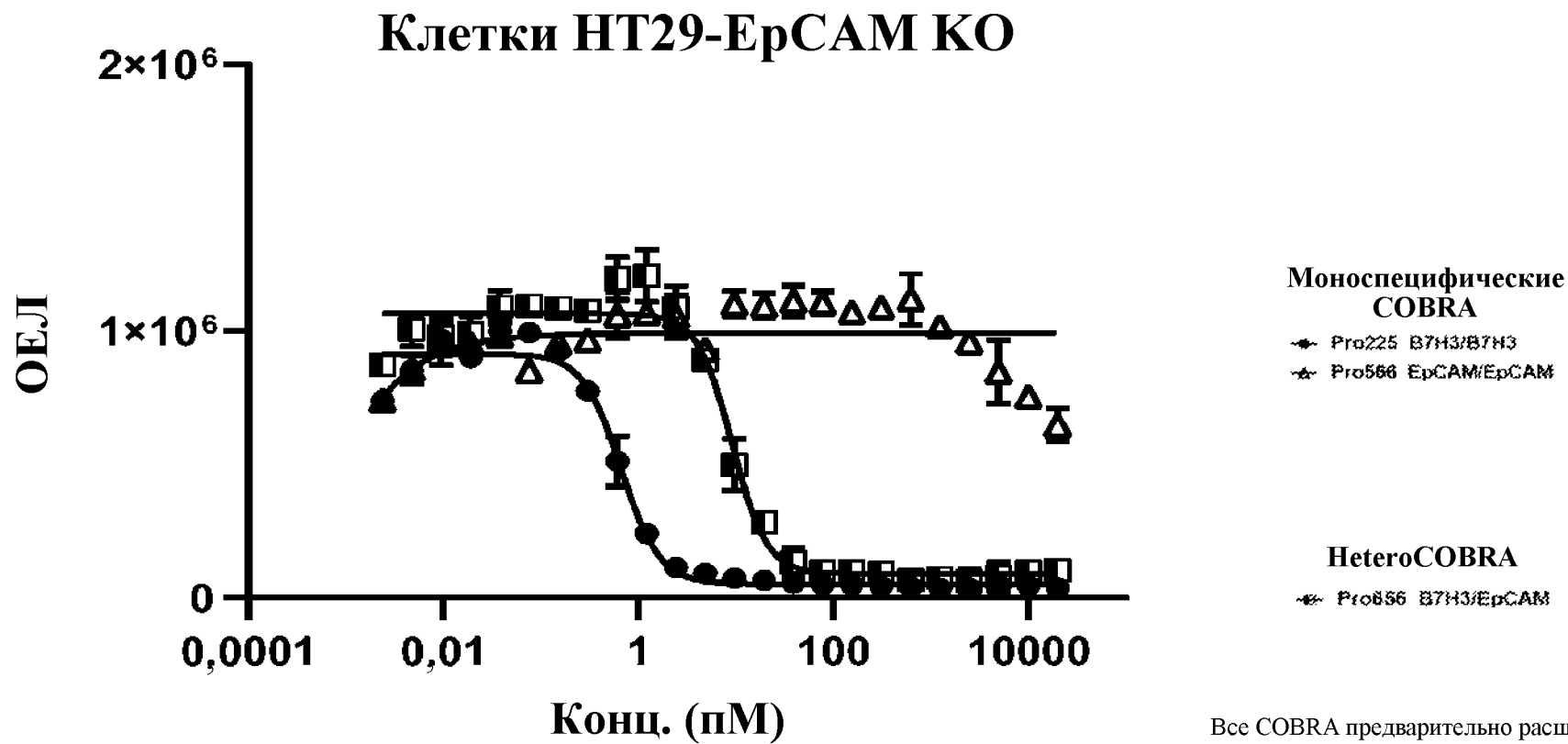
210/247

Фиг. 59В



Все COBRA предварительно расщепляли

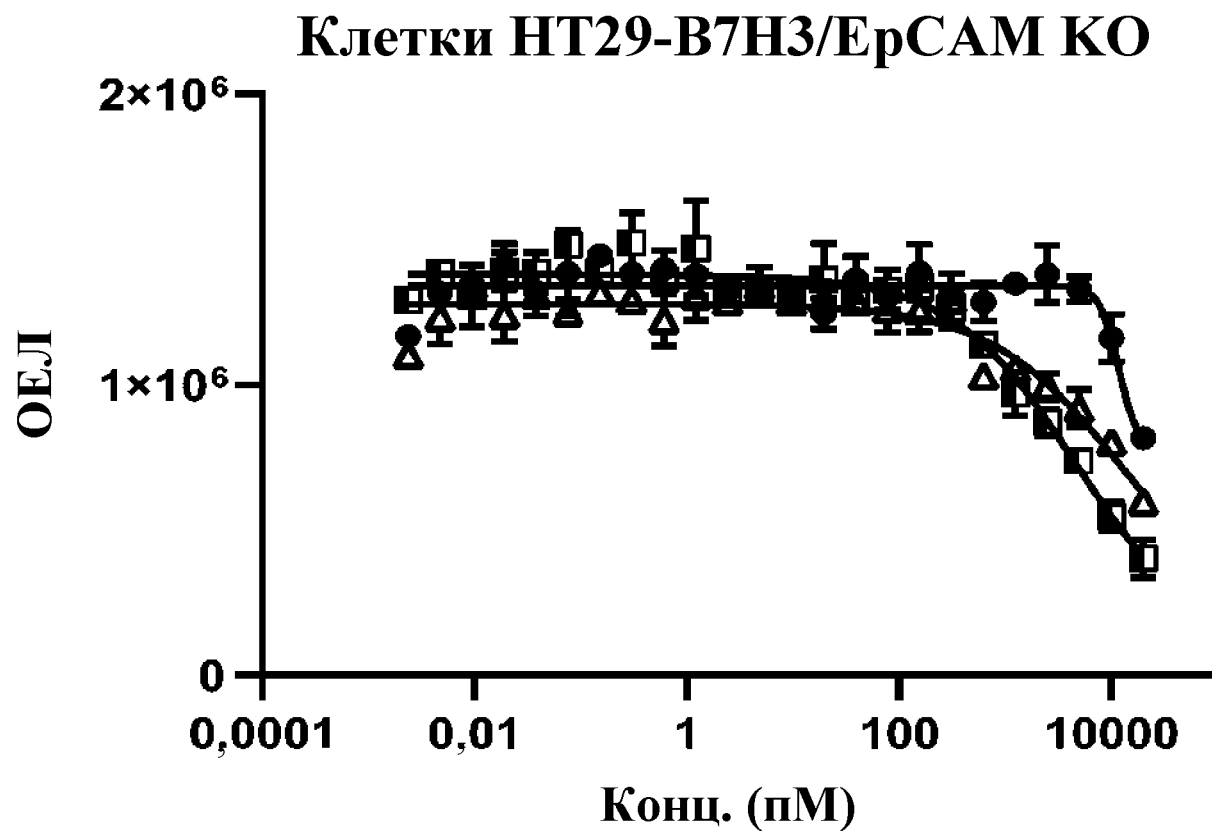
Фиг. 59С



Все COBRA предварительно расщепляли

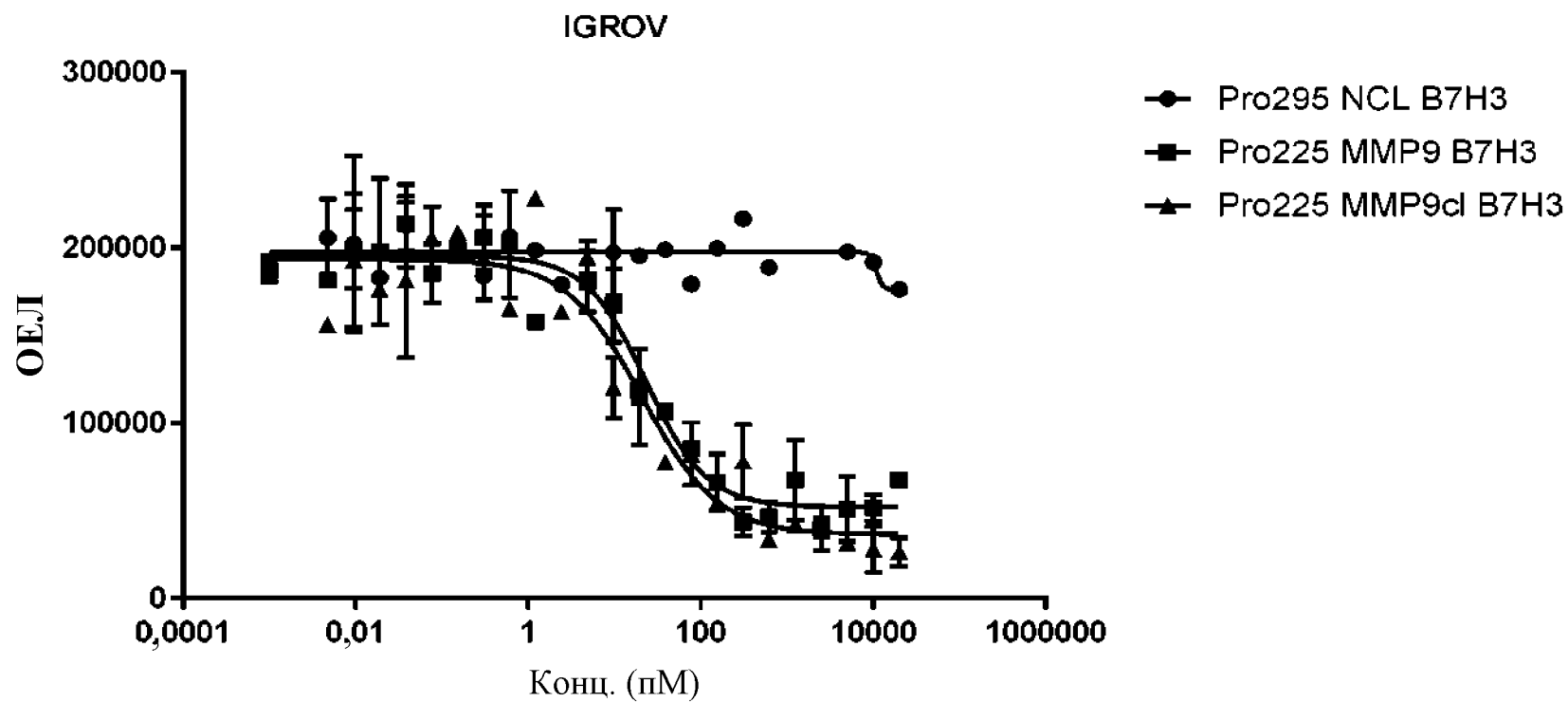
212/247

Фиг. 59D



213/247

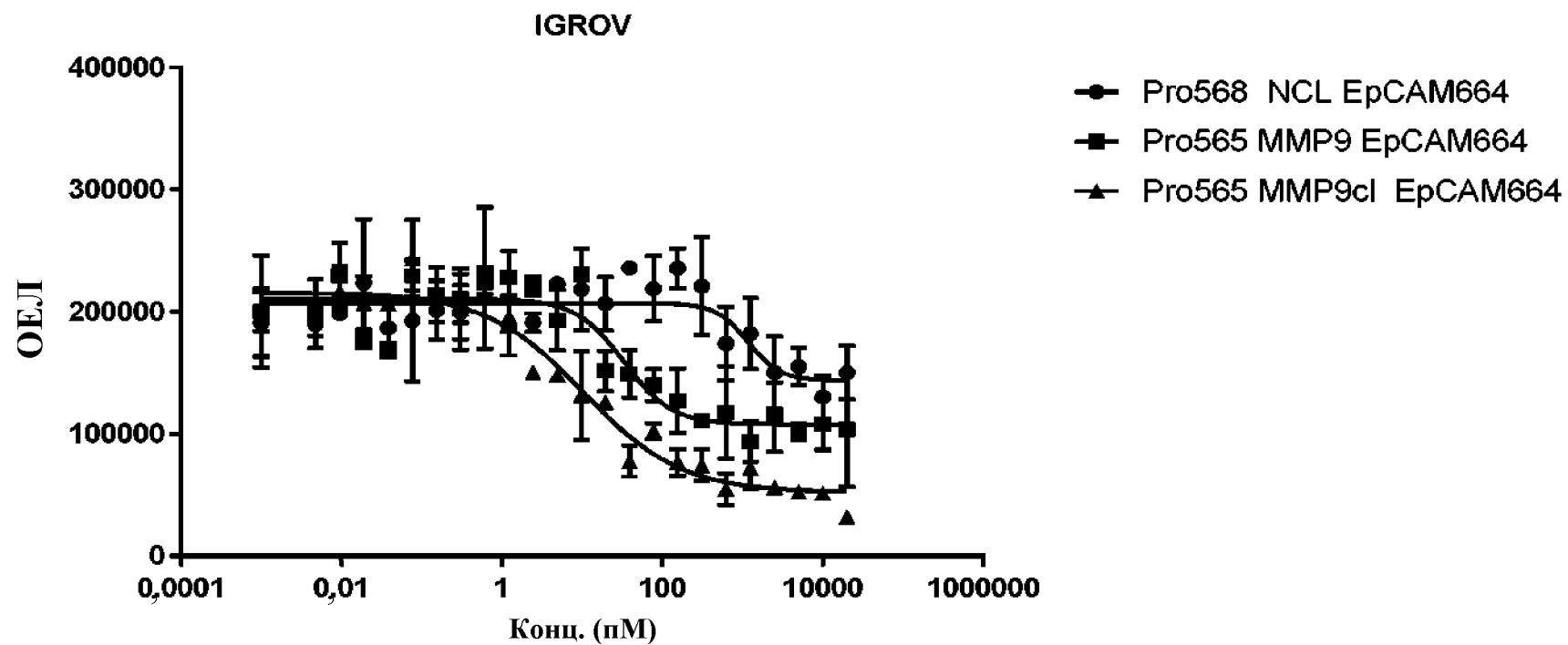
Фиг. 60А



- Pro295 NCL B7H3
- Pro225 MMP9 B7H3
- ▲ Pro225 MMP9cl B7H3

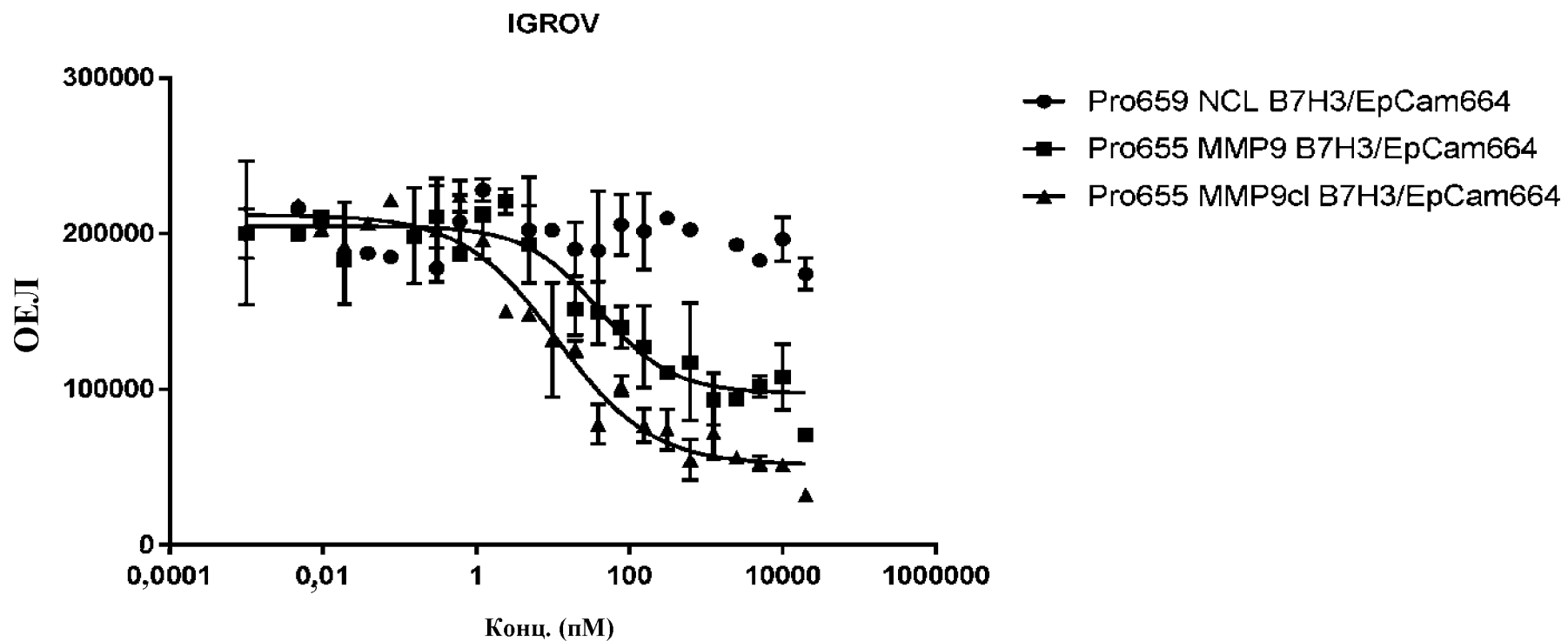
	EC50
Pro295 NCL B7H3	~ 10875
Pro225 MMP9 B7H3	23,42
Pro225 MMP9cl B7H3	20,94

Фиг. 60В



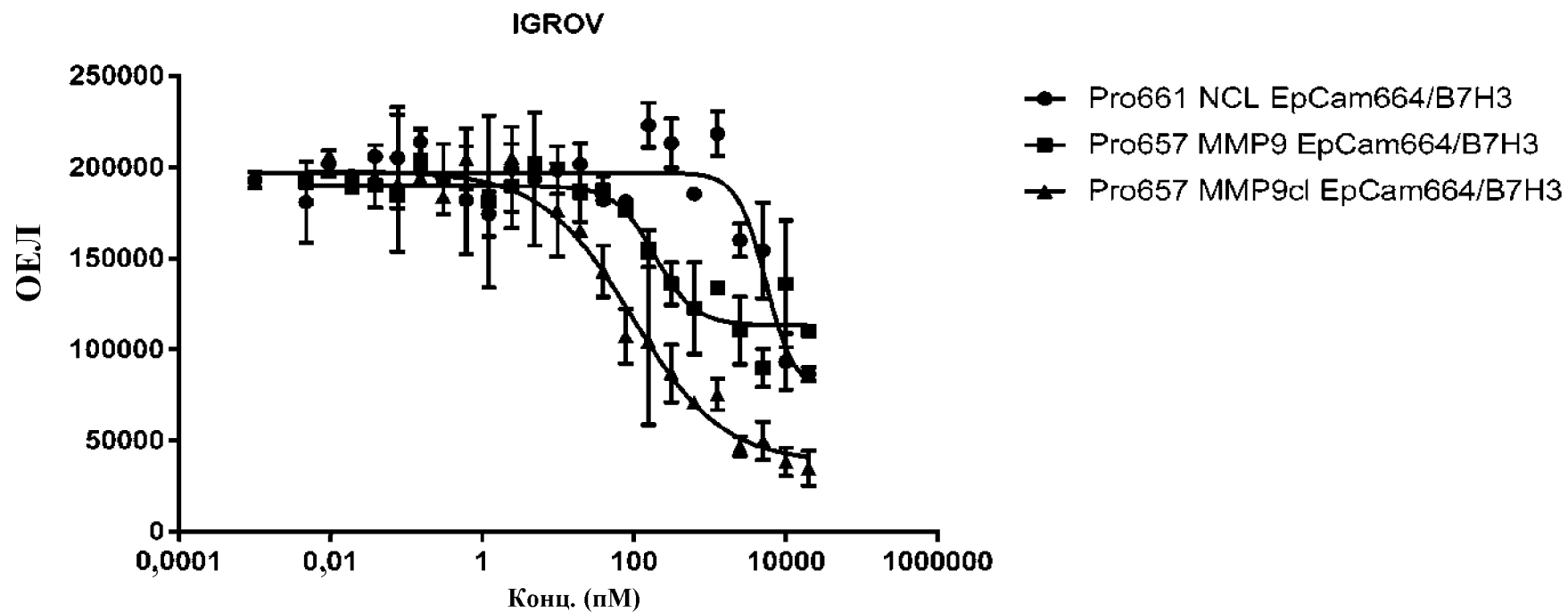
	EC50
Pro568 NCL EpCAM664	1170
Pro565 MMP9 EpCAM664	33,23
Pro565 MMP9cl EpCAM664	10,43

Фиг. 60С



	EC50
Pro659 NCL B7H3/EpCam664	
Pro655 MMP9 B7H3/EpCam664	39,82
Pro655 MMP9cl B7H3/EpCam664	11,39

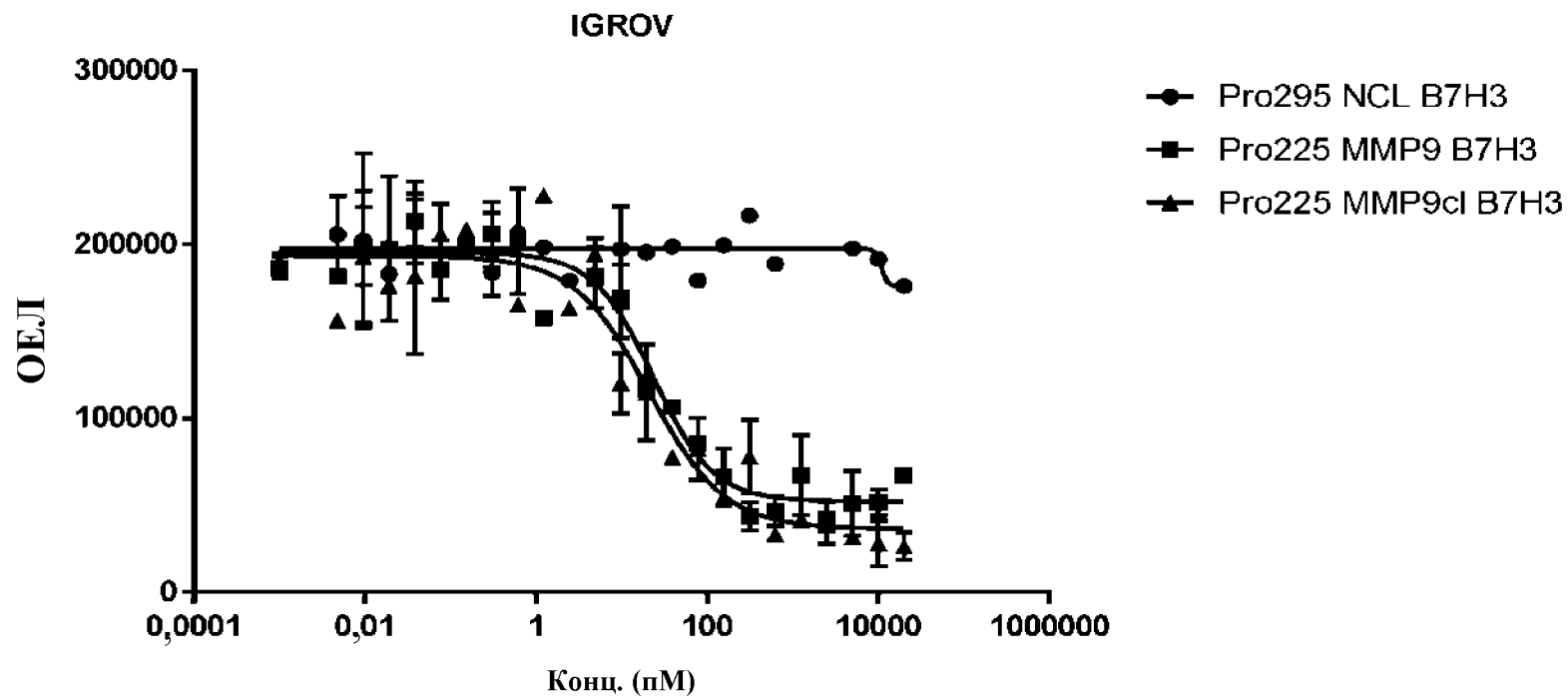
Фиг. 60D



	EC50
Pro661 NCL EpCam664/B7H3	5475
Pro657 MMP9 EpCam664/B7H3	188,4
Pro657 MMP9cl EpCam664/B7H3	95,23

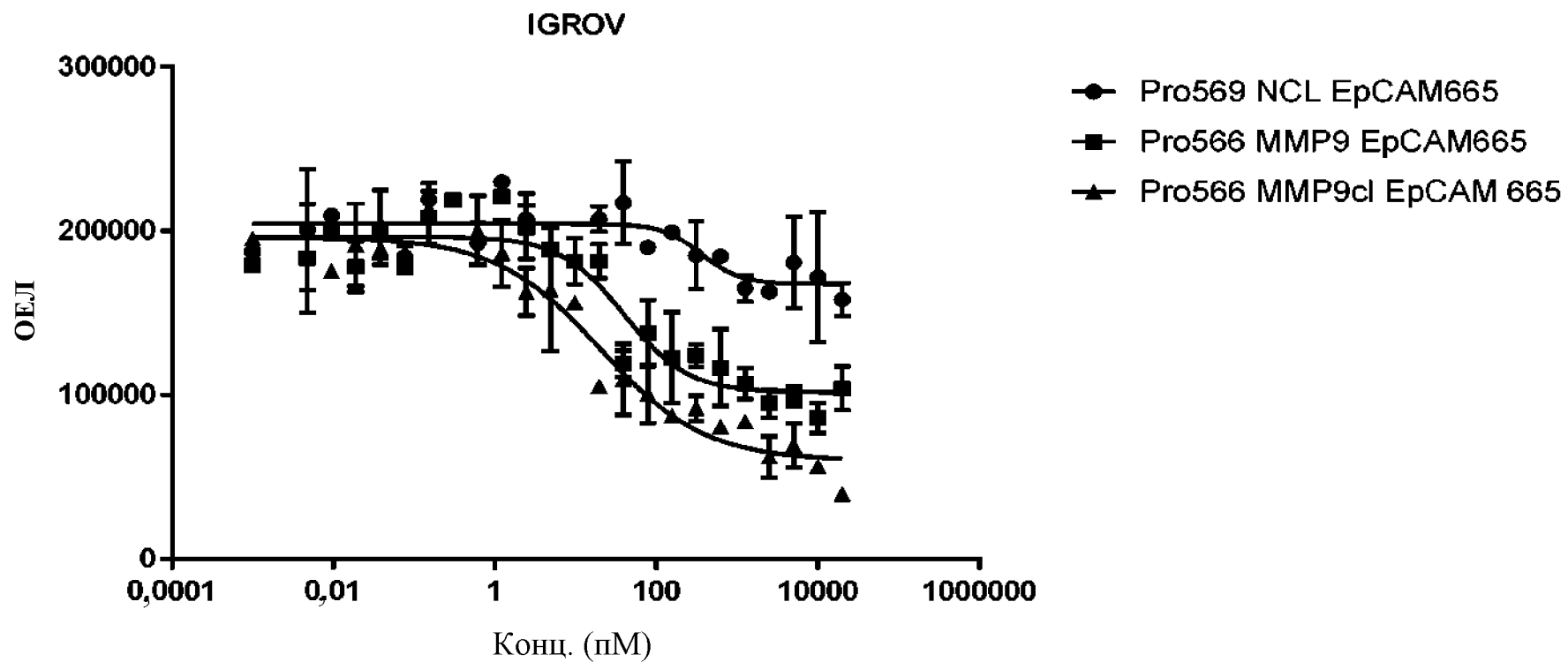
Фиг. 61А

аErCAM (h665)/aB7H3 (hF7) уничтожает опухолевые клеточные линии, экспрессирующие как ErCAM, так и B7H3,conditionally



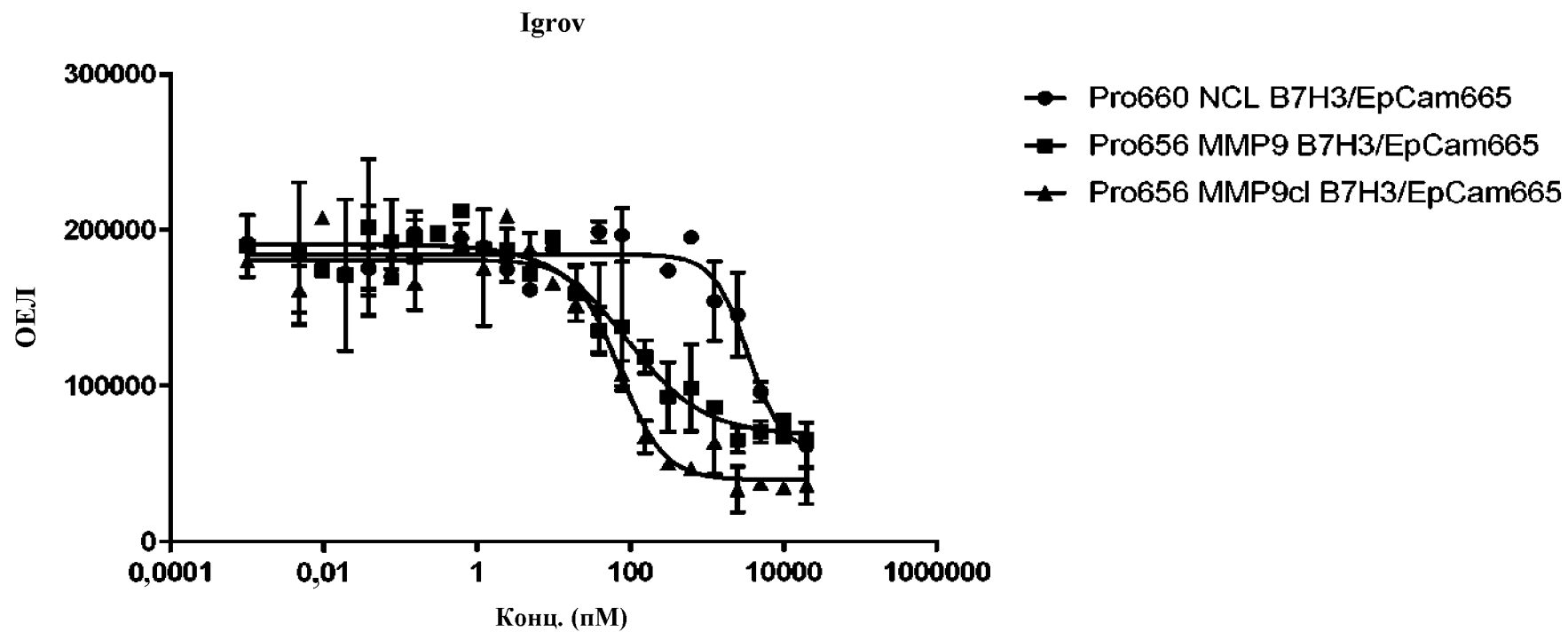
	EC50
Pro295 NCL B7H3	~ 10875
Pro225 MMP9 B7H3	23,42
Pro225 MMP9cl B7H3	20,94

Фиг. 61В



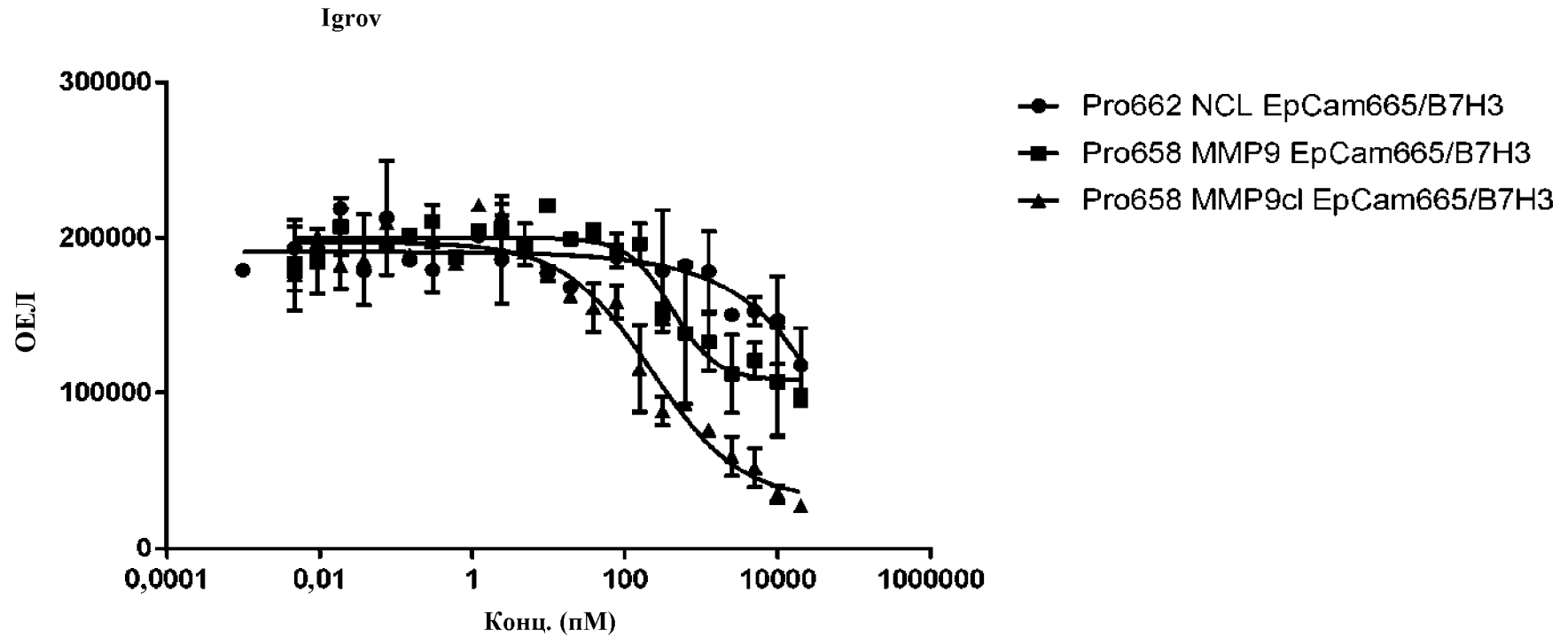
	EC50
Pro569 NCL EpCAM665	362,2
Pro566 MMP9 EpCAM665	39,86
Pro566 MMP9cl EpCAM 665	20,17

Фиг. 61С



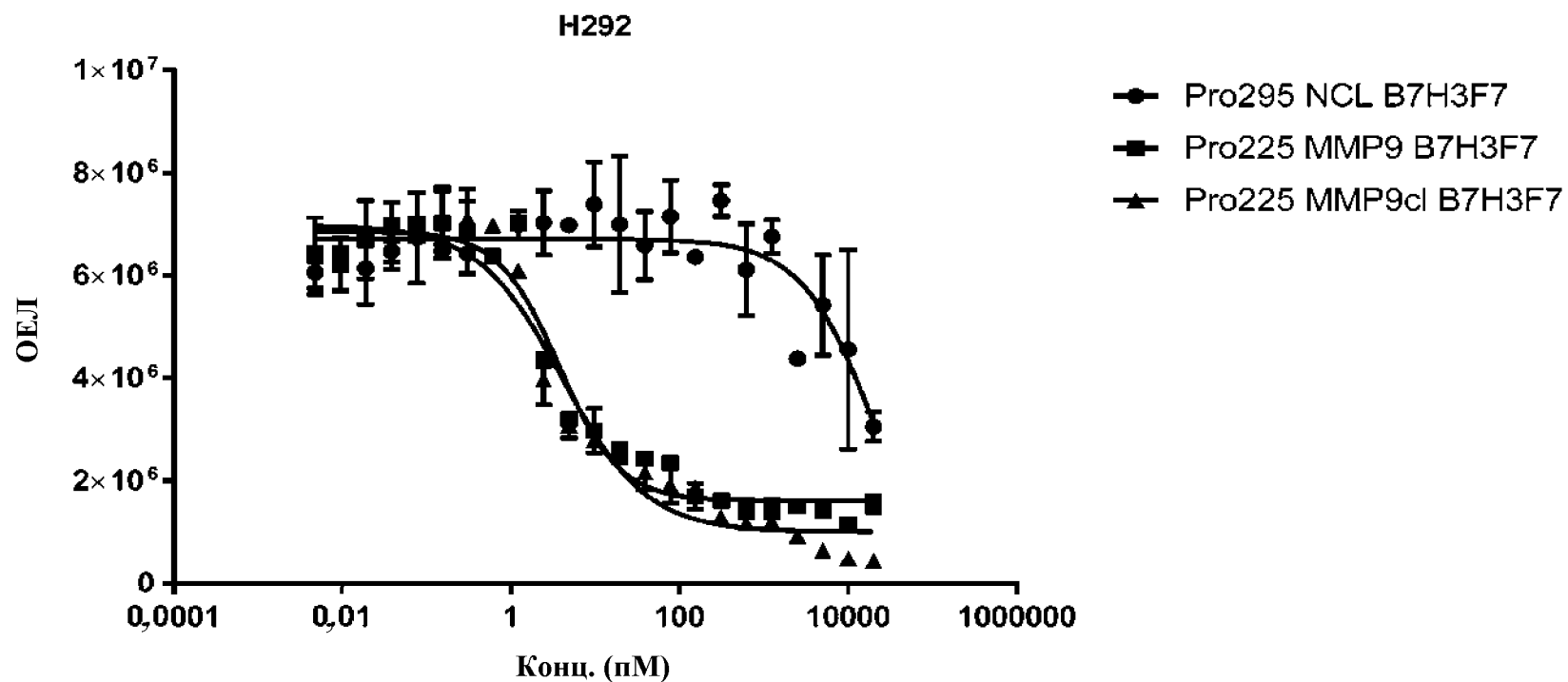
	EC50
Pro660 NCL B7H3/EpCam665	3421
Pro656 MMP9 B7H3/EpCam665	91,04
Pro656 MMP9cl B7H3/EpCam665	72,27

Фиг. 61D



	EC50
Pro662 NCL EpCam665/B7H3	~ 128087906
Pro658 MMP9 EpCam665/B7H3	416
Pro658 MMP9cl EpCam665/B7H3	226,4

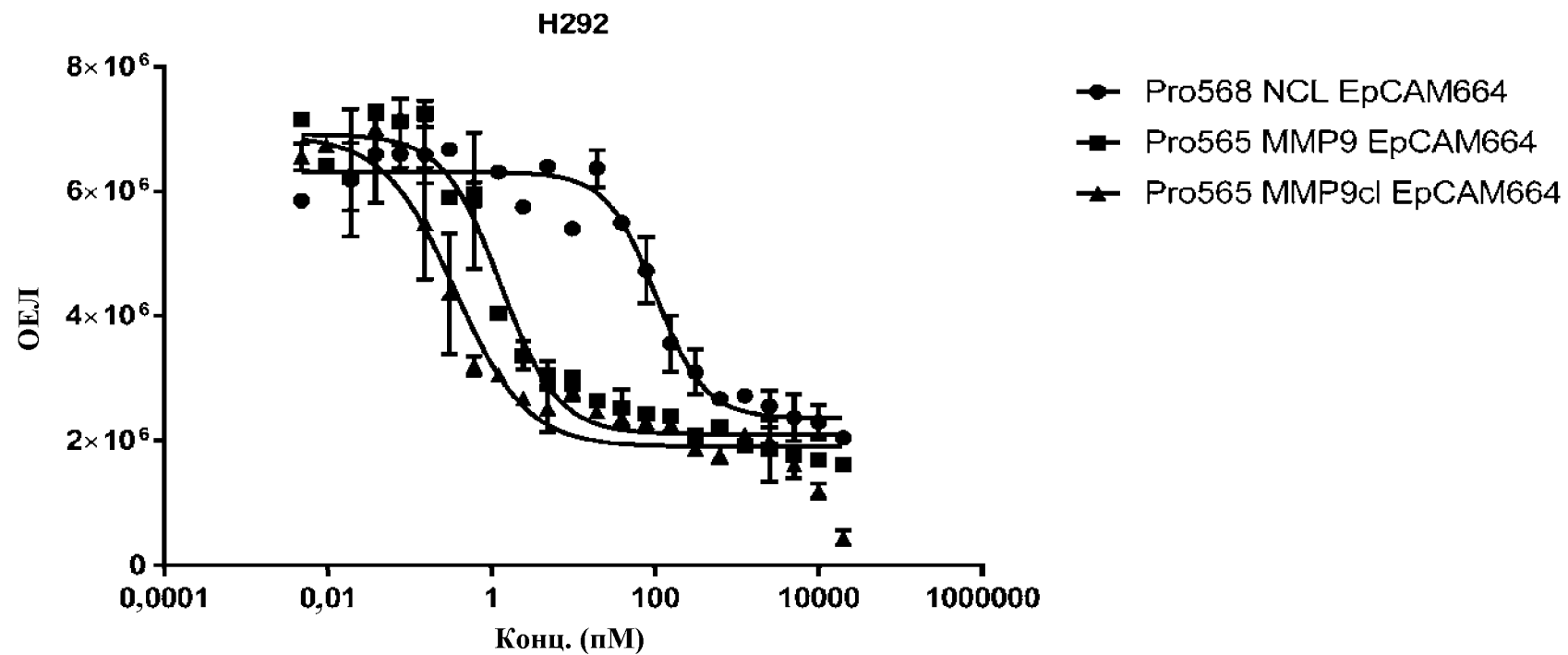
Фиг. 62А



	EC50
Pro295 NCL B7H3F7	22241
Pro225 MMP9 B7H3F7	3,745
Pro225 MMP9cl B7H3F7	4,109

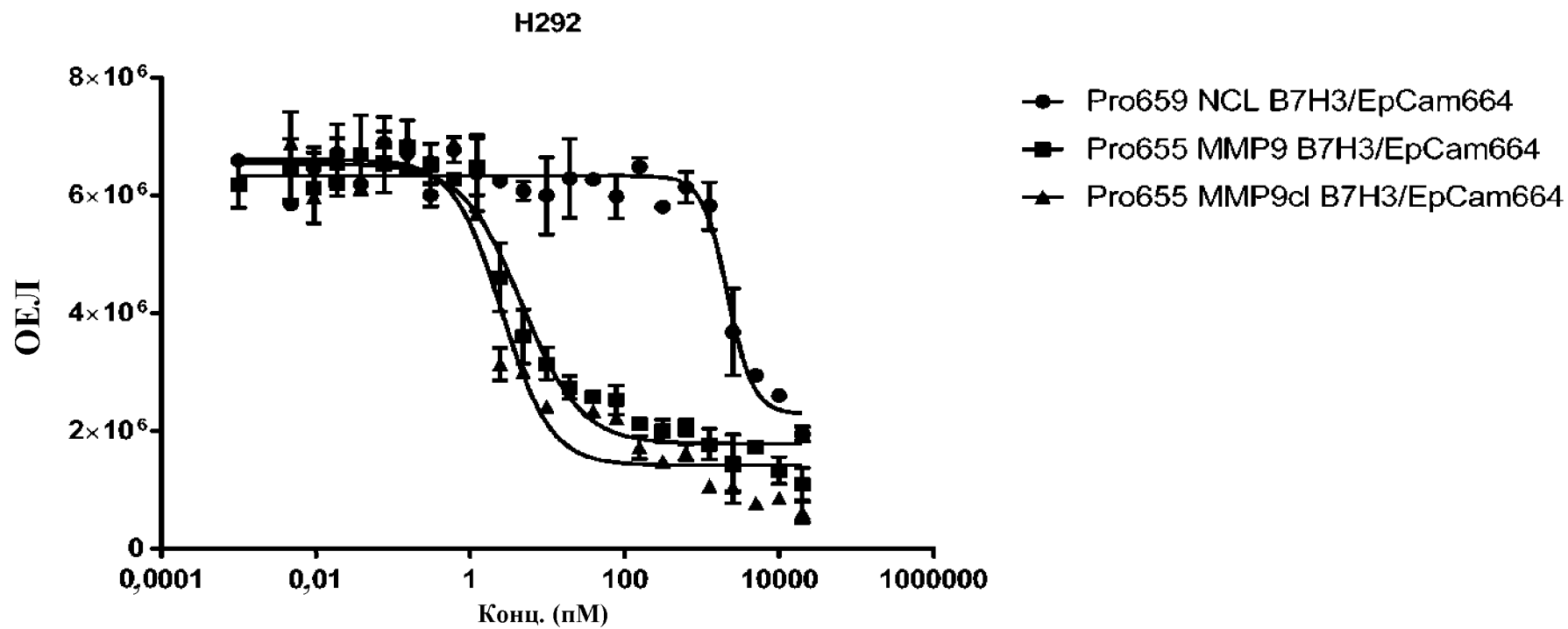
222/247

Фиг. 62В



	EC50
Pro568 NCL EpCAM664	101,8
Pro565 MMP9 EpCAM664	1,29
Pro565 MMP9cl EpCAM664	0,361

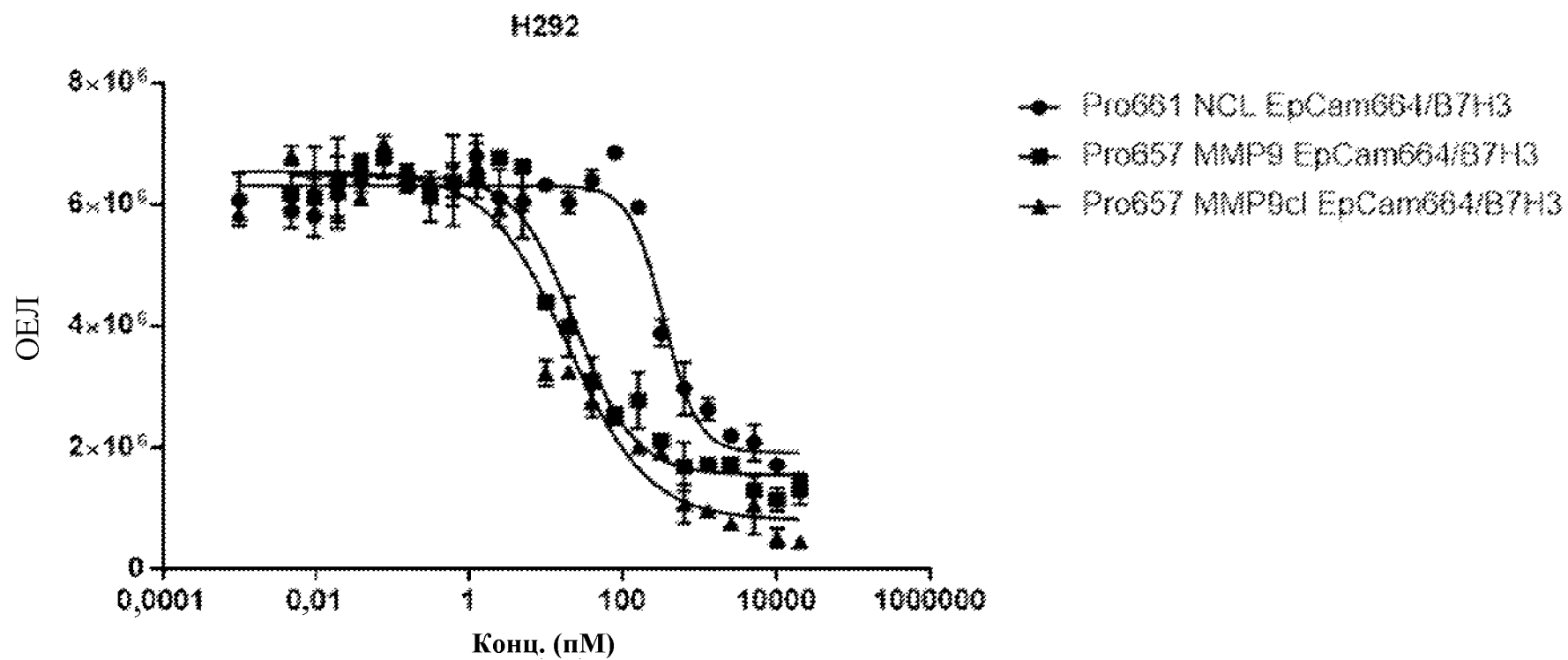
Фиг. 62С



	EC50
Pro659 NCL B7H3/EpCam664	2165
Pro655 MMP9 B7H3/EpCam664	4,667
Pro655 MMP9cl B7H3/EpCam664	2,595

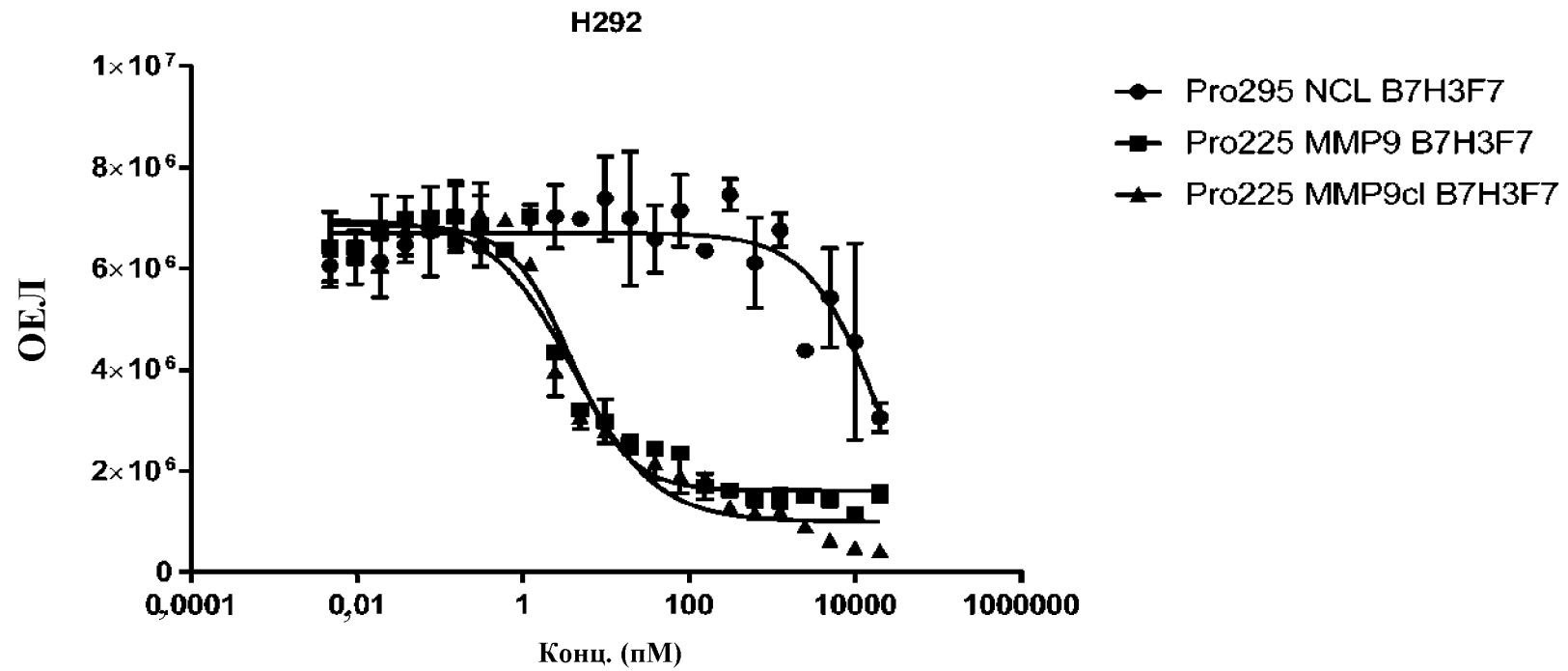
224/247

Фиг. 62D



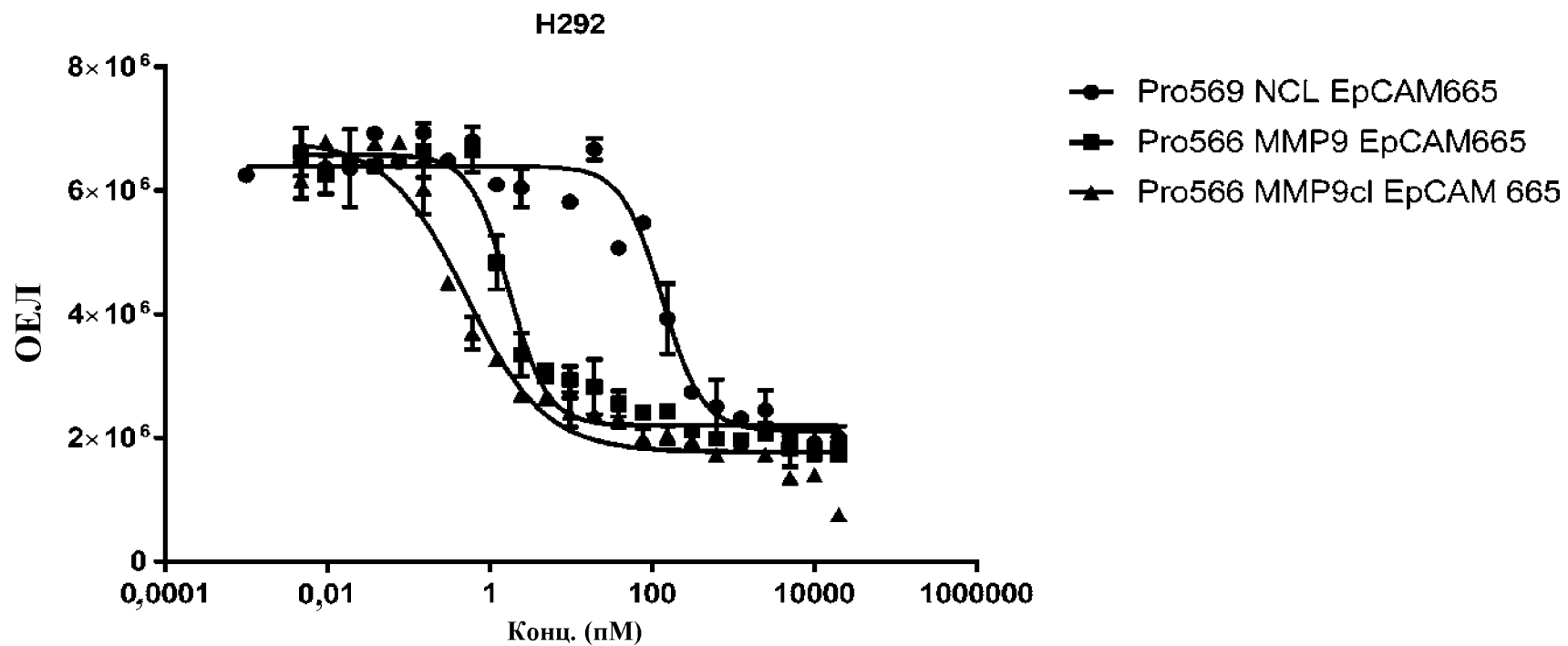
	EC50
Pro661 NCL EpCam664/B7H3	335,8
Pro657 MMP9 EpCam664/B7H3	238
Pro657 MMP9cl EpCam664/B7H3	18,91

Фиг. 63А



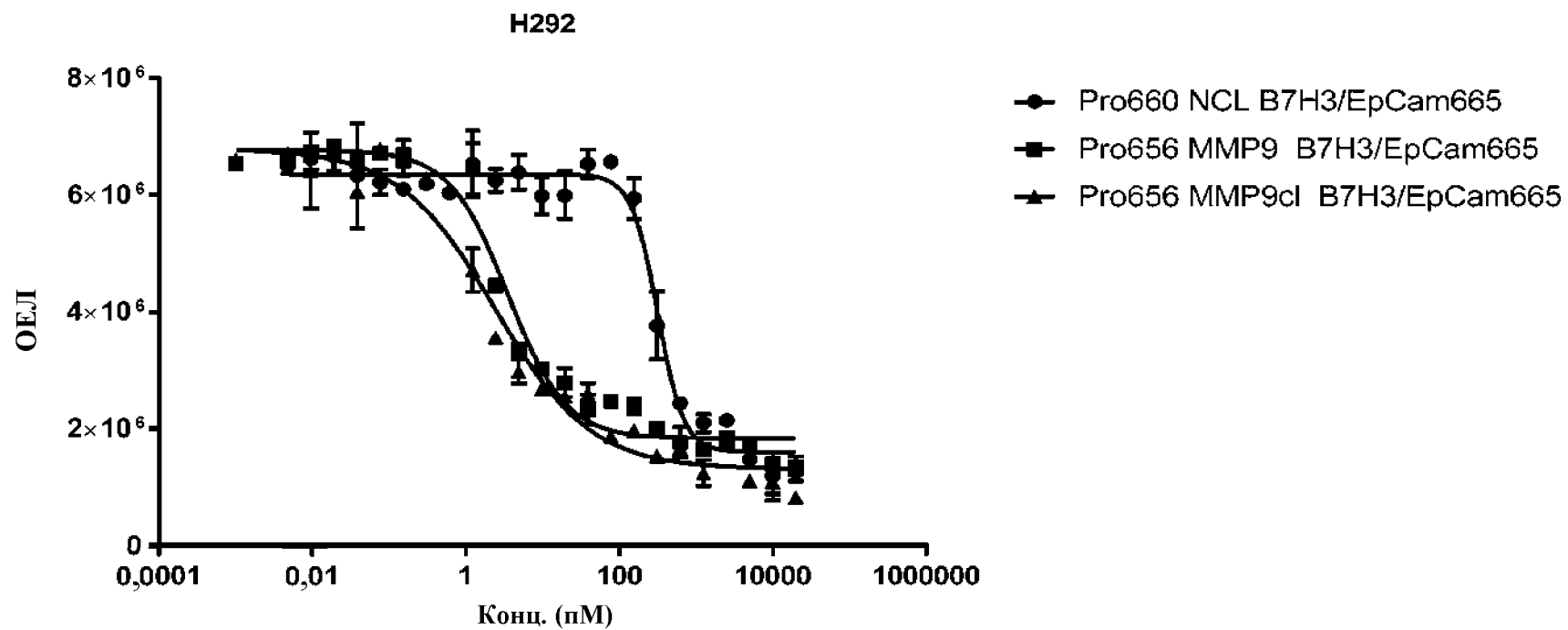
	EC50
Pro295 NCL B7H3F7	22241
Pro225 MMP9 B7H3F7	3,745
Pro225 MMP9cl B7H3F7	4,109

Фиг. 63В



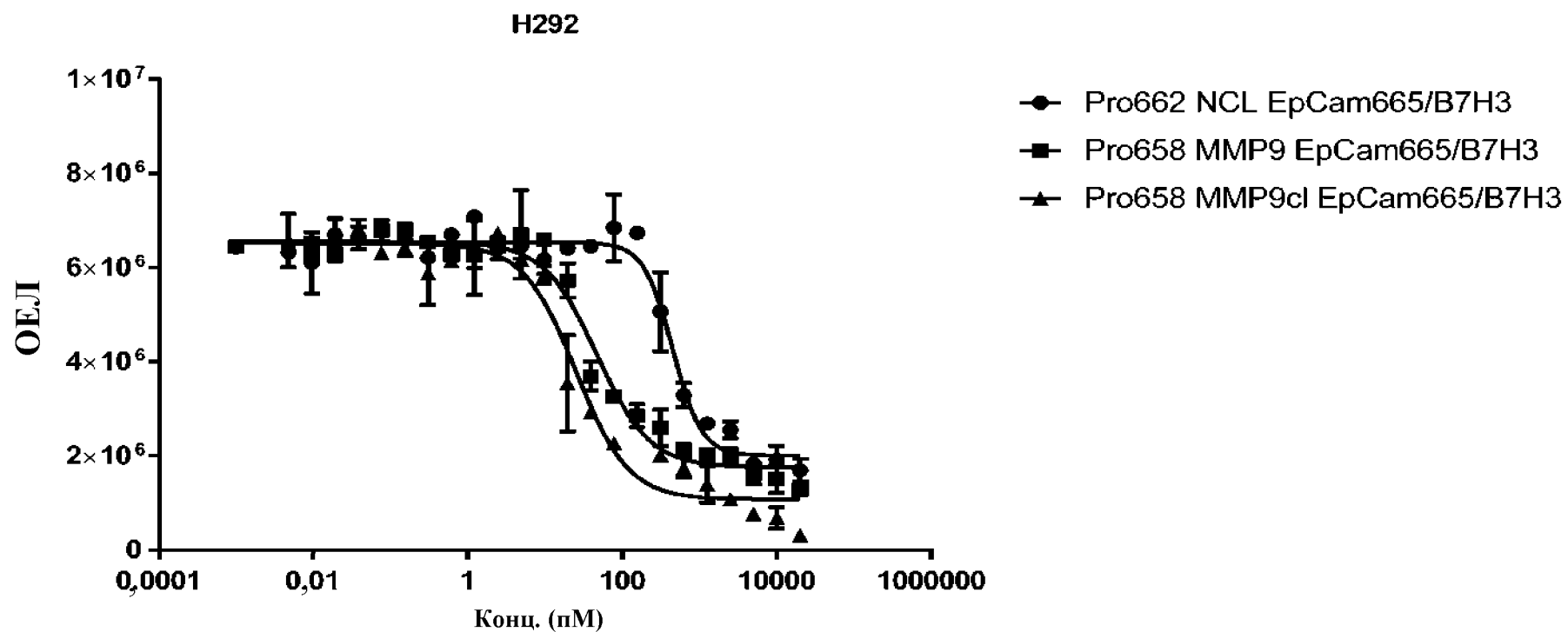
	EC50
Pro569 NCL EpCAM665	134,3
Pro566 MMP9 EpCAM665	1,73
Pro566 MMP9cl EpCAM 665	0,5178

Фиг. 63С



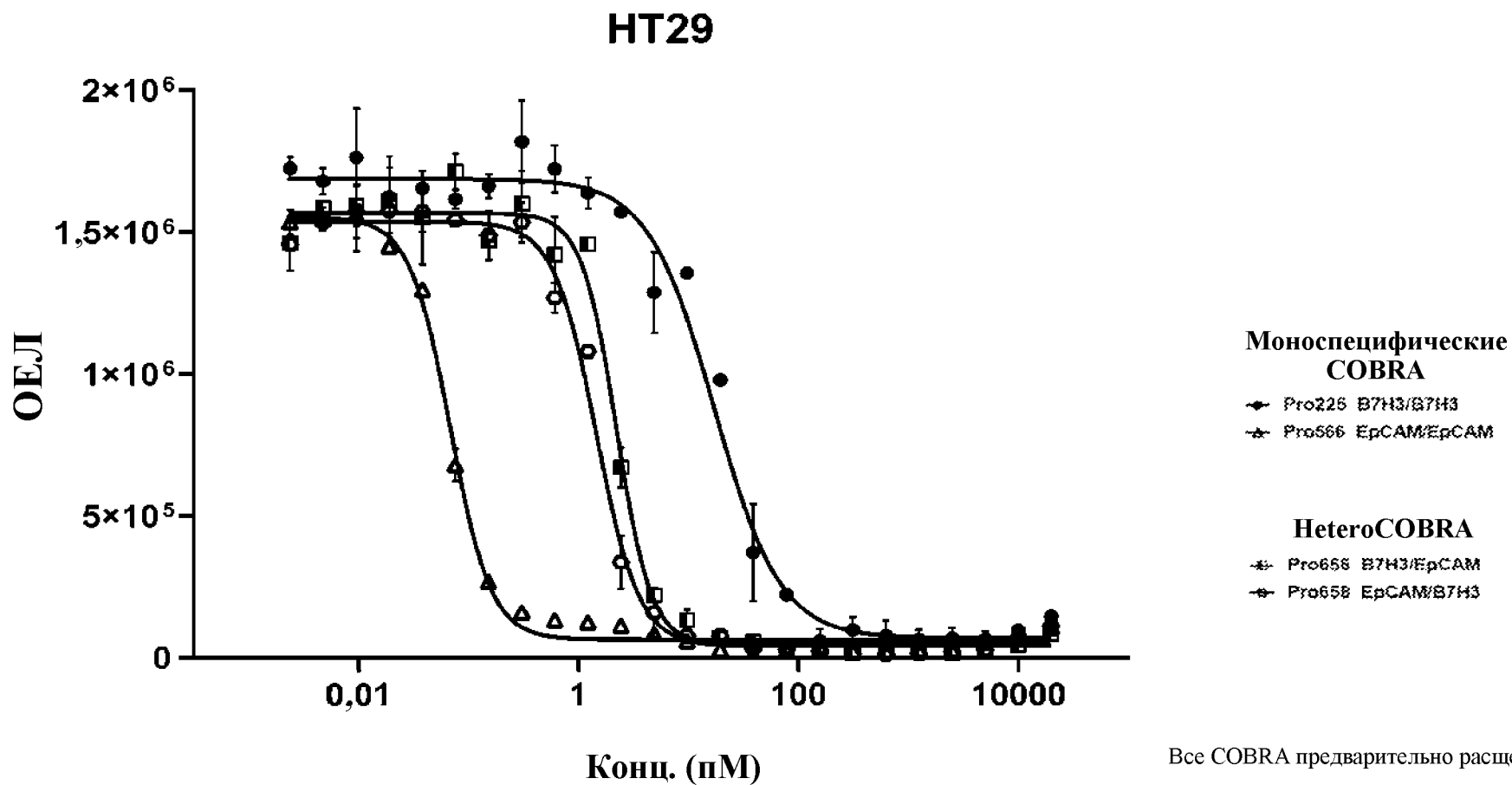
	EC50
Pro660 NCL B7H3/EpCam665	317,1
Pro656 MMP9 B7H3/EpCam665	3,534
Pro656 MMP9cl B7H3/EpCam665	2,424

Фиг. 63D



	EC50
Pro662 NCL EpCam665/B7H3	450,1
Pro658 MMP9 EpCam665/B7H3	46,99
Pro658 MMP9cl EpCam665/B7H3	25,2

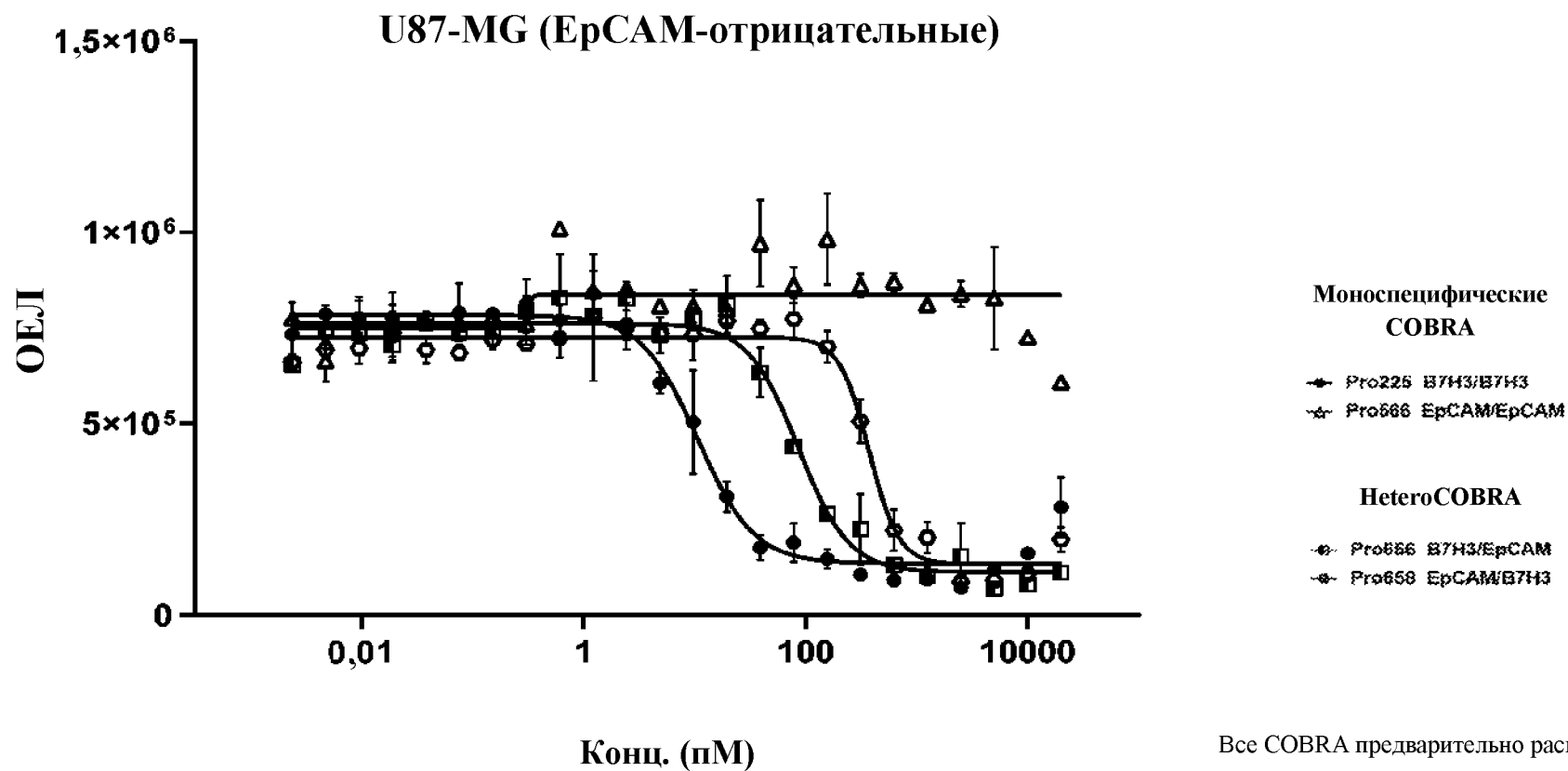
Фиг. 64А



Все COBRA предварительно расщепляли

230/247

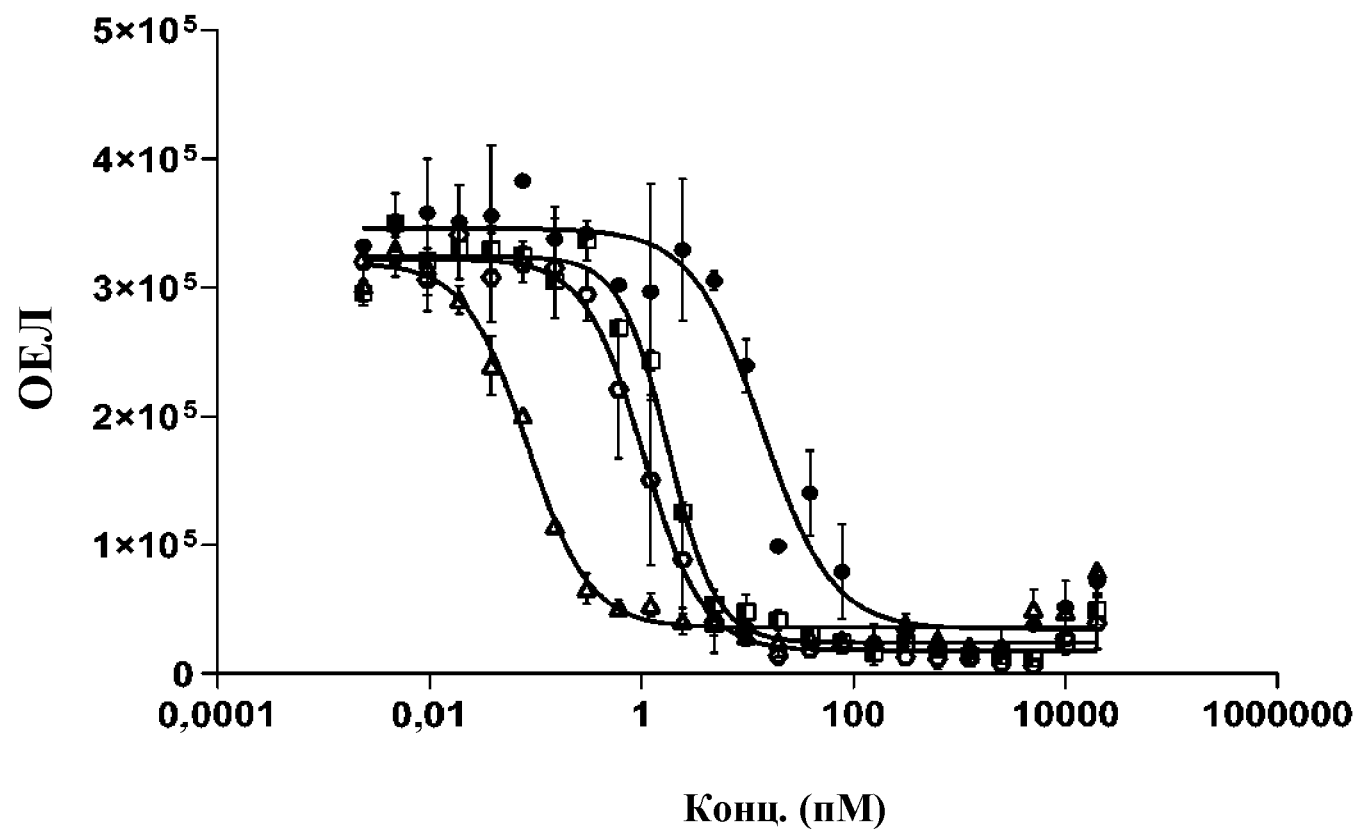
Фиг. 64В



Все COBRA предварительно расщепляли

Фиг. 64С

Сарап2



Моноспецифические
COBRA
Pro225 B7H3/B7H3
Pro556 EpCAM/EpCAM

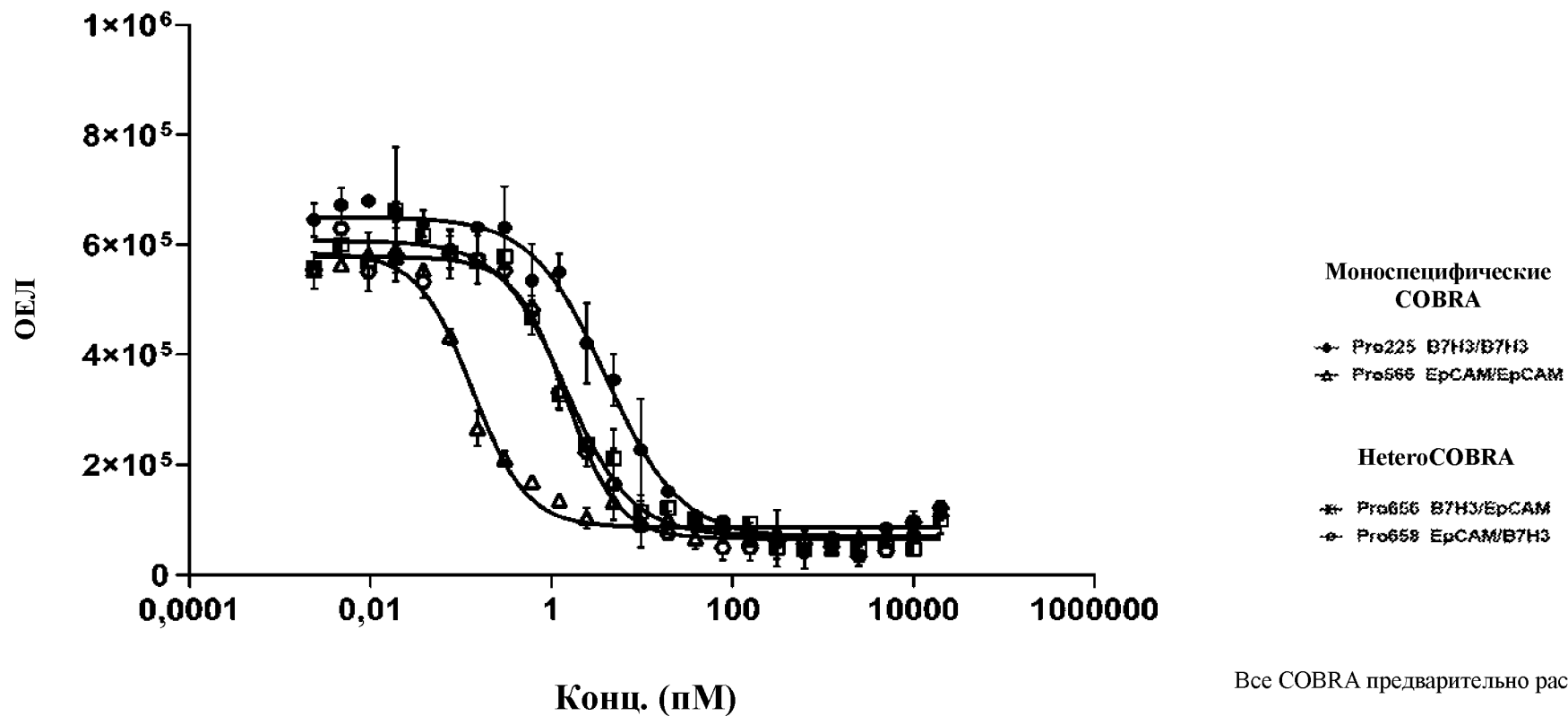
HeteroCOBRA
Pro656 B7H3/EpCAM
Pro658 EpCAM/B7H3

Все COBRA предварительно расщепляли

232/247

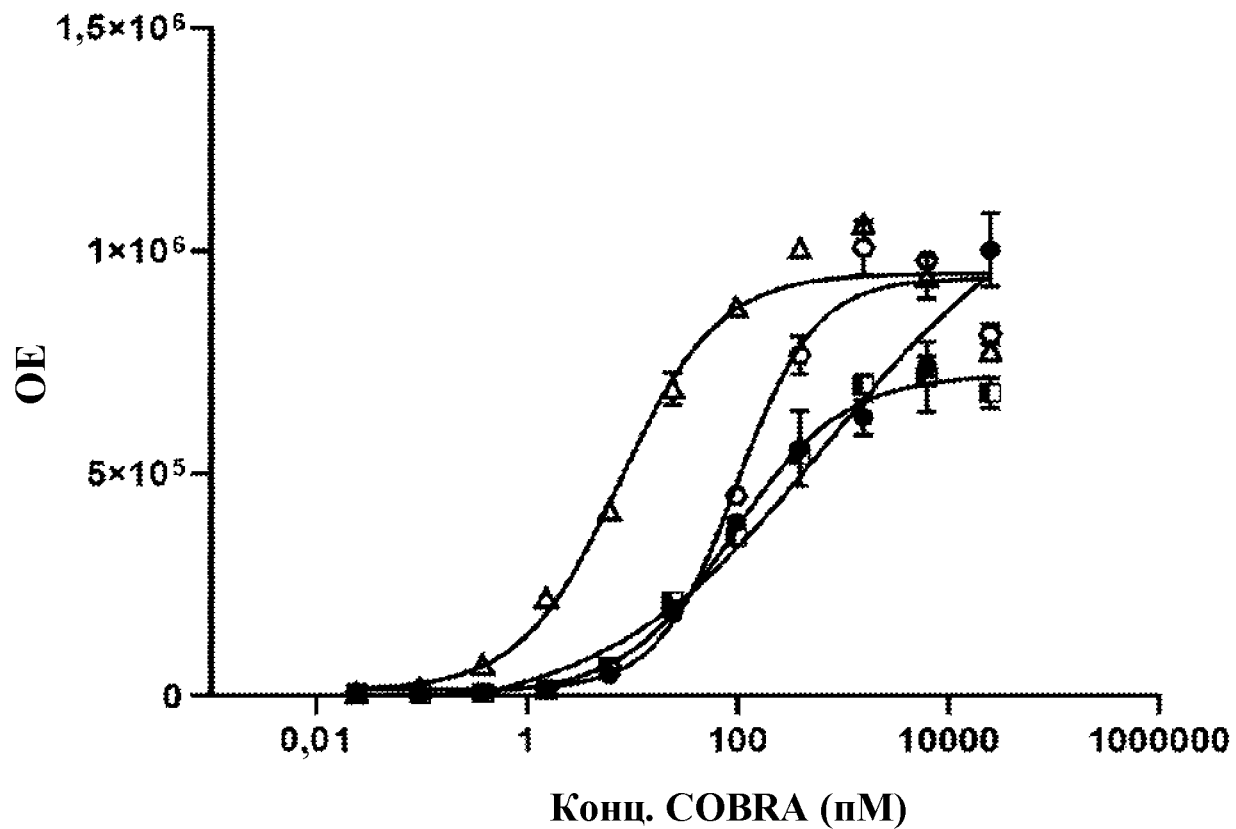
Фиг. 64D

VCAP



Все COBRA предварительно расщепляли

Фиг. 65



**Моноспецифические
COBRA**

- Pro225 B7H3/B7H3
- ▲ Pro566 EpCAM/EpCAM

HeteroCOBRA

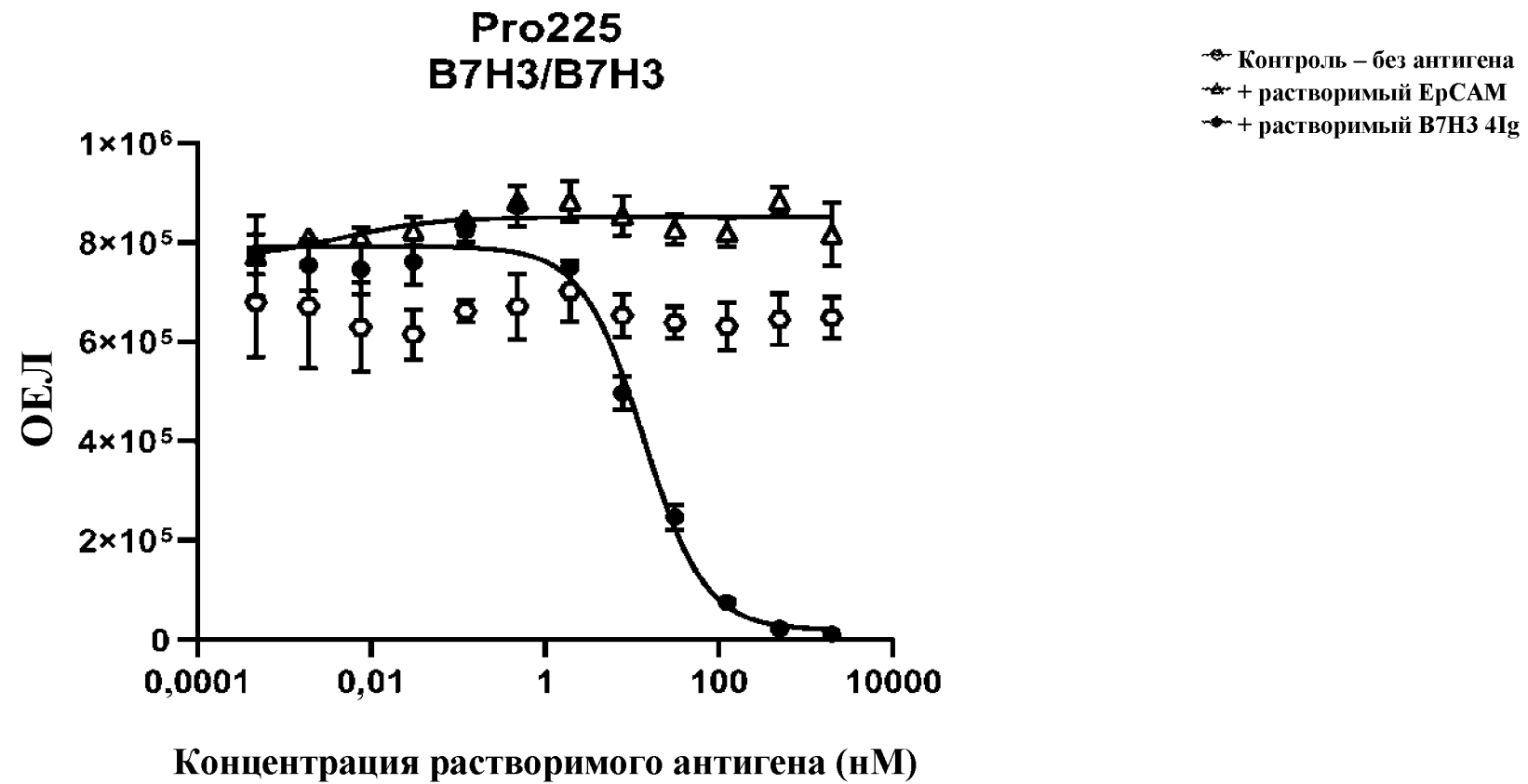
- Pro556 B7H3/EpCAM
- Pro558 EpCAM/B7H3

Все COBRA предварительно расщепляли

234/247

ЗАМЕЩАЮЩИЙ ЛИСТ (СТАВЯТО 26)

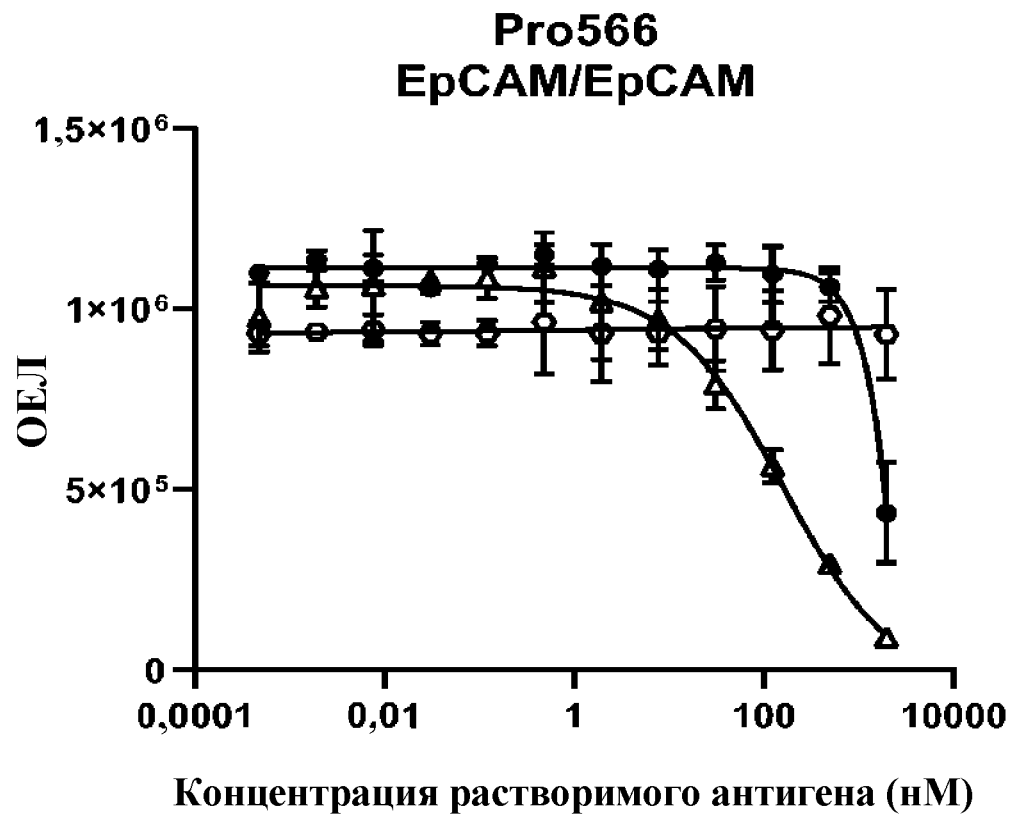
Фиг. 66А



235/247

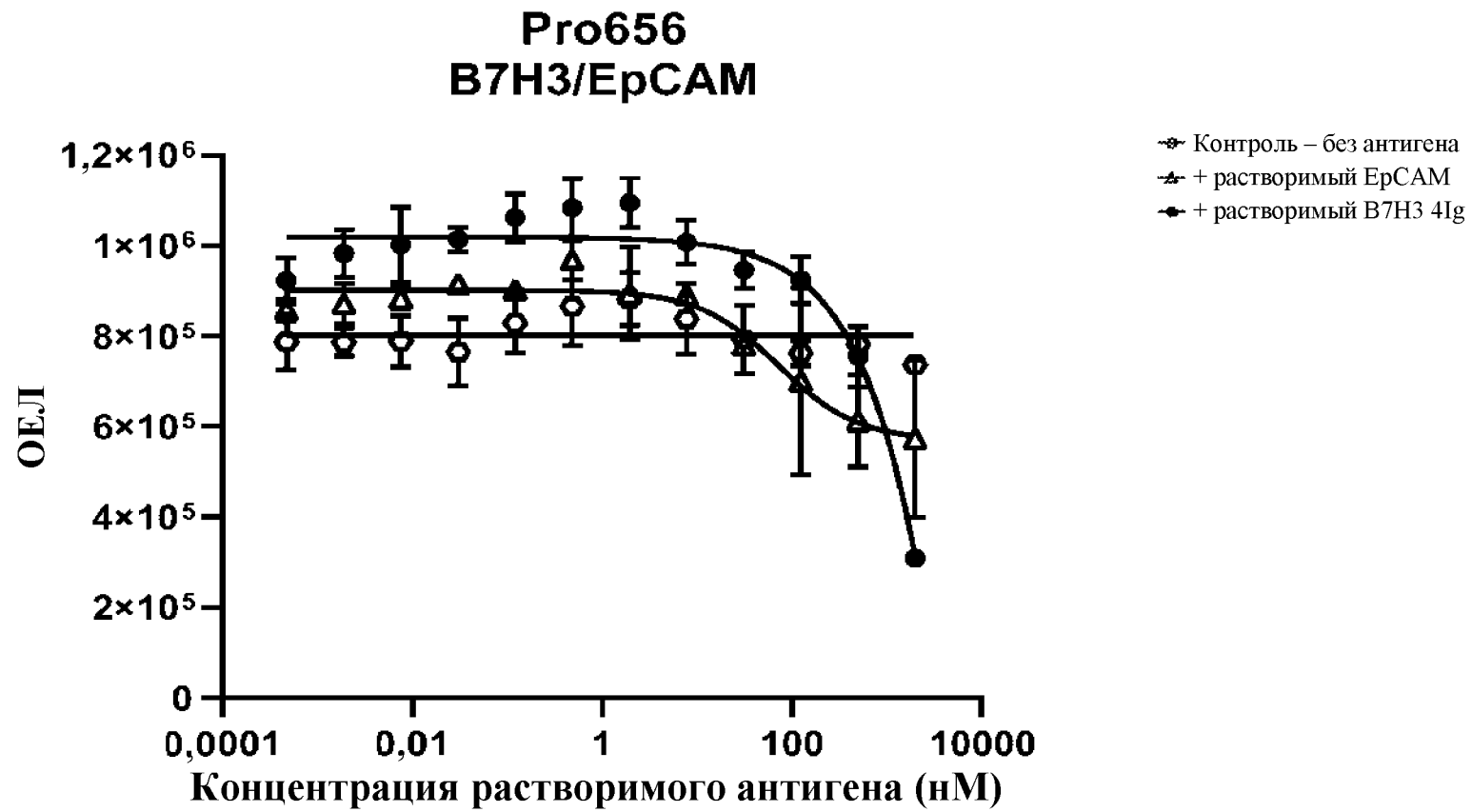
Все COBRA предварительно расщепляли

Фиг. 66В



Все COBRA предварительно расщепляли

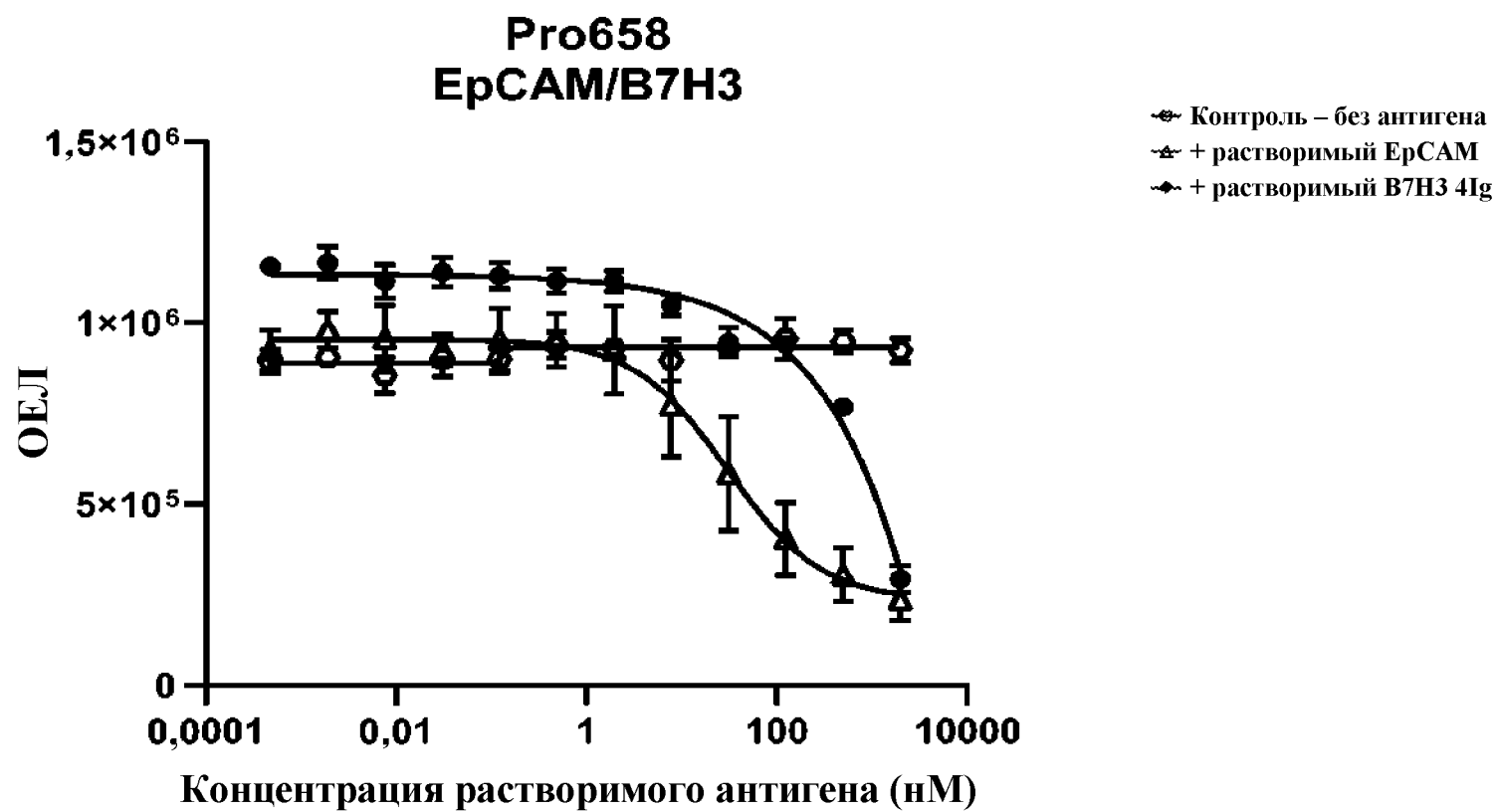
Фиг. 66С



237/247

Все COBRA предварительно расщепляли

Фиг. 66D



238/247

Все COBRA предварительно расщепляли

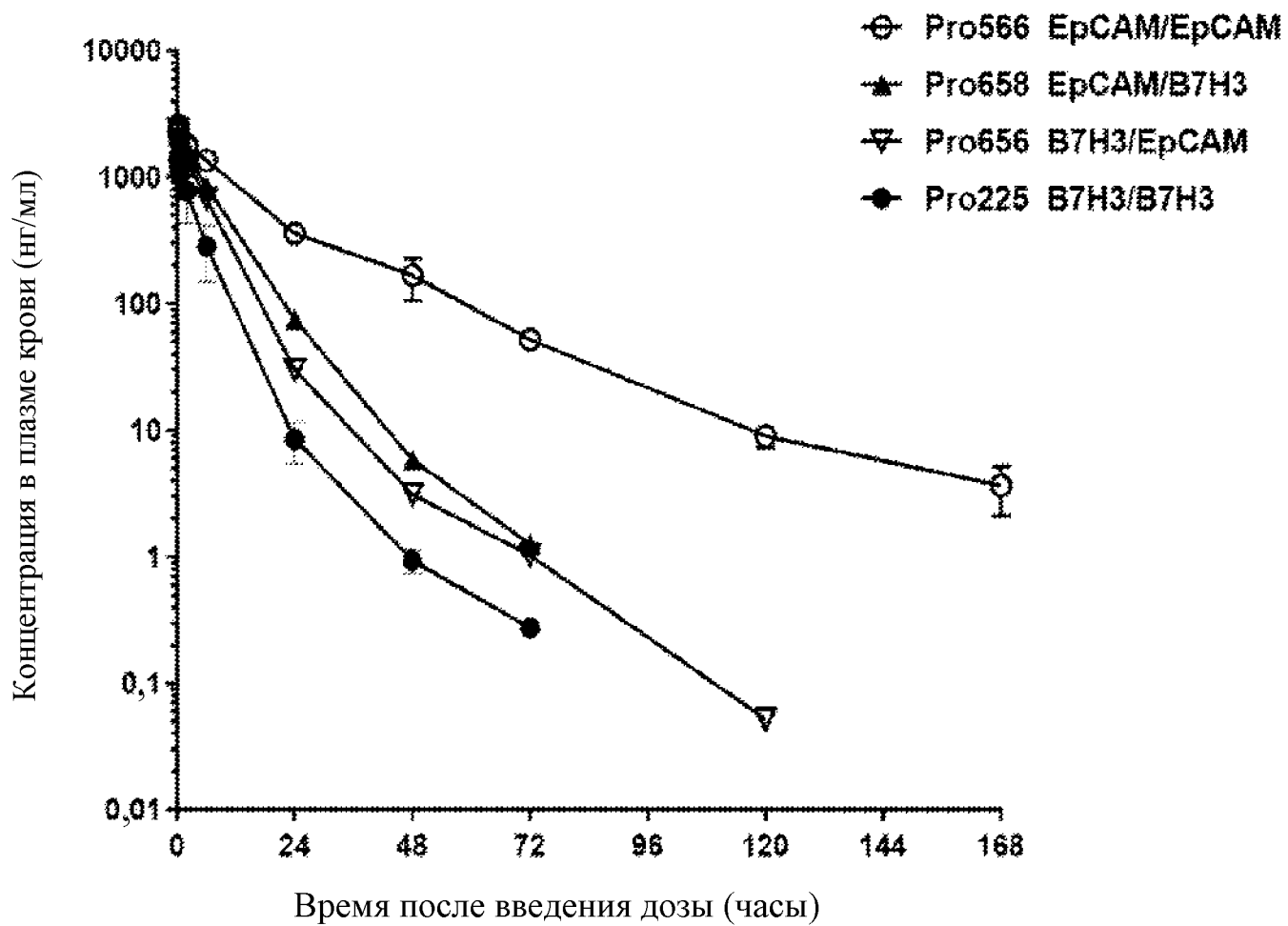
Фиг. 67

Аффинности HeteroCOBRA B7H3/EpCAM

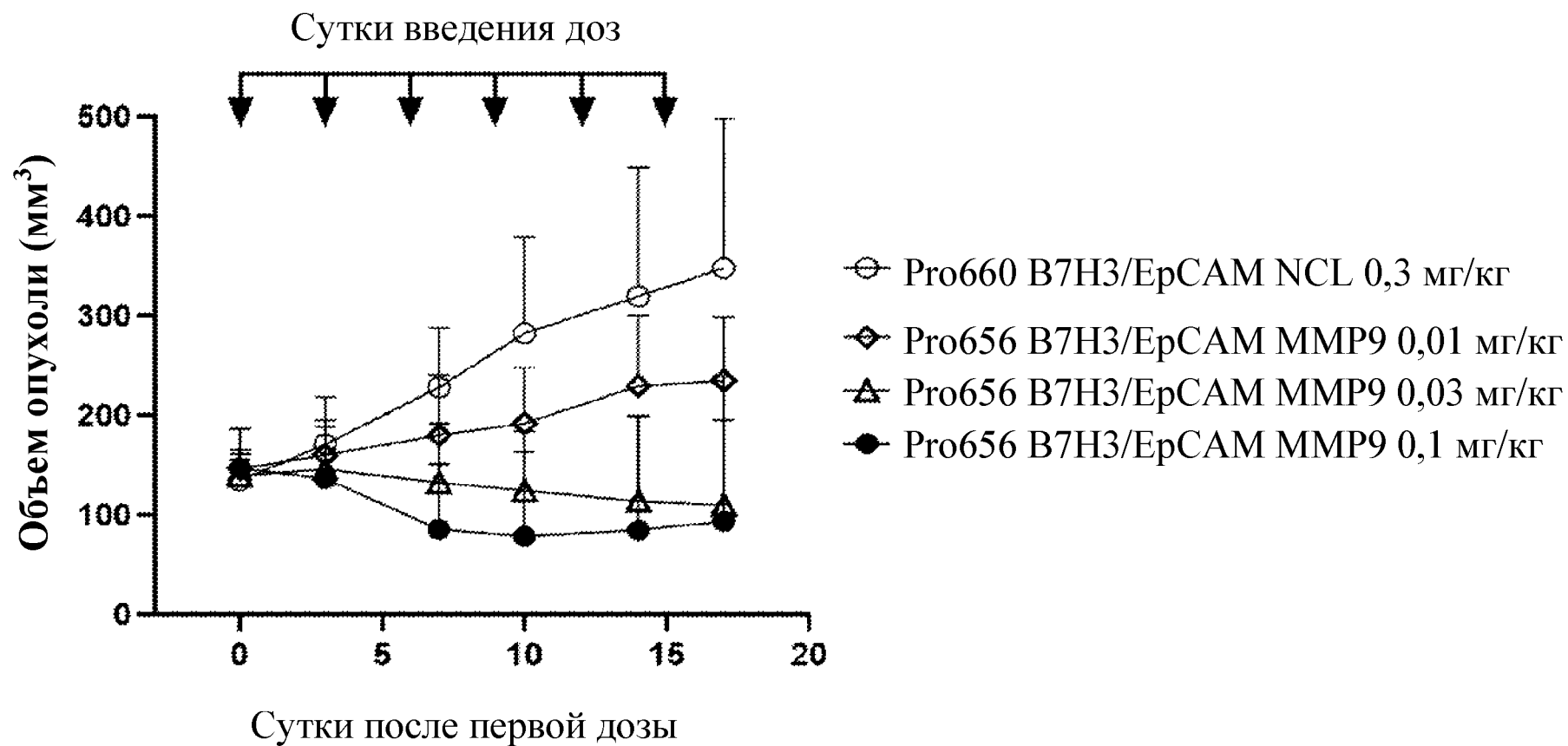
Prodent	1-е / 2-е положение	K _D (нМ)		
		huB7H3-4lg	huEpCAM	huB7H3-4lg + huEpCAM
Pro656	B7H3/EpCAM	6,9	13,6	0,13
Pro658	EpCAM/B7H3	7,8	7,7	0,061

239/247

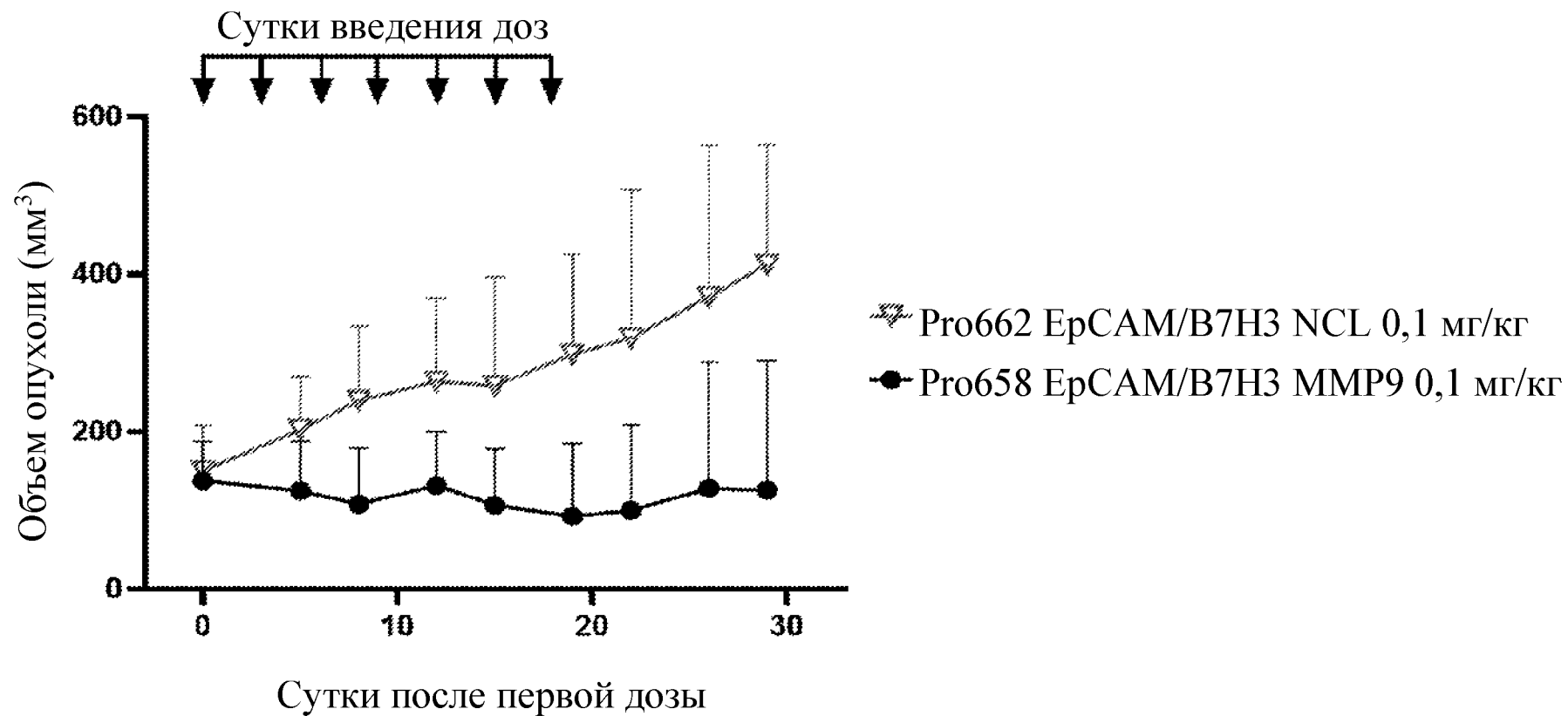
Фиг. 68



Фиг. 69



Фиг. 70



Фиг. 71

Hetero-COBRA B7H3/EpCAMPro751

aB7H3 hF12 sdAb (S59Y) – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) – acEpCAM hVIB665 sdAb – MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGNTYYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQ
 LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFT
 ISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTV
 VTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGK
 AALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLES GGGLVQPGGSLRLS
 CAASGRTFSDYDMGWFRQGPGRKEREVFAAISWSGGHTNYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRA
 EDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF
NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
 VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAASG
FTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY
 CTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:487)

Pro752

**acEpCAM hVIB665 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3Vl (2B2) - haB7H3 F12 sdAb (S59Y)
 – MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6**

QVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGRTFSDYDMGWFRQGPGRKEREVFAAISWSGGHTNYADSVKGR
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS
 /EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAINWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLQESGGGLVQPGGS
 LRLSCEASPRTFSTYSMAWFRQAPGKERSFVAAINWSGGNTYYADSVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCAAGGVLAHHNYEYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSP
 GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV
 QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTF
NKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
 VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAASG
FTFSKFGMSWVRQAPGKLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYY
 CTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:488)

Фиг. 72

Hetero-COBRA Trop2/hEpCAMPro824

acEpCAM hVIB665 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aTrop2 hVIB557 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSDYDMGWFRQPGKEREVFAAISWSGGHTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKEREVFAAISWTGANPTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYERATAETSYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:489)

Pro826

aTrop2 hVIB557 sdAb sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – acEpCAM hVIB665 sdAb

– MMP9-15 - aCD3Vli – NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSQSMGWFRQAPGKEREVFAAISWTGANPTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADTSGGSYYERATAETSYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGRTFSDYDMGWFRQPGKEREVFAAISWSGGHTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAADLRFTGGDTTTPETYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLS CAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:490)

Фиг. 73

Гуманизированные COBRA Her2Pro1109

aHER2 hVIB1159 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aHER2 hVIB1159 sdAb
 – MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCATSGRTFSSLAMGWFRQAPGKERELVAGISWSGSTTYYADSVKGRF
 AISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARTSSIATIGREYDYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLV
 ESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVKDRFTIS
 RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVT
 QEPLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLLGGKA
 ALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC
 ATSRTFSSLAMGWFRQAPGKERELVAGISWSGSTTYYADSVKGRFAISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
 TAVYYCAARTSSIATIGREYDYWGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTVSPGGTVTL
 TCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEA
 EYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAM
NWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
 HGNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSKF
GMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGS
LSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:491)

Pro1111

aHER2 hVIB1162 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aHER2 hVIB1162 sdAb
 – MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRPFSGNAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSGDSTYYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARTSFYSRTYYTRPSDYNYWGPGTLTVTVSS/GGGSGGGS/
 EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAINWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADQVK
DRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHANFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/
 QTVVTQEPLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLVPGTPARFSGSLL
 GGKAALTLSGVQPEDEAEYYCTTLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSL
 RLSCAASGRPFSGNAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSGDSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVYYCAARTSFYSRTYYTRPSDYNYWGPGTLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLT
 VSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGDYKDDDDKGTPARFSGSLLGGKAALTLS
 GVPQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF
TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYDYKDDDDKADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDT
 AVYYCVRHGNGNSYISYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS
GFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSSISGSGRDTLYAESVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVY
 YCTIGGSLSVSSQGLTVTVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:492)

Фиг. 74

Pro1117

aHER2 hVIB1139 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aHER2 hVIB1139 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) - His6

QVQLVESGGGVVRRPGGSLRLSCAAS**GFTFDDYAMS**WIRQAPGKEMEWVS**GINWSGTHTRYADSVKG**
RFTISRDNANSLYLQMNLSRAEDTALYYCAR**GFAADSRSTR**RGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESG
GGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FRTISRDD
SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEP
SLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKAALT
SGVQPEDEAEYYCT**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLVESGGGVVRRPGGSLRLSCAAS**G**
FTFDDYAMSWIRQAPGKEMEWVS**GINWSGTHTRYADSVKG**RFTISRDNANSLYLQMNLSRAEDTAL
YYCAR**GFAADSRSTR**RGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTVSPGGTVTLT**GSSTG**
AVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTSGVQPEDEAEYYC**VLW**
YSNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAP
GKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDK**ADSVKDRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI
SYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQA
PGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**FRTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI**GGSLSVSS**QGLTV
TVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:493)

Pro1118

aHER2 hVIB1156 sdAb – aCD3 Vh (2B2) – NCL-8 – aCD3VI (2B2) – aHER2 hVIB1156 sdAb
– MMP9-15 - aCD3Vli –NCL-8 - aCD3Vhi – aHSA (10GE) – His6

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**RNIGSNYAVG**WFRQAPGKEREPVA**ALRWGTGSIIGYDDSLRGRF**
TISKDNSKNTLYLQMNLSKPEDTAVYYCA**RILDRSSYDY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESG
GGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAIN**WVRQAPGKGLEWVAR**IRSKYNNYATYYADQVKDR**FRTISRDD
SKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR**HANFGNSYISYWAY**WGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/QTVVTQEP
SLTVSPGGTVTLT**CASSTGAVTSGNYPN**WVQKPGQAPRGLIG**GTKFLVPGT**PARFSGSLLGGKAALT
SGVQPEDEAEYYCT**TLWYSNRWV**FGGGTKLTVL/GGGSGGGS/QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**R**
NIGSNYAVGWFRQAPGKEREPVA**ALRWGTGSIIGYDDSLRGR**FRTISKDNSKNTLYLQMNLSKPEDTAVYY
CA**RILDRSSYDY**WGQGLTVTVSS/SGGPGPAGMKGLPGS/QTVVTQEPLTVSPGGTVTLT**GSSTGA**
VTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIG**DYKDDDDK**GTPARFSGSLLGGKAALTSGVQPEDEAEYYC**VLWY**
SNRWVFGGGTKLTVL/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS**GFTFNKYAMN**WVRQAP
GKGLEWVAR**IRSKYDYKDDDDK**ADSVKDRFRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYI
SYWAYWGQGLTVTVSS/GGGSGGGS/EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAAS**GFTFSKFGMS**WVRQA
PGKGLEWVSS**SISGSGRDTLYAESVKGR**FRTISRDNAKTTLYLQMNLSRPEDTAVYYCTI**GGSLSVSS**QGLTV
TVSS/HHHHHH (SEQ ID NO:494)

Фиг. 75

Гуманизированное aEpCAM sdAb**h664**

QVQLLES~~GGGLVQPGGSLRLS~~CAASGRTLDNYDMGWFRQPGKERE~~FVA~~AISWSSGGSTDYAYSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADDLRFTGGDTMTPETYDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID
 NO:495)

sdCDR1 GRTLDNYDMG (SEQ ID NO:496)

sdCDR2 AISWSSGGSTDYAYSVKGR (SEQ ID NO:497)

sdCDR3 DLRFTGGDTMTPETYDY (SEQ ID NO:498)

Гуманизированные aHer2 sdAb**h1139**

QVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMSWIRQAPGKEME~~WVS~~GINWSGTHTRYADSVKGR
 RFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARGFAADSRSTRGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:499)

sdCDR1 GFTFDDYAMS (SEQ ID NO:500)

sdCDR2 GINWSGTHTRYADSVKGR (SEQ ID NO:501)

sdCDR3 GFAADSRST (SEQ ID NO:502)

h1156

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASRNIGSNYAVGWFRQAPGKEREPVAALRWTSIIGYDDSLRGRF
 TISKDNKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAARRILDRSSYDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:503)

sdCDR1 RNIGSNYAVG (SEQ ID NO:504)

sdCDR2 ALRWTSIIGYDDSLRG (SEQ ID NO:505)

sdCDR3 RILDRSSYDY (SEQ ID NO:506)

h1159

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCATSGRTFSSLAMGWFRQAPGKERELVAGISWSSGTTYADSVKGRF
 AISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARTSSSIATIGREYDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:507)

sdCDR1 GRTFSSLAMG (SEQ ID NO:508)

sdCDR2 GISWSSGTTYADSVKGR (SEQ ID NO:509)

sdCDR3 RTSSIATIGREYDY (SEQ ID NO:510)

h1162

QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRPFSGNAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSSGDSTYYADSVKGR
 FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAATRSFYSRTYYTRPSDYNYWGPGLTVTVSS (SEQ ID
 NO:511)

sdCDR1 GRPFSGNAMG (SEQ ID NO:512)

sdCDR2 AISWSSGDSTYYADSVKGR (SEQ ID NO:513)

sdCDR3 RSFYSRTYYTRPSDYNY (SEQ ID NO:514)